

# UNIVERSIDAD DE ORIENTE INSTITUTO OCEANOGRÁFICO DE VENEZUELA POSTGRADO EN CIENCIAS MARINAS MODALIDAD: MAESTRÍA EN CIENCIAS MARINAS

Control de la invasión del mejillón *Mytella strigata* (Hanley, 1843) en piscinas del cultivo del camarón *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) con sulfato de cobre

Realizado por: Lcda. Katherine Malavé

Profesor Asesor: Dr. César Lodeiros

Profesor Coasesor: Dr. Luis F. Freites Valbuena

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAGISTER EN CIENCIAS MARINAS

Cumaná, 18 de mayo de 2022

Control de la invasión del mejillón *Mytella strigata* (Hanley, 1843) en piscinas del cultivo del camarón *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) con sulfato de cobre

	APROBADO POR:	
Prof. César Lodeiros		Prof. Luis Freites
Asesor		Coasesor
	Prof. Dwight Arrieche Jurado Principal	

#### **DEDICATORIA**

A mi hijo, pronto comprenderás el valor de la enseñanza y el aprendizaje, son de las cosas que siempre serán tuyas.

A mi familia, en especial a mis padres, gracias por siempre estar ahí, son mi pilar en la vida.

#### **AGRADECIMIENTOS**

A mi casa de estudios, la Universidad de Oriente (UDO).

Al Instituto Oceanográfico de Venezuela (IOV), por abrirme las puertas en esta y en oportunidades anteriores para enriquecer mi formación académica.

A mis profesores: César Lodeiros, por siempre alentarme a salir adelante y creer en mí, Luis Freites, gracias por la oportunidad, Miguel Guevara, más que un profesor, un padre académico.

A mis colegas: Roraysi Cortéz y Rafael Pinto, sin ustedes no habría sido posible.

Y en general a todos los que de una u otra manera estuvieron presentes.

### ÍNDICE

	Pag	
LISTA DE FIGURAS	VI	
LISTA DE TABLAS		
RESUMEN	VII	
INTRODUCCIÓN	1	
OBJETIVOS	6	
METODOLOGÍA	7	
Organismos y condiciones generales	7	
Establecimiento de la concentración experimental de sulfato de cobre en	7	
los organismos		
Bioensayo	8	
Efecto del Cu en Penaeus vannamei	8	
Depuración del Cu en Penaeus vannamei	9	
Parámetros evaluativos	9	
Densidad poblacional	9	
Crecimiento	9	
Biomasa	10	
Niveles de cobre en Penaeus vannamei	10	
Bioconcentración de cobre	10	
Composición bioquímica	11	
Proteínas totales	11	
Carbohidratos totales	11	
Lípidos totales	12	
Resultados	14	
Discusión	17	
Conclusiones	25	
Recomendaciones	26	
Referencias	28	

#### LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Efecto del cobre sobre la talla del crustáceo Penaeus vannamei. Las	13
líneas verticales indican la desviación estándar.	
Figura 2. Efecto del cobre sobre la biomasa del crustáceo <i>Penaeus vannamei</i> . Las	14
líneas verticales indican la desviación estándar.	
Figura 3. Niveles de cobre (μg/g) en tejido (A) y exoesqueleto (B) del crustáceo	14
P. vannamei expuesto a concentraciones de cobre de 0 mg/L (control) y 0,8 mg/L	
(expuesto) durante diferentes días de cultivo. Las líneas verticales indican la	
desviación estándar.	
Figura 4. Contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos del tejido de <i>Penaeus</i>	16
vannamei, expuesto a concentraciones de cobre de 0 mg/L (control) y 0,8 mg/L	
(12 días) y depurados (5 días).Las líneas verticales indican la desviación	
estándar.	

#### LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Niveles de Cu (μg/g) del camarón <i>Penaeus vannamei</i> expuestos (12	
días) y depurados (5 días).	

#### **RESUMEN**

Se evaluó el efecto del sulfato de cobre en la supervivencia del camarón Penaeus vannamei y el mejillón invasor Mytella strigata, así como los efectos subletales en P. vannamei, resultando: DL50% de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O para mejillón 0,57 mg/L y 2,91 mg/L para camarón. La biomasa en P. vannamei fue aumentando a medida que transcurría el tiempo del ensayo, tanto para los días de cultivos como para el tipo de cultivo, donde fueron encontradas diferencias significativas, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la interacción de esos dos factores. Con respecto a la talla se observaron diferencias significativas solo en los días de cultivos, en el tipo de cultivo, mientras que, en la interacción de los dos factores no se observaron diferencias significativas. En relación a los niveles de cobre en tejido y exoesqueleto, solo se encontraron diferencias significativas entre el tejido y los días de cultivos, a diferencia del exoesqueleto donde no se apreciaron diferencias significativas. La depuración de Cu en P. vannamei también fue analizada obteniendo que en los organismos expuestos al metal los niveles de Cu fueron más elevados en el exoesqueleto (expuestos: 146,34 ±  $26,24 \text{ y depurados: } 97,88 \pm 13,57 \mu\text{g/g})$  que en el tejido (expuestos:  $53,29 \pm 9,88 \text{ y}$ depurados:  $6.24 \pm 1.25 \mu g/g$ ). Sin embargo, el porcentaje de depuración fue más elevado en el tejido 88,29 % que el exoesqueleto 48,46 %. Finalmente, con respecto a las macromoléculas solo se encontraron diferencias significativas en el contenido lipídico de organismos expuestos y depurados, para lípidos, mientras que para proteínas y carbohidratos no se encontraron diferencias significativas.

#### INTRODUCCIÓN

La acuicultura, en comparación con otros sectores productivos, ha tenido un repunte en su crecimiento en las últimas décadas, especialmente en países en vías de desarrollo (FAO 2018). Esta práctica ha tomado gran relevancia en las comunidades costeras, ya que logra dotar a las personas, a través del uso de recursos naturales, de fuentes de empleo y nuevas oportunidades para comercializar sus productos, contribuyendo a minimizar los índices de la pobreza mundial (FAO 2018).

El camarón marino *Penaeus vannamei* es una de las especies de camarones más cultivadas y económicamente importantes alrededor del mundo (Qian *et al.* 2020), con un total de la producción global de 4.966,2 toneladas para el año 2018, es actualmente una de las tres especies de camarones mayormente cultivadas (FAO 2020; Sadralsadati *et al.* 2020). Hasta el año 2005, la producción por hectárea en Venezuela era una de más altas de Latinoamérica (Miranda *et al.* 2010).

Con el objetivo de prevenir grandes pérdidas y/o mejorar la producción, los acuacultores han incorporado al manejo de los estanques, la aplicación de varios productos químicos como antibióticos, desinfectantes, alguicidas, compuestos terapéuticos, pesticidas, aditivos en el alimento y tratamientos a sedimentos y agua, los cuales provocan alteraciones bioquímicas y/o fisiológicas en los organismos de cultivo (Bainy 2000; Tavares 2021).

Uno de los compuestos naturales, encontrado en plantas, es la saponina, y un esteroide o glucósido triterpenoide encontrado en muchos ingredientes alimenticios alternativos para animales derivados de plantas (Francis *et al.* 2001), que deriva su nombre de su capacidad para formar espumas de jabón en soluciones acuosas (Molina 2015). Y han sido implicados como factores determinantes de resistencia al ataque de insectos y microbios (Francis *et al.* 2002). Las saponinas son altamente tóxicas para especies acuáticas (Terazaki *et al.* 1980; Boyd 1998; Francis *et al.* 2002); es usado en camaronicultura para la erradicación de peces y hongos no deseados (Gräslund & Bengtsson 2001), sin embargo, aún son escasos los estudios sobre los efectos de las saponinas en los camarones y sus implicaciones en la salud del ser humano debido al

consumo de este compuesto.

Por lo tanto, se sigue utilizando ampliamente el sulfato de cobre, para controlar el crecimiento de macroalgas y bivalvos en algunas granjas camaroneras semiintensivas (Frías *et al.* 2008). El cobre, es un contaminante de gran importancia porque su aleación con níquel es usado como agente "*antifouling*" y el sulfato cúprico es un importante biocida con un uso generalizado en acuicultura para el control de cianobacterias que disminuyen el contenido de oxígeno disuelto en el agua y producen mal sabor y olor en la carne y otras que producen compuestos tóxicos (Mendoza 2007; Scelzo 1997; Schlenk *et al.* 1999).

El tratamiento con cobre es recomendado para controlar ctenóforos y protozoarios parásitos que producen la declinación de la producción de las granjas camaroneras y langostineras vertiéndose aproximadamente 2 kg/ha (Cheng & Wang 2001; Townsend 2002; Osunde *et al.* 2004). Su uso en estanques de camaronicultura se viene dando con más frecuencia en el cultivo del camarón dulce-acuícola *Macrobrachium rosenbergii* (Osunde *et al.* 2004) y langostino marino *Penaeus vannamei*, aplicándose antes de la siembra de los organismos (Cornejo 2002).

En la industria camaronera a menudo aplican cantidades excesivas de sulfato de cobre en los cultivos semi-intensivos de camarones y el bajo recambio de agua puede propiciar condiciones ambientales tóxicas e inducir respuestas adversas por parte de los camarones, debido a la permanencia del ion cobre tanto en el agua como en los sedimentos (Páez-Osuna *et al.*, 2003; Liao *et al.* 2006), que resulta una preocupación principal debido a su potencial redox y la generación en exceso de radicales libres, dirigidos hacia la acumulación de peróxidos (Chu & Chia 2001). Altas concentraciones de este metal inducen en crustáceos decápodos procesos de mudas, se acumulan en el hepatopáncreas y forman parte de la hemocianina, además de inhibir las enzimas antioxidantes (Engel & Brouwer 1991, Nicholson 2003). La ecdisis y postmuda son las etapas en las que la sensibilidad al cobre se incrementa debido a su posible interferencia con la movilización de otros iones como el calcio (Scott-Fordsmand & Depledge 1997). Sin embargo, pocos son los estudios que han sido reportados sobre los efectos del cobre en la regulación del proceso de muda (Fingerman *et al.* 1996).

Aunque el cobre es un metal esencial para varios procesos fisiológicos en los

organismos, siendo esencial en las estructura de las proteínas o actuando como activador de enzimas como la citocromo oxidasa y la superóxidodismutasa (Hassall & Dangerfield 1990, Rajkumar *et al.* 2011), además hay que tomar en cuenta que muchos crustáceos poseen hemocianina (que contiene cobre), como su mayor transportador de proteína en sangre (Nookala *et al.*2014). Así, las concentraciones subletales acarrean diversos problemas en los organismos de cultivo, como incremento en la tasa respiratoria, disminución de hemocitos, deficiencia en la fagocitosis (Yeh *et al.* 2004), anomalías comportamiento (Burba 1999), inhibición de la metamorfosis, inhibición de la muda, malformaciones generales (Scelzo 1997), disminución en el crecimiento (Méndez & Green 2005), disminución en la ingesta de alimento (Boock & Neto 2000), bioacumulación, inhibición de sistemas enzimáticos relacionados a la formación de amonio y mortalidad (Bat *et al.* 1999; Boock & Neto 2000; Ramírez *et al.* 2002), dependiendo todas estas de la concentración, especie, estadio y fisiología.

La determinación de la calidad química de los organismos acuáticos, particularmente el contenido de metales pesados en camarones es extremadamente importante para la salud del ser humano (Samaniego 2015), debido a que pueden ser transferidos al hombre a través de la red alimentaria (Pande *et al.* 1963).

El término calidad es muy amplio, no solo abarca la calidad del producto desde el punto de vista del proveedor, sino, también se refiere a la calidad percibida desde el punto de vista del consumidor. El proveedor pretende ofrecer un mejor producto y solo lo logra ofreciendo un producto de calidad que logre satisfacer e incluso superar las necesidades o expectativas del cliente (Fernández & Mazziotta 2005). Sin embargo, las expectativas del consumidor van bastante más allá: incluyen, aspectos relacionados con la calidad nutricional de los alimentos, con sus propiedades para mejorar la salud o prevenir las enfermedades, además de los aspectos relacionados con el ambiente, entre otros (Palou *et al.* 2005). En los mariscos la calidad incluye la seguridad, la calidad nutricional, la disponibilidad, la conveniencia y la integridad, y la frescura.

En ocasiones los productos alimenticios suelen ser rechazados por los consumidores por no cumplir con los estándares de calidad requeridos. Al existir más controles de calidad de los alimentos suministrados a los organismos de cultivo, consecuentemente reduce la posibilidad de comercializar productos que no sean de

buena calidad (Palma-Cruz 2015). Estos controles de calidad aseguran al mercado de exportación, productos de alta calidad (FAO 2014).

Existe un elevado riesgo al exceso de los metales que pueden ser absorbidos por los camarones y acumularse en los tejidos de los animales o dispersarse en el agua o los sedimentos si no se digieren, además de las implicaciones de contaminación en el consumidor (Wu & Yang 2011). En este sentido, vale la pena considerar si los productos químicos utilizados en la acuicultura, así como los contaminantes presentes en las aguas circundantes, pueden tener un impacto negativo en la salud y / o los consumidores de los animales (Fernandes *et al.* 2008). A pesar de ello, existe poca o nula información y se desconoce sobre las concentraciones de metales pesados que podrían encontrarse en el cultivo intensivo del camarón blanco.

Los bioensayos de toxicidad aguda son herramientas convencionales que se utilizan ampliamente para evaluar la toxicidad de agentes terapéuticos fisiológicamente activos y el potencial de estos productos para contaminar especies comerciales y ecológicamente importantes (Al-Tamimi *et al.* 2015). Sin embargo, la concentración segura para las especies de cultivo debe conocerse antes de que el CuSO4 pueda usarse como agente terapéutico. Esto es especialmente importante ya que las concentraciones recomendadas y la duración del tratamiento para CuSO4 están cerca de la concentración letal para muchas especies cultivables (Tavares-Dias 2021).

Los mejillones son de los organismos más conocidos por ocasionar impactos negativos, tanto en la naturaleza como en los sistemas de cultivo de camarón. Los falsos mejillones pertenecientes a la familia Dreissenidae, como el mejillón cebra *Dreissena polymorpha*, ha ocasionado daños importantes a nivel ambiental y en muchas industrias, provocando enormes gastos para su control y/o erradicación, ascendiendo a aproximadamente 1 billón de dólares anuales solo en los Grandes Lagos, Estados Unidos (McFarland 2015). Asimismo, el mejillón dorado *Limnoperna fortunei* (familia Mytilidae), es un exitoso invasor de los ecosistemas estuarinos o de agua dulce (Lodeiros y Torres 2018).

El mejillón charrú americano *Mytella strigata* (Hanley 1843), anteriormente conocido como *Mytella charruana* (d'Orbigny 1846), es un mejillón invasivo capaz de

colonizar una variedad de sustratos duros y blandos particularmente en ambientes de agua salobre y que ha disminuido la rentabilidad en las camaroneras que poseen un elevado grado de invasión (Lodeiros y Torres 2018, Lodeiros *et al.* 2021). Su área de distribución nativa incluye las costas del Pacífico y el Atlántico tropical de América Central y del Sur, desde México, el Caribe, Ecuador y Argentina (Castellanos 1967; Coan & Valentich-Scott 2012; Soot-Ryen 1955).

Mytella strigata es una especie de forma trapezoidal, los adultos frecuentemente muestran una concha cóncava en la zona ventral curveada hacia el interior, la cual es recta en juveniles, con 2 dientes pequeños en la zona antero-ventral, esculturas con estrías concéntricas hacia el margen y finas costillas ventralmente, la cicatriz del músculo retractor anterior es ovalada y pequeña, la concha interior es negro-púrpura con matices nacarados, el periostraco (parte exterior de la concha) frecuentemente es verde oliva a grisáceo púrpura, pero puede ser amarillento y marrón. Puede llegar a alcanzar los 80 mm de longitud antero-posterior de la concha (Keen 1971; Pereira et al. 2003; Szefer et al., 1998).

Mytella strigata puede alcanzar la madurez reproductiva con una longitud de concha de 1,25 cm (Stenyakina et al. 2010); M. strigata se alimenta por filtración, típicamente tiene una gran fecundidad y una tasa de crecimiento rápida a la vez que tolera una amplia gama de condiciones ambientales, disminuye drásticamente la productividad primaria y altera el equilibrio de la cadena trófica en los estanques, trayendo consigo la disminución del crecimiento y la supervivencia de los camarones, así como el incremento de su depredación por parte de aves, debido a la transparencia del agua de las lagunas, que ocasionan una visualización más rápida de los camarones, lo cual lo hace un organismo ideal para sobrevivir en estanques de cultivo (Lodeiros & Torres 2018; Lodeiros et al. 2021; Huang et al. 2021). Leighton (1979) destaca que los mejillones en cultivo cuentan con un mejor acceso al recurso alimenticio en la columna de agua y por periodos más largos de tiempo. Por lo tanto, la competencia potencial y los posibles patógenos desconocidos traídos por Mytella strigata, podrían contribuir a la mortalidad de los organismos de cultivo (Huang et al. 2021).

*Mytella strigata* tolera amplios rangos de salinidad, habita en lagunas costeras con fondos de arena, fango, limo-arcilla (Keen 1971) y en Sinaloa, México sus larvas

invaden los estanques de camarón con más intensidad en junio después de los desoves y en menor intensidad todo el año (Farías-Sánchez *et al.* 2006), siendo esta especie un invasor no deseable en las primeras fases del cultivo de camarón cuando se necesita alta productividad primaria en el estanque (Galíndez 2010).

El mejillón *Mytella strigata* sea como especie nativa, trasplantada o invasora, posee una elevada resistencia y adaptación a temperaturas y salinidades, elevada fecundidad y se puede reproducir en tallas pequeñas (12,5 mm, Stenyakina *et al.* 2010), conjuntamente con la adaptación a varios tipos de sustratos (Landa-Jaime, 2003; Darrigran & Lagreca 2005; Boudreaux & Walters 2006; Paredes & Cardoso 2008; De la Hoz 2013) representando un riesgo en los cultivos de *Penaeus vannamei* en la zona neotropical, pudiendo producir un desbalance trófico y geoquímico en las piscinas de cultivo, por lo que se hace necesario su control.

El efecto letal del sulfato de cobre 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 excesivo e inapropiado de compuestos que contengan este elemento, provocando daños tanto para los camarones como para el medio ambiente.

#### **OBJETIVOS**

#### **GENERAL**

Evaluar del efecto del sulfato cúprico en el mejillón *Mytella strigata* y el camarón *Penaeus vannamei*, como parte de una estrategia que permita controlar las invasiones del mejillón en las piscinas del cultivo de camarón.

#### **ESPECÍFICOS**

Determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del sulfato de cobre en el molusco *Mytella strigata* y en el crustáceo *Penaeus vannamei*.

Determinar la concentración del cobre en los tejidos y exoesqueleto del crustáceo *Penaeus vannamei*.

Evaluar el efecto en dosis subletal del sulfato de cobre en el crustáceo *Penaeus* vannamei.

#### METODOLOGÍA

#### Organismos y condiciones generales

Se utilizaron juveniles de *Mytella strigata* provenientes de poblaciones en piscinas de cultivo del camarón *Penaeus vannamei* establecidas en Unare, edo. Anzoátegui, y postlarvas de estadio 43(PL43) del camarón blanco *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) provenientes de precriaderos establecidos en la costa del Golfo de Santa Fe, edo. Sucre, Venezuela, ambos de la empresa Aquamarina de la Costa. Los organismos fueron trasladados en contenedores isotérmicos con agua de mar con aireación hasta el laboratorio de Acuicultura del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente (IOV-UDO).

Previo a los ensayos, como periodo de aclimatación, ambos lotes de organismos fueron mantenidos durante 24h, en acuarios con agua del precriadero tratada por filtración con manga de 5 μm de retención y almacenada en tanque de 1500 L en el Laboratorio de Acuicultura del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente (IOV-UDO). Los materiales y utensilios, así como los acuarios utilizados fueron lavados con agua filtrada a través de un sistema Millipore© utilizando papel Whatman (GF/F 0,7μm de tamaño de poro) y esterilizada en autoclave (15psi/120°C/15min).

Las condiciones de los bioensayos tanto para *Mytella strigata* y *Penaeus vannamei* fueron de una temperatura (29,4  $\pm$ 1°C), fotoperiodo (12:12), salinidad (25‰), pH (7  $\pm$  0,5) y oxígeno disuelto (>7 mg L<sup>-1</sup>).

## Establecimiento de la concentración experimental de sulfato de cobre en los organismos

Para establecer las concentraciones subletales a utilizar, a ambas especies se les sometió, durante 96h, a diferentes concentraciones de sulfato de cobre, a partir de diluciones de una solución madre primaria de sulfato cobre pentahidratado (CuSO<sub>4.5</sub>H<sub>2</sub>O<sub>.</sub> Sigma, St. Louis, MO) con una concentración de 100mg L<sup>-1</sup>.Las

concentraciones experimentales fueron de intervalo amplio de acuerdo a las recomendaciones de Nascimiento *et al.* (2002). Para ello, en cada una de las concentraciones establecidas de sulfato de cobre (0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 y 4 mg L<sup>-1</sup>), fueron transferidos por triplicado cinco juveniles de *Mytella strigata* (2,74 ± 0,30 cm) y cinco postlarvas (PL43) (16,9 ± 2,38 mm) de *Penaeus vannamei*, previamente aclimatados, a envases plásticos de 800 mL de capacidad, conteniendo 650 mL de agua de mar aireada continuamente, mantenidas sin alimentación durante 96 h. A los mejillones se les hizo un recambio de agua cada 48 h. Transcurrido este tiempo los organismos muertos fueron contados (los organismos que no mostraron reacción de las valvas al ser estimulados por contacto con una varilla de vidrio se consideraron muertos). La concentración elegida fue aquella que produjo mortalidad total en el mejillón pero no en el camarón. Adicionalmente para la comparación con otros trabajos,se calculó la CL<sub>50</sub>- 96h, con intervalos de confianza de 95% aplicando el programa computarizado Probit-Log siguiendo las recomendaciones en Esclapés (1999).

#### **Bioensayo**

Efecto del cobre en Penaeus vannamei

Para realizar las pruebas de toxicidad las postlarvas, se aclimataron en acuarios de 30 L con agua de mar filtrada y esterilizada y con aireación permanente durante 72h y bajo las condiciones descritas anteriormente. Durante este período, los organismos fueron alimentados con harina de pescado *ad libitum* y se realizaron recambios diarios de agua. Los organismos no fueron alimentados 24h antes de realizarse los experimentos, para permitir la evacuación intestinal completa. Posteriormente, se transfirieron, por triplicado a acuarios de vidrio con capacidad de 10L, conteniendo 8L de agua de mar filtrada y esterilizada y una densidad de 300 postlarvas por acuarios (longitud total 16,9 ± 2,38 mm y peso 60,00 ± 0,00mg) y la concentración de Cu seleccionada cuya afección fuera para *Mytella strigata* pero no para *Penaeus vannamei*, manteniendo las condiciones de cultivo anteriormente descritas. Estos organismos fueron alimentados tres veces al día (08:00; 12:00 y 16:00h) con una ración de 300 mg de harina de pescado, durante 12d. Antes de agregar la comida, fueron retirados por sifoneo los restos de comida sedimentada y se realizó el recambio de 2000 mL de agua

con la concentración de Cu del ensayo. Para los cultivos controles, las postlarvas se cultivaron sin Cu a la densidad y las condiciones controladas iguales a la de las postlarvas expuestas a Cu. Al inicio, a la mitad y al final del bioensayo, se tomaron muestras de cada réplica para la determinación de parámetros evaluativos de la densidad poblacional, el crecimiento en longitud y biomasa y cuantificación del contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos totales, así como la cuantificación de niveles de cobre en dichos organismos estudiados.

#### Depuración del cobre en Penaeus vannamei

Para observar el proceso de depuración del Cu de las postlarvas de *Penaeus vannamei*, éstas fueron transferidas a acuarios (por triplicado) con 8 L de agua de mar filtrada y esterilizada sin la concentración de Cu ensayada. Estos organismos se mantuvieron durante 5d bajo las mismas condiciones descritas anteriormente y fueron alimentados 3 veces al día (08:00; 12:00 y 16:00h) con una ración de 300 mg de harina de pescado por acuario. Al final del bioensayo se tomaron muestras de cada réplica para la determinación de parámetros evaluativos de densidad poblacional, el crecimiento en longitud y biomasa y cuantificación del contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos totales, así como la cuantificación de niveles de cobre en dichos organismos estudiados.

#### Parámetros evaluativos

#### Densidad poblacional

Para determinar la densidad poblacional de las postlarvas de *Penaeus vannamei* se tomaron muestras de cada réplica, se fijaron con una gota de Lugol al 10% y se contabilizó la densidad poblacional con la ayuda de una cámara de Bogorov y una lupa estereoscópica marca LEICA.

#### Crecimiento

Las medidas de longitud total (mm) de los organismos se realizaron por microscopía óptica, utilizando una lupa esteroscópica (Leica), con cámara digital

incorporada Marca Nikon D5000. Los organismos fueron teñidos con una solución de Lugol al 5% para luego ser medidos. Estas estimaciones se registraron sobre las fotos digitalizadas, procesando cada foto a través del programa SIGMA-SCAN PRO 5.0 y con estos datos se estimaron las medidas de longitud de cada muestra.

#### Biomasa

Para la determinación de la biomasa seca de las postlarvas de *Penaeus vannamei* se tomaron cinco organismos por triplicado, de cada una de las réplicas establecidas, colocándolas en un papel Whatman de 45 mm (GF/C 1,2 $\mu$ m de tamaño de poro), previamente lavados con agua destilada y tratados a 100 °C y pesados (balanza analítica Denver TR-204 con una precisión de  $\pm 0,0001$  g); las muestras fueron deshidratadas a 65 °C en estufa hasta obtener masas constantes (aproximadamente 24 h), pesándolas para determinar su biomasa seca, tras restar el peso del papel de filtro.

#### Niveles de cobre en Penaeus vannamei

La cuantificación de los niveles de cobre se realizó por espectrofotometría de absorción atómica, utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer (Mod. 3110) con llama de aire-acetileno, a las longitudes de ondas y condiciones establecidas para este metal, método estandarizado para la determinación de metales pesados. Para ello los organismos fueron disecados separando el tejido blando del exoesqueleto, se pesaron por separado y se colocaron en una estufa a 60 °C por 72 h hasta que alcanzaron una biomasa constante. Se utilizó aproximadamente 1 g (masa seca) de cada muestra para los análisis, luego fueron sometidos a una digestión con una mezcla de HNO3, HCl y HClO4, en una relación 3:2:1 más agua desionizada. Todas las muestras se calentaron a 100 °C/ 4 h en matraces erlenmeyer de 50 mL. Posteriormente, fueron filtradas con papel Watman #42 y se transfirieron a balones volumétricos de 25 mL completándose el volumen con agua desionizada altamente pura (agua calidad NANOPURE de conductividad de 18 MW/cm) alcanzado con un sistema NANOPURE UV, Marca Barnstead (EUA). Las muestras fueron refrigeradas a 4 °C hasta su análisis.

La precisión de la técnica para la cuantificación de los niveles de cobre (mg/L) en Penaeus vannamei, fue verificada mediante el análisis de un patrón de organismos marinos certificado (tejido de ostra NIST1566b). Los resultados obtenidos fueron verificados y comparados con los señalados por los fabricantes. Cabe destacar, que este análisis se realizó por triplicado.

#### Bioconcentración de cobre

El factor de bioconcentración (FBC) es la medida de la capacidad que tiene una sustancia presente en un medio para acumularse en los tejidos de los organismos (Gutiérrez&Valqui2019). Una vez cuantificados los niveles de cobre en *Penaeus vannamei*, se procedió a determinar el factor de bioconcentración (FBC) siguiendo recomendaciones de Gobas & Morrison (2000), calculándose:

Composición bioquímica

#### Proteínas totales

La cuantificación de proteínas fue determinada a través del método de Lowry *et al.* (1951), previa hidrólisis de la muestra con NaOH 0,5 N. La hidrólisis alcalina de la muestra se realizó en una estufa con NAOH 0,5 N/24 h/30 °C. Transcurrido este tiempo se añadió 5 ml de una solución previamente preparada con 50 ml de carbonato sódico + 1 ml de sulfato cúprico, se dejó reposar durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente se agregó 0,5 ml de reactivo de Foulin 1 N, se agitó el conjunto y se dejó en reposo por 3 h a temperatura ambiente y en la oscuridad. Por último, se midió la absorción a una longitud de onda de 750 nm, en el espectrofotómetro. Para la recta patrón fue empleada una solución "stock" de albúmina a una concentración de 500 μg/mL.

#### Carbohidratos totales

Los carbohidratos en *Penaeus vannamei* fueron cuantificados de acuerdo al método de Dubois *et al.* (1956), como sigue: a 2 mL de una solución de azúcares, se

agregó 1 mL de solución de fenol al 5 % y posteriormente, se añadieron 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, realizando el procedimiento rápidamente entre cada una de las adiciones de los reactivos. Se aseguró la adición de los reactivos directamente sobre el líquido y no por las paredes del tubo. Los tubos de ensayo se dejaron en reposo durante 10 min, seguido de una agitación durante 30 s, y su posterior reposo en un baño de agua a temperatura ambiente durante 20 min. Finalmente, la medición se realizó en el espectrofotómetro utilizando una longitud de onda de 490 nm.

#### Lípidos totales

Los lípidos totales fueron cuantificados de acuerdo al método de Pande *et al.* (1963), siguiendo la metodología de Bligh & Dyer (1959) que consistió en la homogenización a alta velocidad de la biomasa con una mezcla metanol-cloroformo en una proporción de 2:1, seguidamente se agregó una parte de cloroformo y se dejó homogenizar por 30 s, posteriormente se agregó una parte de agua y se dejó homogenizar por otros 30 s. El homogeneizado se filtró con papel Whatman Nº 1 en un embudo Büchner con una ligera succión. El filtrado fue transferido a un cilindro graduado de 500 ml y, después de unos minutos se registró el volumen de la capa de cloroformo y se eliminó la capa alcohólica por aspiración. También se eliminó un pequeño volumen de la capa de cloroformo para asegurar la eliminación completa de la capa superior, conteniendo el lípido purificado, la capa de cloroformo. Para la extracción cuantitativa de lípidos, el lípido retenido en el residuo del tejido se recuperó mezclando el residuo y el papel de filtro con 100 ml de cloroformo. La mezcla se filtró a través de de un embudo Büchner y se enjuagó el embudo y el residuo con 50 ml de cloroformo. Este filtrado se mezcló con el original antes de eliminar la capa alcohólica.

#### Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados siguiendo recomendaciones de Sokal & Rohlf (2003), usando el paquete estadístico STATGRAPHIC CENTURION. Las variables evaluativas de parámetros de crecimiento, biomasa y composición bioquímica del crustáceo *Penaeus vannamei* se evaluó mediante un ANOVA II, considerando como factores, los tipos de cultivo (experimental y control) y días de exposición al Cu (inicial, media y final: 0, 6 y 12 d). Los niveles de Cu corporales en *Penaeus vannamei* 

(experimentales) se evaluaron mediante un ANOVA I, siendo el factor días de exposición. Los datos de las variables antes señaladas cumplieron con los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianzas, aunque algunas variables se ajustaron a la distribución normal, luego de transformaciones a  $Log_{10}$  (biomasa, talla y concentración de Cu en exoesqueleto y tejido). Aquellas variables que mostraron diferencias (establecidas con p<0,05) se realizó un análisis a posterior de *Sheffé* para establecer diferencias entre los tratamientos (ZAR 1984)

#### **RESULTADOS**

#### Concentración experimental y la concentración media letal

Al exponer a los individuos de *Mytella strigata* al intervalo de concentraciones establecidas se determinó que la concentración media letal (CL<sub>50</sub>) fue de 0,57 mg/L con un límite de confianza al 95% de 0,40 (intervalos 0,40-0,80), en la población experimental. Sin embargo, los individuos de *Penaeus vannamei* fueron sometidos al mismo procedimiento experimental, determinando que la CL<sub>50</sub>fue notablemente más elevada (2,91 mg/L Cu) con un límite de confianza al 95% de 2,40 (intervalos 1,60-4,00), en vista de ello se estableció como dosis de estudio 0,8 mg/L Cu, la cual se encuentra fuera del intervalo de confianza de la CL<sub>50</sub> permitiendo la muerte total de los mejillones y la total supervivencia de los camarones.

#### **Bioensayos subletales**

#### Efecto del Cu en Penaeus vannamei

Al final del experimento no se observaron organismos muertos corroborando la selección de la dosis subletal. Durante el experimento se observó solo diferencias significativas en la talla de los organismos en el tiempo de cultivo, alcanzando tallas en los organismos expuestos al cobre de 20,45±1,40 y para los no expuestos de 20,90±2,07 mm (Fig. 1). No obstante, la biomasa (Fig. 2) no solo incrementó significativamente en ambos grupos, particularmente del día 6 al 12, sino que el crecimiento fue mayor en los organismos no expuestos al cobre, alcanzando al final del estudio una biomasa de 0,16±0,03g, significativamente más alta a la alcanzada por los organismos expuestos al cobre (0,13±0,02g).

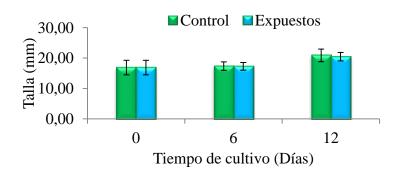


Figura 1. Efecto del cobre sobre la talla del crustáceo *Penaeus vannamei*. Las líneas verticales indican la desviación estándar.

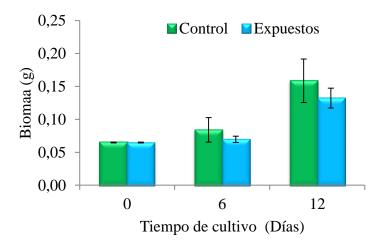
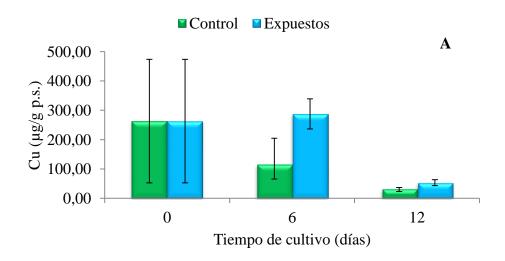


Figura 2. Efecto del cobre sobre la biomasa del crustáceo *Penaeus vannamei*. Las líneas verticales indican la desviación estándar.

#### Acumulación de cobre en Penaeus vannamei

La acumulación de cobre en el tejido y en el exoesqueleto en los organismos provenientes del criadero al final del bioensayo fue de  $53,29\pm9,88$  µg/g (Fig. 3A) y  $146,34\pm26,24$  (Fig. 3B), respectivamente. Solo se encontraron diferencias significativas en los niveles de cobre en tejido (p < 0,05), entre los días de cultivos, a diferencia del exoesqueleto donde no se apreciaron diferencias significativas (p > 0,05).



.

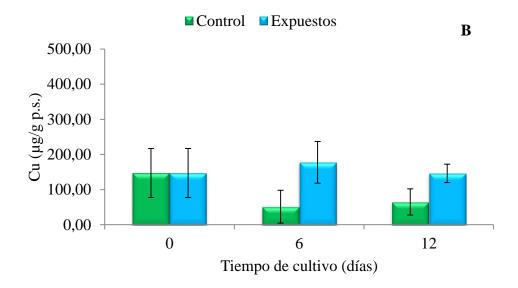


Figura 3. Niveles de cobre (μg/g) en tejido (A) y exoesqueleto (B) del crustáceo *P. vannamei* expuesto a concentraciones de cobre de 0 mg/L (control) y 0,8 mg/L (expuesto) durante diferentes días de cultivo. Las líneas verticales indican la desviación estándar.

#### Factor de bioconcentración (FBC)

Los resultados arrojaron que para ambos grupos (control y experimental) hubo bioconcentración, siendo mayor en el tejido de los organismos sometidos a Cu (controles:  $41,01 \pm 4,93$ ; experimentales:  $66,62 \pm 49,85$ ).

#### Depuración del Cu en Penaeus vannamei

Los niveles de Cu en los organismos expuestos al metal fue más elevado en el exoesqueleto (expuestos:  $146,34 \pm 26,24$  y depurados:  $97,88 \pm 13,57$  µg/g) que en el tejido (expuestos:  $53,29 \pm 9,88$  y depurados:  $6,24 \pm 1,25$  µg/g). Sin embargo, el porcentaje de depuración fue más elevado en el tejido 88,29 % que el exoesqueleto 48,46 % (tabla 1).

Tabla 1. Niveles de Cu (μg/g) del camarón *Penaeus vannamei* expuestos (12 días) y depurados (5 días).

	Expuestos (µg/g)	Depurados (µg/g)	% de depuración
Tejido	$53,29 \pm 9,88$	$6,24 \pm 1,25$	88,29
Exoesqueleto	$146,34 \pm 26,24$	$97,88 \pm 13,57$	48,46

(Media ± Desviación estándar).

#### Composición bioquímica

Con respecto a las macromoléculas solo se encontraron diferencias significativas en el contenido de lípidos entre organismos expuestos y depurados (p< 0,05). Para proteínas y carbohidratos no se encontraron diferencias significativas (p> 0,05; Fig. 4).

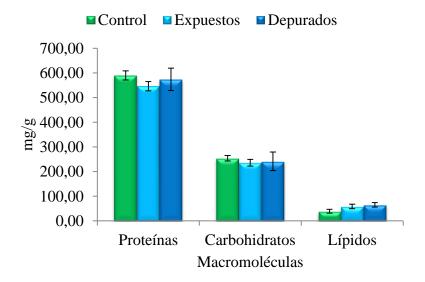


Figura 4. Contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos del tejido de *Penaeus vannamei*, expuesto a concentraciones de cobre de 0 mg/L (control) y 0,8 mg/L (12 días) y depurados (5 días).Las líneas verticales indican la desviación estándar.

#### DISCUSIÓN

#### Efectos letales del Cu en Mytella strigata y Penaeus vannamei

Una de las formas de control de invasiones no deseadas en las piscinas de cultivo de camarón es usando químicos molusquicidas como el sulfato cúprico, que si bien es efectivo, puede causar daños en el ambiente (Aldridge *et al.* 2008; Lodeiros y Torres 2018; Lodeiros *et al.* 2019, 2021). Además, el uso indiscriminado del mismo puede ocasionar excesos del contaminante en los tejidos de la especie a cultivar, como es el camarón *Penaeus vannamei*, por lo que se buscan alternativas más adecuadas para mitigar este problema. Por ello, en la presente investigación se realizaron pruebas de DL50, utilizando juveniles del mejillón *Mytella strigata*, para tener una aproximación de una dosis letal para la erradicación o control del mismo, particularmente a nivel de juveniles, tratando de usar dosis mínimas del contaminante, sin causar daños en el camarón *Penaeus vannamei*, estableciéndose una dosis experimental de 0,80 mg/L de CuSO4, la cual causó en nuestro bioensayo el 100% de mortalidad en el mejillón y ninguna mortalidad del camarón, dada a una mayor resistencia a elevadas concentraciones del Cu (DL50, 96h) en 2,40mg/L de Cu para *Penaeus vannamei* y 0,57 mg/L de Cu para *Mytella strigata*.

La alta sensibilidad al CuSO4 en *Mytella strigata* y otros moluscos coincide con otros estudios, como por ejemplo, el de Moraes *et al.* (2003), que reportaron para *Mytella strigata* de 15-22 mm de talla una LC50 de tan solo 0,12 mgCu/L (96h), la cual causó afección en el comportamiento y disminución de la segregación de biso, haciéndolo vulnerable a los depredadores. Asimismo, en otras especies de bivalvos, Acosta y Lodeiros (2004), para juveniles de la almeja *Tivela mactroides* procedentes de diferentes zonas de estudio y grados de contaminación, la dosis subletal del cobre varió en las diferentes poblaciones, oscilando entre 1,19mgCu/L a 0,30mgCu/L, lo cual indujo en la almeja una respuesta antitóxica, aumentando la producción de proteínas, posiblemente del tipo metalotioneínas que atrapan el excedente del xenobiótico presente dentro del organismo. Loaiza (2019) obtuvo para *Mulinia* sp., concentraciones letales medias de 0,25 y 0,24 mg/L de SO4Cu a las 24 y 48 h, lo cual indica que el tiempo de exposición y la concentración, así como el organismo estudiado influyen directamente

en la supervivencia del mismo. Por otro lado, Reyes (2019) en la prueba de sensibilidad realizada en juveniles de *Argopecten purpuratus*, obtuvo un CL50 (96h) de 0,39 mg/L. Con respecto al efecto de *Penaeus vannamei*, Prasath *et al.* (2019) reporta DL50 96h de 2 a 3 mg/L en adultos, muy similar a la encontrada en la presente investigación. Este efecto parece ser dependiente de la salinidad, ya que Chen y Lin (2001), reportan que a mayor concentración de salinidad en el agua de mar (15 y 25 %), menores dosis de Cu son requeridas para el camarón *Penaeus monodon*, resultando ser mayor el efecto del tóxico a menor salinidad (DL50-96h 3,13mgCu/L al 15 % y 7,73 mgCu/L al 25 %), además de inducir una disminución significativa en la frecuencia de muda, a medida que aumentaba la concentración del metal en el agua.

En camarones de agua dulce las dosis que causan efectos letales son menores, así, Mendoza (2007) reporta que valores de 0,55 mgCu/L para postlarvas del camarón de río *Crypriops camentarius* provoca en 24h la disminución en movimientos natatorios y mortalidad a las 72h, con causas más severas a dosis de 2 mgCu/L; por otra parte, Verma *et al.* (2010), obtuvieron para el camarón de agua dulce *Macrobrachium lamarrei* una DL50 (96h) de 0,30mgCu/L. Diversos autores han estudiado los efectos fisiológicos, histológicos y ultra estructurales que producen los iones metálicos que interfieren en la respiración por la disrupción de la estructura de las células branquiales (Jones 1975; Gill *et al.* 1988; Li-Na *et al.* 2007 & Yang *et al.* 2007). Si bien, en nuestro estudio no se realizaron índices moleculares o histológicos en los camarones, si se observaron comportamientos similares en dosis cercanas a la DL50 (96h).

Estas observaciones de mayor sensibilidad de *Penaeus vannamei* al sulfato cúprico, cuando éste es mantenido a salinidades bajas y en especies de agua dulce, es de gran utilidad para los cultivos del camarón, porque el mismo puede ser cultivado en un amplio rango de salinidades, alcanzando a salinidades bajas, un mayor control sanitario (Jory, 2017). Análisis más exhaustivos del efecto de la salinidad en la dosis de sulfato cúprico del camarón *Penaeus vannamei* para el control de invasores son necesarios para establecer dosis adecuadas, teniendo en cuenta siempre el menor daño ambiental posible.

#### **Bioensayos subletales**

#### Efecto del Cu en Penaeus vannamei

Nuestro estudio mostró que la concentración de 0,80 mgCu/L no impide el crecimiento de los organismos en talla; sin embargo, hay cierta disminución del crecimiento indicando cierta afectación en el crecimiento, lo cual ha sido observado para juveniles de *Penaeus vannamei* cuando la concentración de Cu incrementan por encima de 0,2 mg/L, asociando los efectos en la muda, desarrollo y supervivencia (Frías-Espericueta *et al.* 2008, Qian *et al.* 2020). No obstante, Cheng *et al.* (2014) autores que sometieron juveniles de *Penaeus vannamei* a concentraciones de 3,0 mgCu/L, en un sistema de recirculación de agua por 98d, obtuvieron organismos que alcanzaron tallas y peso adecuados y sin ninguna diferencia con los grupos controles sin exposición al Cu. En otras especies como el camarón *Penaeus monodon*, Chen & Lin (2001) reportan también una afectación en la biomasa y la talla del organismo, cuando estos son expuestos a concentraciones de 4,5 mgCu/L.

Aunque otros estudios muestran diferencias en cuanto a la resistencia al sulfato cúprico de *Penaeus vannamei*, nuestro estudio, claramente muestra cierta afectación en la dosis subletal de 0,80 mg Cu/L, dado que el tratamiento en las piscinas de cultivo de camarón, no es prolongado, posiblemente dicho efecto sea insignificante en los camarones y favorable para la erradicación o control del mejillón a dosis de 0,8-1 mg sulfato cúprico/L.

#### Niveles de cobre en tejidos y exoesqueleto del camarón *Penaeus vannamei*

En nuestro estudio, los niveles de cobre en el exoesqueleto de *Penaeus vannamei* se mantuvieron durante el ensayo, sin embargo, en los tejidos hubo diferencias significativas con respecto a los días de cultivo, disminuyendo al final del experimento, indicando una relación tiempo-dependiente. Lacerda *et al.* (2009), reportaron para *Penaeus vannamei* expuestos a diferentes salinidades y concentraciones de Cu que el fuerte aumento de la concentración del metal en los tejidos musculares se produjo simultáneamente con una disminución de la concentración del Cu en el exoesqueleto, lo que sugiere un intercambio dinámico de Cu entre los dos compartimientos; además la biomasa del crustáceo no se incrementó en la población expuesta a baja salinidad en los diez días del ciclo de crecimiento, donde pudo ser posible una transferencia de Cu desde el músculo al exoesqueleto, reforzando la hipótesis sugerida anteriormente. Bao *et al.* 

(2020), encontró para el crustáceo Cambaroides dauricus que la acumulación de cobre en músculo y hepatopáncreas fue altamente dependiente del tiempo y la concentración. Por otra parte, El-Gendy et al. (2015), reportan para Penaeus semisulcatus que las concentraciones de Cu fueron más alta en el exoesqueleto, seguido de los tejidos y por último las branquias. Carbonell & Tarzona (1994) concluyeron que los diferentes tejidos de los animales acuáticos proporcionan y/o sintetizan sitios de unión no intercambiables que dan como resultado una acumulación diferente durante exposiciones prolongadas, además, la acumulación de Cu en crustáceos es mucho más elevada, debido a que usan el metal como pigmento sanguíneo, si se les compara con otros grupos de invertebrados como poliquetos y moluscos (Everaarts & Nieuwenhuize, 1995; El Gendy et al. 2015). En el camarón gigante de río Macrobrachium rosenbergii la acumulación del Cu en los tejidos tiende a aumentar con el aumento de las dosis y el tiempo de exposición, además de pasar gran parte del tiempo parcialmente enterrados en el sedimento blando, pudiendo ser la razón de la alta acumulación de Cu en estos camarones (Tu et al. 2008). Soedarini et al. (2012), para el cangrejo de río Procambarus sp., mostraron que la acumulación de Cu fue en orden creciente en hepatopáncreas> branquias> exoesqueleto> músculo; al igual que para Procambarus clarkii donde la acumulación fue mayor en branquias > exoesqueleto > abdomen, concluyendo que en crustáceos marinos, la absorción de Cu es realizada rápidamente por las branquias para ser transportado a otros órganos vía hemolinfa, además la presencia del Cu en el exoesqueleto sugiere ser un mecanismo de sobrevivencia, al ser eliminado a través de la muda, deshaciéndose del exceso de metal (Naqvi et al. 1998).

Mendoza (2007), obtuvo valores de 0,55 mgCu/L para postlarvas del camarón de río *Crypriops camentarius*, provocando después de 24h de exposición, disminución en movimientos natatorios, pero con reacción a estímulos mecánicos y después de 72h causó mortalidades mínimas en la población expuesta y dosis más elevadas (0,8 y 1,0 mgCu/L) provocaron hiperactividad natatoria; síntomas moderados de estrés, reacción de escape y adhesión a los vidrios de los acuarios; comenzando a ser severo a 2,0 mg/L. Al transcurrir las horas, las postlarvas entraron en una fase de hipoactividad natatoria: falta de desplazamiento, de lucha y de reacción a estímulos mecánicos, evidenciando que las postlarvas entran en una etapa de aletargamiento moderado (Mendoza 2007).

Estas investigaciones permiten dilucidar el uso del cobre en pequeñas cantidades

para el control de moluscos invasores en cultivos de camarones, sin ocasionar daños severos en los organismos de cultivo, dado que el exceso de cobre en los mismos, se encuentra asociado a ecdisis y postmuda, además de no poseer valor comercial, ya que las concentraciones elevadas de xenobióticos pueden ser perjudiciales para el ser humano.

#### Depuración del Cu en Penaeus vannamei

En nuestra investigación, los niveles de Cu en los organismos expuestos al metal fue más elevado en el exoesqueleto que en el tejido. Sin embargo, el porcentaje de depuración fue más elevado en el tejido 88,29 % que el exoesqueleto 48,46 % (Tabla 1). Keteles & Fleeger (2001), obtuvieron un porcentaje de acumulación del cobre elevado (36 %) y depuración muy bajo en *Palaemonetes pugio*, sugiriendo que el cobre puede ser reabsorbido por el exoesqueleto antes de la muda, siendo relativamente pequeña la cantidad de cobre expulsada, esto se debe a que el cobre puede ser utilizado para la producción de hemocianina durante la ecdisis. Los resultados de Soedarini et al. (2012), muestran que la acumulación del cobre en el cangrejo de río Procambarus sp., es más elevada en el hepatopáncreas y su depuración es mucho más lenta que en el resto de los órganos estudiados (músculo, branquias y exoesqueleto), donde la tasa de depuración fue más rápida, sugiriendo que el cobre puede ser transferido desde estos órganos hacia el hepatopáncreas, debido a su papel en la homeostasis de muchas especies (Chavez-Crooker et al., 2003; Ahearn et al., 2004). Guner (2007), obtuvo para adultos de Astacus leptodactylus un porcentaje de depuración dependiente del tiempo; así, en la primera semana la depuración en el exoesqueleto fue de 6,94 a 5,22 mgCu/L, y en la tercera semana fue de 24,87 % de decrecimiento, igualmente ocurrió con las branquias de 50,5 a 10,1 mgCu/L (80 % de decrecimiento), músculo (15,5 a 7,0 mgCu/L - 54,7 %) y finalmente el hepatopáncreas (73,84 a 49,54 mgCu/L - 32,9 %). Naqvi et al. (1998), para Procambarus clarkii, un porcentaje de depuración de 73 % en el exoesqueleto (83 mgCu/L a 22 mgCu/L, al final de la segunda semana de experimentación), siendo el mismo patrón en el resto de los tejidos estudiados (branquias 87 a 24 mgCu/L - 72 % y abdomen 54 a 19 mgCu/L - 65 %).

#### Composición bioquímica

#### Proteínas

Después de 12 días de exposición no se encontraron diferencias significativas con respecto a los niveles de proteínas en *Penaeus vannamei* (p> 0,05), expuestos a una concentración de 0,8 mgCu/L. Prasath et al. (2019) al exponer a Penaeus vannamei a dosis más elevadas de cobre (10 y 30 %) encontraron cambios significativos en el contenido de proteínas de los diferentes tejidos estudiados (hepatopáncreas, músculo y branquias), en todos los tiempos de exposición al metal (10, 20 y 30 días), decreciendo sus niveles a medida que transcurría el tiempo de experimentación. Así, estos autores demostraron que dosis elevadas de cobre causan alteraciones en los niveles de proteínas del camarón. Guo et al. (2021), reportaron para Penaeus vannamei, sometidos por 3h a una concentración de 5 mgCu/L, que la producción de proteínas se ve afectada rápidamente cuando las concentraciones del metal en el medio son excedidas, impidiendo la expresión de muchos tipos de proteínas, debido a que afecta principalmente la producción de aminoácidos, responsables de la formación de proteínas en los organismos. Munshi et al. (1998), analizaron el efecto del cobre en postlarvas *Penaeus monodon* y *Penaeus peniciliatus*, y demostraron que diferentes tipos de aminoácidos se ven afectados por las concentraciones de cobre disponibles en el medio, el cobre además de ser un metal esencial, puede influir en la producción o inhibición de algunos tipos de aminoácidos, afectando con ello la producción de proteínas, sobre todo las de tipo metalotioneínas, importantes para proteger a los organismos de las acciones tóxicas de los agentes estresores. Manisseril & Menon (1995), observaron en *Metapenaeus dobsoni* extensivas disrupciones y desintegraciones del retículo endoplasmático en los camarones expuestos a 50 y 150 ppb de cobre, indicando serias alteraciones deletéreas asociadas con el estrés al metal, además los cationes del metal pueden inducir la depolimerización y la hidrólisis de ARN, afecta la correcta replicación del ADN y altera la fidelidad de la traducción del ARNm durante el proceso de síntesis de proteínas a nivel ribosomal.

Con respecto a los niveles de lípidos en *Penaeus vannamei* en este estudio fueron encontradas diferencias significativas, siendo más altos en los organismos depurados. Qian *et al.* (2020), para *Penaeus vannamei* sometidos a 0,1 y 1 mgCu/L encontraron una producción significativamente baja en el metabolismo de lípidos, debido a que ocasiona daños a nivel oxidativo, ya que los mecanismos de defensa en crustáceos no pueden prevenirlos del estrés causado por el metal (Brouwer & Brouwer

1998), afectando también la producción de malondialdehído, que es el producto final de la peroxidación lipídica y puede ser usado para minimizar los daños oxidativos (Duan *et al.* 2018). Prasath *et al.* (2019), encontraron diferencias significativas en los niveles de lípidos de *Penaeus vannamei*, sometidos a concentraciones de cobre de 10 y 30 %, siendo más notorio el decrecimiento a esta última concentración, sugiriendo que pudo ser utilizado por la demanda de energía para hacer frente al estrés por el metal. Algunos autores consideran que la disminución de los lípidos totales en los tejidos puede deberse a una disminución drástica del contenido de glucógeno, el cual es una fuente intermedia de energía durante las condiciones de estrés por contaminantes (Amutha *et al.* (2002), Hameed & Muthukumaravel (2006), Raj & Sathyanesan (1987).

En nuestro trabajo no se observaron diferencias significativas con respecto a los niveles de carbohidratos en Penaeus vannamei. Sin embargo, Prasath et al. (2019), muestran una disminución en los niveles de carbohidratos de Penaeus vannamei sometidos a concentraciones de cobre de 10 y 30 %, por 30 días, además la disminución de los mismos fue afectada por el tiempo. Muchos organismos utilizan los carbohidratos, comprimidos en forma de glucógeno y todos los azúcares libres en las diferentes fases de su ciclo de vida (crecimiento, gametogénesis y desove); igualmente, estas reservas pueden ser consumidas rápidamente, cuando las condiciones en el medio no son favorables, además, las grandes variaciones encontradas en los diferentes tejidos indican que el nivel de movilización de las reservas de carbohidratos pueden fluctuar amplia y rápidamente en respuesta a las fluctuaciones del estado nutricional del animal. Karthikeyan et al. (2020), compararon dos poblaciones de Penaeus vannamei, infectados con Gilbertella persicaria un hongo parte del "fouling", así como camarones no infectados, encontrando diferencias en el contenido de las distintas macromoléculas, siendo más elevadas en los camarones sanos que en los infectados con el hongo (49.15 y 31.15% para proteínas, 16.53 y 11.5 % para carbohidratos y 2.37 y 1.04% para lípidos), reafirmando que los organismos sometidos al estrés utilizan sus reservas para protegerse, lo que conlleva a un pobre crecimiento y supervivencia, afectando así a los que son comercializados.

#### **CONCLUSIONES**

El camarón *Penaeus vannamei* posee una mayor resistencia al sulfato cúprico, estimada en cuatro veces mayor que el mejillón *Mytella strigata*, lo cual brinda un intervalo de valores amplio para la selección de una dosis letal para *Mytella strigata* sin causar efectos letales a *Penaeus vannamei*. Dosis cercanas a 1 mg/L de sulfato cúprico cumplen con esta condición.

Existen efectos subletales en la exposición de concentraciones cercanas a 1 mg/L de sulfato cúprico a *Penaeus vannamei* que producen un menor incremento de biomasa a las 48h y 96 h de exposición, sin afectar el crecimiento en talla.

Las postlarvas de *Penaeus vannamei*, provenientes del criadero poseen una carga de Cu en sus tejidos blandos y exoesqueleto, lo cual muestra el uso de químicos que contengan Cu o bien alguna emisión contaminante en el sistema de producción. En todo caso, los niveles son bajos por lo que las postlarvas no se ven afectadas ante la acumulación cuando son expuestas a la dosis subletal, además de su rápida capacidad de depuración (5 días) cuando se utiliza agua sin el contaminante.

Los niveles macromoleculares (proteínas, lípidos y carbohidratos) se mantienen tanto en los organismos expuestos a sulfato cúprico como en los no expuestos y los depurados, indicando la no afección en dichos niveles.

#### RECOMENDACIONES

Los análisis y resultados de esta investigación muestran que las respuestas ante las concentraciones de Cu de los camarones no son especie-específicos y pueden depender de las condiciones ambientales de las piscinas, como la salinidad donde el efecto, -inclusive letal- tiende a ser a menor concentración del metal. En consecuencia, son necesarios más estudios específicos simulando las diferentes condiciones de cultivo existentes para establecer estrategias de control y dosis de sulfato cúprico.

En la práctica se recomienda, antes de establecer la aplicación de sulfato cúprico en los sistemas de cultivo de camarón, realizar ensayos previos para seleccionar las dosis adecuadas; en todo caso, la mayor resistencia al sulfato cúprico registrada en este estudio por su DL50% de *Penaeus vannamei* con respecto a *Mytella strigata* es del orden de más del 400%, lo cual brinda un amplio intervalo para seleccionar las dosis a aplicar. La dosis planteada en el presente estudio de 0,8 mg/L o cercanas a ella, parecen ser dosis acertadas para el control de molusco.

Dado que el tiempo de exposición del sulfato cúprico para el control de moluscos en las piscinas de cultivo es corto, normalmente una aplicación puntual durante un día (Jorge Cúellar, Ondustrial Pesquera Santa Priscila, Ecuador, *com. pers.*) la acumulación de cobre en los camarones podría ser mínima, y su depuración factible de forma rápida, como fue demostrada en el presente estudio; en todo caso, no se aconseja utilizar este tipo de sustancias en momentos cercanos a las cosechas ya que los niveles de Cu en los tejidos pueden ser elevados y no permitidos para su comercialización por las posibles consecuencias en su consumo. Estudios que contengan factores evaluativos como tiempo de exposición, depuración y posibles afecciones en el ambiente a una escala mayor deben ser realizados para verificar las argumentaciones antes desarrolladas.

La invasión de mejillones y falsos mejillones (Dreissenidae) producen una disminución notable en el rendimiento del cultivo de camarones y el control de la invasión es necesario para alcanzar una mayor producción. Así, el uso de químicos que posean la capacidad de contaminar la biomasa del camarón y los sistemas naturales

circundantes no es aconsejado, por lo que se debe incentivar el uso de otros productos molusquicidas como la saponina y otros de origen natural, en función de minimizar el impacto ambiental.

#### REFERENCIAS

Acosta, V. & Lodeiros, C. (2004). Efecto del cobre en juveniles de bivalvos (*Tivela mactroides*) provenientes de ambientes con diferentes niveles de contaminación. *Bol. Centro Invest. Biol.*, 38: 41-51.

Ahearn, G.A., Mandal, P.K. & Mandal, A. (2004). Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. *J. Comp. Physiol.*, 174: 439–452.

Aldridge, D.C.; Salazar, M.; Serna, A. & Cock, J. (2008). Density dependent effects of a new invasive false mussel, *Mytilopsis trautwineana* (Tryon 1866), on shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931), aquaculture in Colombia. *Aquaculture* 281: 34–42.

Al-Tamimi, A.H., Ahmed, J. & Al-Azzawi, A.J. (2015). The acute and chronic toxicity of copper on the behavioral responses and hematological parameters of freshwater fish, common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Iraqi J. Sci.*, 56, 2835–2845.

Amutha, P., Sangeetha, G. & Mahalingam, S. (2002). Diary effluent induced alterations in the protein, carbohydrate and lipid metabolism of a freshwater teleost fish *Oreochromis mossambicus*. *Poll. Res.*, 21(1): 51-53.

Bao, J.; Xing, Y.; Feng, Ch.; Kou, S.; Jiang, H. & Li, X. (2020). Acute and sub-chronic effects of copper on survival, respiratory metabolism, and metal accumulation in *Cambaroides dauricus*. *Nature*, 10: 16700.

Bainy, A. C. (2000). Biochemical responses in penaeids caused by contaminants. *Aquaculture*, 191 (1-3): 163-168.

Bligh, E. & Dyer, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad. J. Bio. chem. Physiol.* 37: 911-917.

Boock, M. & Neto, M. (2000). Estudos toxicológicos do oxicloreto de cobre para tilapia

vermelha (Oreochromis sp.) Arq. Inst. Biol., 67: 215-221.

Boudreaux, M.L. & Walters, L.J. (2006). *Mytella charruana* (Bivalvia: Mytilidae): a new, invasive bivalve in Mosquito Lagoon, Florida. *Nautilus*, 120(1): 34-36.

Boyd, C. E., Clay, J. W., 1998. Shrimp aquaculture and the environment. *Scientific American*, 278: 42-49.

Brouwer, M. & Brouwer, T. H. (1998). Biochemical defense mechanisms against copper-induced oxidative damage in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 351: 257–264.

Burba, A. (1999). The effect of copper on behavioural reactions of noble crayfish *Astacus astacus*. L. *Act. Zoo. Lit. Hydrobiologia*, 9: 30-36.

Carbonell, G. & Tarzona, J.V. (1994). Toxicokinetics of Cu. *Aquat. Toxicol.*, 29: 213-221.

Castellanos, Z. (1967). Catálogo de moluscos marinos bonaerenses. *Anales de la Comisión de Investigaciones Científicas*, 8: 1-365.

Chavez-Crooker, P., Garrido, N., Pozo, P.&Ahearn, G.A. (2003). Copper transport bylobster (*Homarusamericanus*) hepatopancreatic lysosomes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 135: 107–118.

Chen, J. & Lin, Ch. (2001). Toxicity of copper sulfate for survival, growth, molting and feeding of juveniles of the tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 192: 55–65.

Cheng, K.M.; Hu, C.Q.; Liu, Y. N.; Zheng, S. X. & Qi, X. J. (2005). Dietary magnesium requirement and physiological responses of marine shrimp *Litopenaeusvannamei* reared in low salinity water. *Aquac. Nut.*, 11: 385–393.

Cheng, B.; Liu, Y.; Yang, H.; Song, Y. & Li, X. (2014). Effect of copper on the growth of shrimps *Litopenaeus vannamei*: water parameters and copper budget in a

recirculating system. Chinese J. Oceanol. Limnol., 32(5): 1092-1104.

Cheng, W. & Wang, C. (2001). The susceptibility of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to *Lactococcus garvieae* and its resistance under copper sulfate stress. *Dis. Aquat. Org.*, 47: 137-144.

Chu, J. & Chía, L. (2001). Toxicity of copper sulfate for survival, growth, molting and feeding of juveniles of the tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 192:55-65.

Coan, E.V. & Valentich-Scott, P. (2012). Bivalve seashells of Tropical West America Marine bivalve mollusks from Baja California to Northern Peru. Studies in Biodiversity 4, Santa Barbara Museum of Natural History, Santa Barbara.

Cornejo, G. (2002). Concentraciones letales de compuestos químicos en camarones juveniles de *Litopenaeus vannamei*. *Bol. Inf. Qui. Cenain Informa*, 50: 1.

Darrigran, G. &Lagreca, M. (2005). *Moluscos litorales del estuario del río de La Plata, Argentina*. Pro Biota, Serie Técnica Didáctica No. 8. Facultad de Ciencias Naturales y Museo-UNLP. 40 pp.

De la Hoz, M. (2013). Nuevos registros de *Mytella charruana* (Bivalvia: Mytilidae) en Colombia y algunas consideraciones sobre su ecología y estatus. *Bol. Centro Invest. Biol.*, 47: 165-172.

Duan, Y., Wang, Y., Zhang, J., Liu, Q. & Ding, X. (2018). Morphologic, digestive enzymes and immunological responses of intestine from *Litopenaeus vannamei* after lipopolysaccharide injection. *J. Invertebr. Pathol.*, 153: 186–194.

El Gendy, A.; Al Farraj, S. & El Hedeny, M. (2015). Heavy Metal Concentrations in Tissues of the Shrimp *Penaeus semisulcatus* (De Haan, 1844) From Jazan, Southern Red Sea Coast of Saudi Arabia. *Pakistan J. Zool.*, 47(3): 671-677.

Engel, D.W. & Brouwer, M. (1991). Short-term metallothionein and copper changes in blue crabs at ecdysis. *Biol. Bull.*, 180: 447–452.

Esclapés, M. (1999). Protocolos estándares para bioensayos de toxicidad con especies

acuáticas y terrestres. Versión 2.0. Gerencia General de Tecnología. Departamento de Ecología y Ambiente. INTEVEP. Caracas. Venezuela.

Everaarts, J. M. & Nieuwenhuize, J. (1995). Heavy metals in surface sediment and epibenthic macroinvertebrates from the coastal zone and Continental Slope of Kenya. *Mar. Pollut. Bull.*, 31: 281-290.

FAO. (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA) 2014. Roma. 274 pp.

FAO. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en accis. Roma. 223 pp.

Farías-Sánchez, J.A. (2006). Importance of the reproductive cycle and settlement pattern of the mussel *Mytella strigata* (Hanley, 1843) for the preventive maintenance of shrimp culture facilities in southern Sinaloa. In: Palacios, E., Lora, C., Ibarra, A.M., Maeda- Martínez, A.N. & Racotta, I. (Eds.). Recent advances in reproduction, nutrition, and genetics of mollusks. Proceedings of the International Workshop Reproduction and Nutrition of Mollusks, La Paz, México, 6-9 November 2006. CIBNOR, Ciudad de México.

Fernández, C. & Mazziotta, D. (2005). *Gestión de la calidad en el laboratorio clínico*. Panamericana. Madrid. 572 pp.

Fernandes, D.; Zanuy, S.; Bebianno, M.J. & Porte, C. (2008). Chemical and biochemical tools to assess pollution exposure in cultured fish. *Environ. Poll.*, 152:138–146.

Fingerman, M.; Devi, M.; Reddy, P.S. & Katyayani, R. (1996). Impact of heavy metal exposure on the nervous system and endocrine-mediated processes in crustaceans. *Zool. Stud.*, 35(1):1-8.

Francis, G., Makkar, H. & Becker. K. (2001). Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199: 197-227.

Francis, G. Kerem, Z. Makkar, H. & Becker, K. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *Brit. J. Nutr.*, 88: 587-605.

Frías-Espericueta, M.G.; Castro-Longoria, R.; Barrón-Gallardo, G.J.; Osuna-López, J.I.; Abad-Rosales, S.M.; Páez-Osuna, F. & Voltolina, D. (2008). Histological changes and survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles with different copper concentrations. *Aquaculture*, 278: 97–100.

Galíndez, D.K. (2010). Efecto del flujo y el seston sobre la fisiología energética del callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby 1835) y del mejillón de laguna *Mytella strigata* (Hanley 1843). Trab. Grad. Dr. en Ciencias. Programa de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz. 170 pp.

Gill, T.S.; Pant, J.C. & Tiwari, H. (1988). Branchial pathogenesis in a fresh water fish *Puntius conchonius* Ham., chronically exposed to sub-lethal concentration of cadmium. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 12: 267-282.

Gobas, F. A. & Morrison, H. A. (2000). *Bioconcentration an biomagnification in the aquatic environment*. En: Handbook of property estimation methods for chemicals: Environmental and health sciences. Eds.: Boethling & Mackay. CRC Press, Boca Raton, Florida. 189-231 pp.

Gräslund, S. & Bengtsson, B.E. (2001). Chemicals and biological products used in south-east Asian shrimp farming, and their potential impact on the environment—a review. *Science of the Total Environment*, 280: 93-131.

Guner, U. (2007). Freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) accumulates and depurates copper. *Environ. Monit. Assess.*, 133: 365–369.

Gutiérrez, D. & Valqui, D. (2019). Factor de bioconcentración y traslocación de metales tóxicos en las especies *Lolium perenne* y *Trifolium repens* utilizadas en la remediación de pasivos mineros, Hualgayoc Cajamarca-Perú 2019. Trab. Grad. Ing. Amb. Prev. Riesgos. Cajamarca.

Hameed, S.V.S. & Muthukumaravel, K. (2006). Impact of cadmium on the biochemical constituents of fresh water fish *Oreochromis mossambicus*. *Indian J. Env. Sci.*, 10(1): 63-65.

Hassall, M. & Dangerfield, J. M. (1990). Density-dependent process in the population dynamics of *Armadillidium vulgare* (Isopoda: Oniscidae), *J. Anim. Ecol.*, 59: 941-958.

Huang, Y.; Li, Z.; Chen, W.; Chan, Ch.; Hsu, H.; Lin, Y.; Huang, Y. & Han. Y. (2021). First record of the invasive biofouling mussel *Mytella strigata* (Hanley, 1843) (Bivalvia: Mytilidae) from clam ponds in Taiwan. *BioInvasions Records*, 10 (2): 304–312.

Jayachandran, P.R.; Jima, M.; Philomina, J.; Sanu, V.F. & Bijoy-Nandan, S. (2018). Invasion of biofouling mussel *Mytilopsis* Conrad, 1857 (Bivalvia: Dreissenacea) in the Cochin backwaters, southwest coast of India. *Current Science* 115: 2198–2200.

Jones, M. B. (1975). Synergistic effects or salinity temperature on the toxicity of mercury to marine and brackish water isopods (Crustacea). *Estuarine Coastal Mar. Sci.*, 1: 425-431.

Jory, D. E. (2017). Crecimiento lejos de la costa: examinando el cultivo de camarón tierra adentro. *Global Acuaculture Alliance*. www.globalseafood.org. https://www.aquaculturealliance.org/advocate/crecimiento-lejos-de-la-costa-examinando-el-cultivo-de-camaron-tierra-adentro/?headlessPrint=AAA. Recuperado el 28 de abril de 2022.

Karthikeyan, V., Balachandran, S., Ramachandran, K., Rajesh, N. & Gopalakrishnan, A. (2020). Biochemical Transition Effects of Fungi Fouling Disease in *Penaeus Monodon* Shrimp. *J. Zoo Biol.*, 3(1): 21-27.

Keen, M. A. (1971). *Sea Shells of Tropical Western America*. 2nd. Ed. Standford Univ. Press. Stanford, California. 1064 pp.

Keteles, K. A. & Fleeger, W. (2001). The contribution of ecdisis to the fat of copper, zinc and cadmium in grass shrimp, *Palaemonetes pugio* Holthius. *Mar. Poll. Bull.*, 42 (12), 1397 – 1402.

Lacerda, L.D.; Santos, J.A. & Lopes, D.V. (2009). Fate of copper in intensive shrimp farms: bioaccumulation and deposition in pond sediments. *Braz. J. Biol.*, 69(3): 851-858.

Leighton, L. (1979). A growth prolitic for the rock scallop *Hinnites multirugosuls* held at several depths off La Jolla, California. *Mar. Biol.*, 51(1): 229–332.

Liao, C. M.; Chang, C. F.; Yeh, C. H.; Chen, S. C.; Chiang, K. C.; Chio, C. P.; Chou, B. Y. H.; Jou, L. J.; Lien, G. W.; Lin, C. M.; Shen, H. H. & Wu, G. D. (2006). Metal stresses affect the population dynamics of disease transmission in aquaculture species. *Aquaculture*, 257 (1-4): 321-332.

Li-Na, Zhao, Y. & Yang, J. (2007). Impact of water born copper on the structure of gills and hepatopancreas and its impact on the contents of metallothionein in juvenile giant fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea-Decapoda). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 52: 73-79.

Lim, J.Y.; Tay, T.S.; Lim, C.S.; Lee, S.S.C.; Teo, S.L.M. & Tan, K.S. (2018). *Mytella strigata* (Bivalvia: Mytilidae): an alien mussel recently introduced to Singapore and spreading rapidly. *Moll. Res.*, 38: 170–186.

Loaiza-Cárdenas, J. A. (2019). CL50 de sulfato de cobre pentahidratado en *Mulinia* sp. y su efecto en la supervivencia de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*. Trab. Titul. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Machala. Machala. 43 pp.

Lodeiros C., González-Henríquez N., Cuéllar-Anjel J., Hernández-Reyes D., Medina-Alcaraz C. & Rey-Méndez M. (2019). Invasion of the false mussel *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) in shrimp farms from Gulf of Venezuela: first report for the Caribbean Sea area. *BioInvasions Records*, 8: 838-847.

Lodeiros, C. & Torres, G. (2018). Moluscos invasores en piscinas de cultivo de camarón. *Aquacultura*, 123: 25-31.

Manisseril, M. K. & Menon, N. R. (1995). Copper-induced damage to the hepatopancreas of the penaeid shrimp *Metapenaeus dobsoni*- an ultrastructural study. *Dis. Aquat. Org.*, 22: 51-57.

Mcfarland, K. (2015). Population dynamics of the invasive green mussel *Perna viridis* and their response to the toxic dinoflagellate *Karenia brevis*: application of Dynamic Energy Budget theory to determine population trends. Ecology, environment. Université de Bretagne Occidentale (UBO), Brest, 2015. English.

Mendoza, R. (2007). Toxicidad aguda del cobre (Cu2+) en postlarvas de camarón de río *Cryphiops caementarius* (Natantia, Palaemonidae). *Rev. peru. biol.*, 14(1):053-054.

Miranda, I.; Valles, J.; Sánchez, R. & Álvarez, Z. (2010). Cultivo del camarón marino *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) en agua dulce. *Rev. Cient.*, 20 (4): 339-346.

Molina, C. (2015). Evaluación de varias fuentes de proteína vegetal en dietas para el camarón *Litopenaeus vannamei*. Trab. Grad. Dr. Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 206 pp.

Moraes, R.B.C., Loureiro, E.D, Cruz, C.M. &Batalha, F. (2003). *Sensibilidade de organismos bentónicos marinos ao cobre*. En: Anais do III Congresso Brasileiro de Pesquisas Ambientais e Saúde, 2003, Santos. Anais do III Congresso Brasileiro de Pesquisas Ambientais e Saúde, 2003.

Munshi, A. B., Su, Y.Q. & Li, S.J. (1998). Effect of copper, cadmium and Cu. Cd mixture on amino acid content in the postlarvae of penaeid shrimp, *Penaeus monodon* and *P. peniciliatus*. *Pak. J. Mar. Sc.*, 7(1): 35-44.

Naqvi, S.M.; Devalraju, I. &Naqvi N.H. (1998). Copper bioaccumulation and depuration by red swamp crayfish, *Procrambarus clarkii*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 61: 65-71.

Nascimiento, I.; Sousa, E. & Nipper, M. (2002). *Métodos em ecotoxicología marinha:* aplicaçoes no Brasil. Artes Gráficas e Indústria. Sao Paulo, Brasil, 262 pp.

Nicholson, S. (2003). Lysosomal membrane stability, phagocytosis and tolerance to emersion in the mussel *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) following exposure to acute, sublethal, copper. *Chemos.*, 52:1147–1151.

Nookala, T.; Rao, P. Y. &Velaga, M. K. (2014). Tolerance of *Penaeus vannamei* post larvae on exposure to copper. *Inter. J. Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 4: 33-38.

Osunde, I. S.; Coyle, J.; Tidwell & Russell, N. (2004). Acute toxicity of copper sulfate to juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Appl. Aquat.*, 14: 71-74.

Páez-Osuna, F.; Gracia, A.; Flores-Verdugo, F.; Lyle-Fritch, L.P.; Alonso-Rodríguez, R.; Roque, A. & Ruiz-Fernández, A.C. (2003). Shrimp aquaculture development and the environment in the Gulf of California ecoregion. *Mar. Poll. Bull.*, 46: 806–815.

Palma-Cruz, C. (2015). Calidad alimentaria del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* en función de la dieta y del sistema de enfriamiento durante la cosecha. Trab. Grad. M. Sc. Ciencias. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, Baja California Sur, México. 90 pp.

Palou, A., Picó, C.; Bonet, M. L., Oliver, P., Serra, F. Rodríguez, A. M. & Ribot, J. (2005). *El libro blanco de los esteroles vegetales*. 2da Ed., Unilever Foods S. A. y Andreu Palou Oliver. España. 173 pp.

Pande, S., Khan, R. & Venkitsubra, T. (1963). Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. *Anal. Biochem.*, 6: 415-423.

Paredes, C. & Cardoso, F. (2008). Nuevos registros de bivalvos marinos para el Perú. *Rev. Per. biol.*, 15(1): 11-14.

Pereira, O. M., R. C.; Hilberath, P. R. A. C.; Ansarah & Galvao, M. S.N. (2003).

Production estimate of *Mytella falcata* and *M. guyanensis* in natural beds of Ilha Comprida Estuary (Sao Paulo, Brasil). *Boletim Inst. Pesca*, 29:139–149.

Prasath, S.; Valarmathi, V. & Muthukumaravel, K. (2019). Study on the toxicity of copper on biochemical composition of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). *Life Science Informatics Publications*, 5(3): 260-273.

Raj, N. R. & Sathyanesan, A.G. (1987). Histopathological and biochemical changes of a teleost fish, *Channa punctatus* (Bloch) induced by a mercurial fungicide. *Environ. Poll.*, 47: 135-145.

Ramírez, R.; Duran, S.; Salazar, J.; D'suze M. & Cabrera T. (2002). Incidencia del sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) en la sobrevivencia de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*. VI CongresoVenezolano de Acuicultura: 22-25.

Reyes, S. (2019). Toxicidad de los sedimentos marinos de las bahías Tortugas-Casma y Paracas sobre juveniles de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) "concha de abanico". Trab. Grad. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas. Lima. 77 pp.

Qian, D.; Xua, Ch.; Chena, Ch.; Qind, J.G.; Chenc, L. & Li, E. (2020). Toxic effect of chronic waterborne copper exposure on growth, immunity, anti-oxidative capacity and gut microbiota of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 100: 445–455.

Ríos, V., Ocampo, N. & Astorga-España, M<sup>a</sup>. S. (2018). Composición química proximal y morfométría de cholga (*Aulacomya ater*, Molina, 1782) y chorito (*Mytilus chilensis*, Hupé, 1854) comercializados en la Región de Magallanes. *Anales Instituto Patagonia* (Chile), 46(1): 49-58.

Sadralsadati, H.; Mashinchian, A.; Afsharnasab, M.; Ghavam, P. & Ramezanifard, E. (2020). The effects of copper-based nanoparticles on the immune system of the white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(6): 3170-3182.

Scelzo, M. 1997. Toxicidad del cobre en larvas nauplii del camarón comercial *Artemesia longinaris* Bate (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Invest. Mar. Valparaíso*, 25: 177-185.

Samaniego, S. (2015). Determinación de la concentración letal media (CL50) producida por sulfato de aluminio (SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>Al<sub>2</sub> en alevines de tilapia roja *Oreochromis* sp. y en postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei*. Trab. Grad. Ing. Acuac. Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador, 43 pp.

Schlenk, D. Davis, K. & Griffin, B. 1999. Relationship between expression of hepatic metallothionein and sublethal stress in channel catfish following acute exposure to copper sulphate. *Aquaculture*, 177: 367–379.

Scott-Fordsmand, J.J. & Depledge, M. H. (1997). Changes in the tissue concentrations and contents of calcium, copper and zinc in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle and following copper exposure during ecdysis. *Mar. Environ. Res.*, 44: 397–414.

Soedarini, B., Klaver, L. Roessink, I., Widianarko, B., van Straalen, N.M. & van Gestel, C.A.M. (2012). Copper kinetics and internal distribution in the marbled crayfish (*Procambarus* sp). *Chemosphere*, 87(4): 333–338.

Sokal, R.R & Rohlf, F.J. (2003). *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. 3rd edn. Freeman, New York, NY. 915 pp.

Soot-Ryen, T. (1955). A report on the family Mytilidae (Pelecipoda). *Allan Hancock Pacif. Exped.*, 20: 1-175.

Stenyakina, A.; Walters, L.J.; Hoffman, E.A. & Calestani, C. (2010). Food availability and sex reversal in *Mytella charruana*, an introduced bivalve in the southeastern United States. *Mol. Rep. Dev.*, 77: 222–230.

Szefer, P. Geldon, J. Ali, A. A. Páez-Osuna, F. Ruíz-Fernándes, A. C. & Galvan, S. R. G. (1998). Distribution and association of trace metals in soft tissue and byssus of

Mytella strigata and other benthal organisms from Mazatlan Harbour, Mangrove Lagoon of the Northwest Coast of Mexico. Environ. Inter., 24 (3): 359-374.

Tavares-Dias, M. (2021). Toxic, physiological, histomorphological, growth performance and antiparasitic effects of copper sulphate in fish aquaculture. *Aquaculture*, 535: 1-29.

Terazaki, M. Thambuppa, P. & Nakayama, Y. (1980). Eradication of predatory fishes in shrimp farms in utilization of Thai tea seed. *Aquaculture*, 19: 235-242.

Townsend, S. (2002). Aislamiento, identificación y cultivo de cianobacterias con potencial toxicidad sobre postlarvas de *Litopenaeus vannamei*. *Bol. Inf. Cenaim Informa*, 58: 1-2.

Tu, N.; Ha, N.; Ikemoto, T.; Tuyen, B.; Tanabe, S. & Takeuchi, I. (2008). Bioaccumulation and distribution of trace elements in tissues of giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda: Palaemonidae) from South Vietnam. *Fish. Science*, 74: 109–119.

Verma, D.; Singh, H; Ji, K.; Shukla, S. & Sharma, U. (2010). Copper sulphate induced changes in scaphognathite oscillations and oxygen consumption of fresh water prawn, *Macrobrachium lamarrei* (Crustacea-Decapoda). *J. Appl. &Nat. Sci.* 2(1):34-37.

Wang, W. N., Wang, A. L. & Zhang, Y. J. (2006). Effect of dietary higher level of selenium and nitrite concentration on the cellular defense response of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 256: 558–563.

Wu, X. & Yang, Y. (2011). Heavy metal (Pb, Co, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn and Zn) concentrations in harvest-size white shrimp *Litopenaeus vannamei* tissues from aquaculture and wild source. *J. of Food Comp. and Anal.*, 24: 62–65.

Yang, Z.B., Zhao, Y.L., Li-Na & Yang, J. (2007). Effect of water born copper on the microstructures of gill and hepatopancreas of *Eriocheir sinensis* and its induction of

metallothionein synthesis. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 52:222-228.

Yeh, S.; Lui, C.H. & Chen, J. (2004). Effect ofcopper sulfate on the immune response susceptibility to alginolyticus in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immun.*, 17: 437-446.

Zar, J. (1984). *Biostadistical analysis*. Segunda edición. Prentice Hall, New Jersey. USA. 717 pp.

### **METADATOS**

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	CONTROL DE LA INVASIÓN DEL MEJILLÓN MYTELLA STRIGATA (HANLEY, 1843) EN PISCINAS DEL CULTIVO DEL CAMARÓN PENAEUS VANNAMEI (BOONE, 1931) CON SULFATO DE COBRE
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres		Código CVLAC / e-mail
MALAVÉ MOYA	CVLAC	19.331.162
KATHERINE MARGARITA	e-mail	KATHERINEMALAVE57@GMAIL.CO M
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

## Palabras o frases claves:

Toxicología, Invasores, Camarón, Mejillón, xenobiótico	

#### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Sub área
CIENCIAS MARINAS	BIOLOGÍA MARINA

#### Resumen (abstract):

Se evaluó el efecto del sulfato de cobre en la supervivencia del camarón Penaeus vannamei y el mejillón invasor Mytella strigata, así como los efectos subletales en P. vannamei, resultando: DL50% de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O para mejillón 0,57 mg/L y 2,91 mg/L para camarón. La biomasa en P. vannamei fue aumentando a medida que transcurría el tiempo del ensayo, tanto para los días de cultivos como para el tipo de cultivo, donde fueron encontradas diferencias significativas, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la interacción de esos dos factores. Con respecto a la talla se observaron diferencias significativas solo en los días de cultivos, en el tipo de cultivo, mientras que, en la interacción de los dos factores no se observaron diferencias significativas. En relación a los niveles de cobre en tejido y exoesqueleto, solo se encontraron diferencias significativas entre el tejido y los días de cultivos, a diferencia del exoesqueleto donde no se apreciaron diferencias significativas. La depuración de Cu en P. vannamei también fue analizada obteniendo que en los organismos expuestos al metal los niveles de Cu fueron más elevados en el exoesqueleto (expuestos:  $146,34 \pm 26,24 \text{ y depurados}$ :  $97,88 \pm 13,57 \mu\text{g/g}$ ) que en el tejido (expuestos:  $53,29 \pm 9,88$  y depurados:  $6,24 \pm 1,25\mu g/g$ ). Sin embargo, el porcentaje de depuración fue más elevado en el tejido 88,29 % que el exoesqueleto 48,46 %. Finalmente, con respecto a las macromoléculas solo se encontraron diferencias significativas en el contenido lipídico de organismos expuestos y depurados, para lípidos, mientras que para proteínas y carbohidratos no se encontraron diferencias significativas.

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail		
CÉSAR LODEIROS	ROL	C A S X T U JU	
	CVLAC	5706463	
	e-mail	cesarlodeirosseijo@yahoo.es	
	e-mail		
LUIS FREITES	ROL	C X S U U JU	
	CVLAC	4181869	
	e-mail	Ifreitesv@yahoo.es	
	e-mail		
DWIGTH ARRIECHE	ROL	C A S U JU x	
	CVLAC	5225867	
	e-mail	darriech@yahoo.com	
	e-mail		
MAXIMIANO NÚÑEZ	ROL	C A S U JU x	
	CVLAC	7684111	
	e-mail	maximianopnunez@yahoo.com	
	e-mail		

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2022	05	18

Lenguaje: SPA

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Nombre de archivo		
	Tipo MIME	
Tesis_KM.doc Aplication/word		
Alcance:		
Espacial:	(Opcional)	
Temporal:	(Opcional)	
Título o Grado asociado con el trabajo Magíster Scientiarum en Ciencias Mar		
Nivel Asociado con el Trabajo: Magíst	er	

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 5/6



CU Nº 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda "SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC Nº 696/2009".

Leido el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAR URE CORRENTE PAGO a usted a los fines consiguientes.

SISTEMA DE BIBLIOTECA

Cordialmente, SOLNARIANA DE DAD DE ORDAD DE ORDAD

C.C.: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contralorla Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): "los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización".

KATHERINE MALAVÉ AUTOR

PROF: CÉSAR LODEIROS ASESOR

PROF: LUIS FREITES COASESOR