



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CARRERA INGENIERÍA EN ACUICULTURA Y PESQUERÍAS

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN ACUICULTURA Y PESQUERÍAS**

TEMA

**TOXICIDAD DEL SULFATO CÚPRICO (CuSO_4) Y CLORURO MERCÚRICO
(HgCl_2) EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*OREOCHROMIS SP.*) BAJO ESTRÉS
ALIMENTICIO EN LABORATORIO**

AUTORES

BRAVO SALAZAR CARLOS ALFREDO
DOMÍNGUEZ DELGADO KARINA ELIZABETH

DIRECTOR DE TESIS

LCDO. AC. PATRICIO PANTA VÉLEZ, M. SC.

BAHÍA DE CARÁQUEZ 2016

DEDICATORIA

Al concluir una etapa importante de mi vida, es grato dedicar el presente trabajo

A Dios por nunca abandonarme y darme fuerzas para seguir adelante porque sin él nada sería posible.

A mis dos amores Katty y Jean Carlos por darme fuerza para seguir adelante

A mis padres, José Bravo y Blanca Salazar por orientarme y hacer realidad una de las tantas metas propuesta y sueños anhelados.

A mis hermanos por su comprensión y cariño brindado.

A todos los maestros que nos brindaron sus conocimientos en todo momento les quedo agradecido porque sin ellos no estaría realizando esta investigación.

A mis amigos por apoyarme en todo momento y nunca dejar de brindarme sus ayudas.

CARLOS ALFREDO BRAVO SALAZAR

DEDICATORIA

A ti Dios, por la familia y amigos que me brindas que con su sencillez aprendí cada uno de los valores que hoy me ayudan a cumplir este objetivo , por la fortaleza día a día ,por los momentos buenos y también difíciles, por lo que tengo hoy y por lo que está por venir.

A mis padres quienes con sus gestos y palabras sencillas, fueron y son mi inspiración para trazar y culminar todas mis metas.

A mis hermanos por su comprensión y apoyo incondicional.

KARINA ELIZABETH DOMÍNGUEZ DELGADO

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Manabí, extensión Bahía de Caráquez, donde nuestra visión de la realidad se amplió gracias a las enseñanzas y convivencia con docentes y compañeros

Al grupo de investigación: Biol. Juan Vera, al Prometeo Dr. Quiansheng Huang y compañeros por hacernos participe de este trabajo investigativo

A nuestro tutor, director de tesis Lcdo. Ac. Patricio Panta Vélez, M. Sc., por la paciencia al revisar constantemente el trabajo de investigación, por sus valiosas sugerencias y conocimientos.

CARLOS ALFREDO BRAVO SALAZAR

KARINA ELIZABETH DOMÍNGUEZ DELGADO

CERTIFICACIÓN

Lcdo. Ac. Rodolfo Patricio Panta Vélez, M. Sc., Catedrático de la Facultad de Ciencias Veterinaria - Carrera de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías de la Universidad Técnica de Manabí,

Certifica que:

La tesis de grado titulada **“TOXICIDAD DEL SULFATO CÚPRICO (CuSO₄) Y CLORURO MERCÚRICO (HgCl₂) EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (OREOCHROMIS SP.) BAJO ESTRÉS ALIMENTICIO EN LABORATORIO”** es un trabajo de investigación original de sus autores, Egdos. Bravo Salazar Carlos Alfredo y Domínguez Delgado Karina Elizabeth, el cual ha sido desarrollado y concluido de acuerdo a los requerimientos establecidos bajo mi dirección y supervisión, previo a la obtención del título de Ingeniero en Acuicultura y Pesquerías.

LCDO. AC. RODOLFO PATRICIO PANTA VÉLEZ, M. SC.
DIRECTOR DE TESIS

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ACUICULTURA Y PESQUERÍAS

TESIS DE GRADO

TEMA

“TOXICIDAD DEL SULFATO CÚPRICO (CuSO₄) Y CLORURO MERCÚRICO (HgCl₂) EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis Sp.*) BAJO ESTRÉS ALIMENTICIO EN LABORATORIO”

Sometida a consideración del Tribunal de Revisión y de Evaluación y legalizada por el Honorable Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del título de:

INGENIERO EN ACUICULTURA Y PESQUERÍAS

APROBACIÓN

DR. PABLO ZAMBRANO R.
DECANO F. C. V.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

LCDO. AC. PATRICIO PANTA VÉLEZ, M. SC.
DIRECTOR DE TESIS

AB. DANIEL CADENAS M.
SECRETARIO ASESOR JURÍDICO (E)
F.C.V.

BLGA. MARÍA LAURA GARCÍA, M. SC.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE REVISIÓN Y
EVALUACIÓN

BLGO. JUAN MANUEL VERA D., M. SC.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE REVISIÓN Y
EVALUACIÓN

BLGO. JUAN JOSÉ BERNAL Z., M. SC.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE REVISIÓN Y
EVALUACIÓN

AUTORÍA

El desarrollo de la presente investigación de tesis de grado, es una meta cumplida del arduo trabajo y la dedicación de los autores

CARLOS ALFREDO BRAVO SALAZAR

KARINA ELIZABETH DOMÍNGUEZ DELGADO

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	2
DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTO	4
CERTIFICACIÓN	5
APROBACIÓN	6
AUTORÍA	7
ÍNDICE DE TABLAS	11
ÍNDICE DE FIGURA.....	12
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍA	13
RESUMEN	14
ABSTRACT.....	15
ABREVIATURAS.....	16
1. INTRODUCCIÓN.....	17
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	19
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
4. OBJETIVOS.....	23
4.1 OBJETIVO GENERAL	23
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
5. MARCO TEÓRICO.....	24
5.1 GENERALIDADES	24
5.2. RELACIONES DOSIS-EFECTO Y DOSIS-RESPUESTA	24
5.3 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE A PRUEBA.....	25
5.3.1 TAXONOMÍA	26
5.3.2 DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA TILAPIA (<i>Oreochromis sp.</i>)	26
5.3.3 MORFOLOGÍA EXTERNA	27
5.3.4 HÁBITOS ALIMENTICIOS.....	28
5.3.5 HÁBITOS REPRODUCTIVOS	28

5.3.6 ENFERMEDADES DE LA TILAPIA	29
5.3.7 PARÁMETROS DE CULTIVO.....	29
5.4 CONTAMINANTES	30
6. HIPÓTESIS.....	36
7. VARIABLES.....	37
8. DISEÑO METODOLÓGICO.....	38
8.1 TIPO DE ESTUDIO.....	38
8.2 ÁREA DE ESTUDIO	38
8.3 METODOLOGÍA	39
8.3.1. OBTENCIÓN DE ORGANISMOS	39
8.3.2. ADAPTACIÓN DE LAS TILAPIAS.....	39
8.4. DISEÑO EXPERIMENTAL	40
8.5. PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA.....	45
8.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
9. EQUIPOS, MATERIALES Y RECURSOS.....	46
9.1. EQUIPOS	46
9.2. MATERIALES	46
9.3. RECURSOS	47
9.3.1. ECONÓMICOS	47
9.3.2. HUMANOS.....	47
10. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	48
10.1 EFECTOS DE LOS TÓXICOS	48
.....	51
10.2 SOBREVIVENCIA	52
10.3 PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS DE LOS TRATAMIENTOS DEL BIOENSAYO TOXICOLÓGICO...55	
11. DISCUSIÓN.....	58
12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	60
12.1 CONCLUSIONES.....	60

12.2 RECOMENDACIONES	61
13. PRESUPUESTO	62
14. CRONOGRAMA.....	64
15. BIBLIOGRAFÍA	65
ANEXO	75
ANEXO 1. GLOSARIO DE TÉRMINOS	76
ANEXO 2. REGISTRO DE PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS DEL AGUA DURANTE EL EXPERIMENTO BIOLÓGICO.....	80
ANEXO 3. REGISTRO DE MORTALIDAD DE LOS ORGANISMOS PRUEBA DURANTE EL EXPERIMENTO BIOLÓGICO.....	81
ANEXO 4. FOTOGRAFÍAS	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros físicos químicos requeridos en el cultivo de Tilapias.....	30
Tabla 2. Variables y su operacionalización	37
Tabla 3. Tratamientos utilizados en el experimento	41
Tabla 4. Afectaciones de los peces en los diferentes tratamientos con alimento	48
Tabla 5. Afectaciones de los peces en los diferentes tratamientos sin alimento.....	50
Tabla 6. Supervivencia de los peces en los diferentes tratamientos en el experimento.....	52
Tabla 7. Análisis ANOVA de dos factores entre la mortalidad , toxico y alimento.....	53
Tabla 8. Promedio de parámetros físico químicos de los diferentes tratamientos.....	56

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Morfología externa de la Tilapia	27
Figura 2. Escuela de Acuicultura y Pesquerías, lugar donde se desarrolló la investigación	38
Figura 3. Afectaciones en los tratamientos con alimento	49
Figura 4. Afectaciones en los tratamientos sin alimento	51
Figura 5. Porcentaje de sobrevivencia en los diferentes tratamientos	53
Figura 6. Analisis de varianza (ANOVA)	54
Figura 7. Caja de mortalidad representando porcentaje de sobrevivencia.	55
Figura 8. Promedio de temperatura (°C) del agua en los diferentes tratamientos.....	56
Figura 9. Promedio de oxígeno disuelto (mg/L) del agua en los diferentes tratamientos. ...	57
Figura 10. Promedio de pH del agua en los diferentes tratamientos.	57

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍA

Fotografía 1. Aclimatación de Tilapias	39
Fotografía 2. Biometría de las Tilapias	40
Fotografía 3. Tratamientos establecidos.....	41
Fotografía 4. Tóxicos experimentales	42
Fotografía 5. Recambio de agua y aplicación de tóxicos	43
Fotografía 6. Alimentación.....	43
Fotografía 7. Tilapias Muertas	44
Fotografía 8. Medición de parámetros físicos-químicos del agua.....	45
Fotografía 9. Tilapia con laceración en la piel	49
Fotografía 10. Canibalismo en los tratamientos	51
Fotografía 11. Adecuación del ares previo al inicio del experimento	82
Fotografía 12. Recoleccion de organismos muertos.....	83
Fotografía 13. Tilapias afectadas.....	83

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar los efectos tóxicos del Sulfato cúprico y Cloruro mercuríco en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) bajo estrés alimenticio en laboratorio. Los tratamientos con y sin alimentación, desde el inicio mostraron lesiones diarias causadas por los contaminantes. Los síntomas fueron nado errático, coloración blanquecina en el cuerpo, lesiones leves como laceración, lesiones graves como organismos sin ojos, sin aletas caudales y pectorales por canibalismo. Existieron diferencias significativas para la sobrevivencia, con un intervalo de confianza de 95% el análisis de varianza (ANOVA) refleja que entre el control, el CuSO_4 y HgCl_2 , hay igualdad en las agrupaciones, mientras que $\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$ con una media de 45,8333 muestra una diferencia entre los tratamientos demostrando que estos compuestos químicos unidos son altamente tóxicos, entre los dos el Cloruro Mercuríco (HgCl_2) con un porcentaje de 73,86 % de sobrevivencia es más toxico que el Sulfato Cúprico (CuSO_4) con porcentaje de 78,40%.. Los parámetros físico-químicos pH, oxígeno y temperatura no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos.

Palabras Claves: *Oreochromis sp.*; Sulfato cúprico; Cloruro mercuríco; estrés alimenticio

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the toxic effects of cupric sulfate and mercuric chloride in juvenile red tilapia (*Oreochromis sp.*) Under nutritional stress in laboratory. The treatments with and without power from the beginning showed daily injuries caused by pollutants. Symptoms were erratic swimming, whitish in the body, minor injuries and lacerations, serious injury as eyeless bodies without flukes and pectoral cannibalism. Significant differences for survival, with a confidence interval of 95% analysis of variance (ANOVA) shows that between control, CuSO_4 and HgCl_2 , no equality in clusters, while $\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$ with an average of 45,8333 shows a difference between treatments demonstrating that these chemicals together are highly toxic, between both the mercuric chloride (HgCl_2) with a percentage of 73,86% survival is more toxic than Cupric Sulfate (CuSO_4) in percentage of 78,40%. . The physicochemical parameters pH, oxygen and temperature were not significantly different between treatments.

Keywords: *Oreochromis sp.*; Cupric sulfate ; Mercuric chloride ; nutritional stress

ABREVIATURAS

α . Alfa

ANOVA. Análisis de varianza

CL₅₀. Concentración Letal Media

cm. Centímetro

et al. y colaboradores

g. Gramo

h. Hora

mg/L. Miligramos por litro

MN. Micronúcleos

pH. Potencial de hidrogeno

sp. Especie

ssp. Especies

T°C. Temperatura grado centígrado

1. INTRODUCCIÓN

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas, los mismos que pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. Por tanto, la toxicidad será la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismos o la biocenosis, y dependerá tanto de las propiedades químicas del compuesto como de su concentración, según sea la duración y frecuencia de la exposición al tóxico, y su relación con el ciclo de vida del organismo (Ronco *et al.*, 2004).

La determinación de la toxicidad de una sustancia química, es que ofrece un rango de respuesta amplio, no obstante, es posible evaluar la homogeneidad de la población que se somete a prueba y establecer un valor preciso de la concentración letal y sus límites de confiabilidad, respecto al tiempo de respuesta de un animal sometido a un contaminante (Marchetti, 1960).

Entre los innumerables contaminantes, los metales pesados en el medio ambiente se han convertido en un fenómeno de interés mundial debido a su toxicidad, persistencia durante

varias décadas en el ecosistema acuático, así como a su bioacumulación y biomagnificación en la cadena alimenticia (Rajeshkumar y Munuswamy, 2011).

Los peces pueden actuar como organismos “centinela” para inferir el nivel de exposición de sustancias químicas tóxicas presentes en los ecosistemas acuáticos (Kilgour *et al.*, 2005).

La tilapia roja es un tetrahíbrido, es decir un cruce híbrido entre cuatro especies representativas del género *Oreochromis*: *O. mossambicus*, *O. niloticus*, *O. hornorum* y *O. aureus*, además es una especie óptima para el cultivo en agua dulce o salada, pues tiene una alta resistencia a enfermedades y gran capacidad para adaptarse a condiciones adversas del medio (Corpei, 2004).

Las condiciones favorables que convierten a las tilapias en uno de los grupos más apropiados para cultivos son: la resistencia a soportar bajas concentraciones de oxígeno, rangos variados de salinidad, gran resistencia física, crecimiento acelerado, tolerancia a enfermedades, aprovecha bien la productividad natural del estanque, y también hace buen uso de alimentos balanceados suplementarios (Castillo y Campos, 2000).

En este sentido la presente investigación evaluó la toxicidad del sulfato cúprico (CuSO₄) y cloruro mercuríco (HgCl₂) en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp*) bajo estrés alimenticio, con el propósito de proporcionar información sobre los efectos de estos contaminantes químicos en los ambientes acuáticos.

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Los metales pesados constituyen los mayores contaminantes químicos tanto en países desarrollados como subdesarrollados. Estos elementos no desaparecen del ambiente, sino que solamente pueden ser transferidos a otros lugares. Algunos metales pesados pueden permanecer en solución, una proporción de ellos se acumulan en los sedimentos y otros en las aguas de los ríos, estuarios o mares (Lloyd, 1992).

El aumento de las actividades industriales y el uso de Sulfato de Cobre (CuSO_4) como fungicida en las prácticas agrícolas, así como en el control de las algas y agentes patógenos en estanque de organismos acuáticos, han aumentado la concentración de cobre en los sistemas acuáticos. La toxicidad de cobre para peces es de una letalidad aguda, altera la función de las branquias y el hígado, causando graves cambios en estos órganos; la absorción de este elemento en los peces de agua dulce se produce principalmente en las branquias, seguido de la piel y los intestinos (Carvalho y Fernández, 2008).

La toxicidad del cobre ha sido estudiada en algunas especies de peces, tales como tilapia azul (*Oreochromis aureus*) (Straus, 2003), curimbatá (*Prochilodus scrofa*) (Cerqueira y Fernandes, 2002; Mazon *et al.*, 2002), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Marr, *et al.*, 1998; Wilson y Taylor 1993; MacGregor *et al.*, 2000) cachama negra (*Colossoma*

macropomum) (Matsuo *et al.*, 2005), juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) (Lozano, 2000) entre otros.

Velasco-Santamaria, *et al.* (2006), determinaron que la concentración letal 50 (CL_{50}) de Sulfato de cobre al cabo de 48 horas de exposición fue de 0,94 ppm (0,82 – 1,08 IC 95%) para cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), indicando que con una dureza del agua de 20 ppm los alevines de cachama blanca son relativamente susceptibles a los efectos tóxicos del sulfato de cobre.

Asimismo Romero (2014), manifestó que la concentración letal media (CL_{50}) de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) en alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) con un peso promedio de 1 gramo, fue de 1,54 mg/L.

El mercurio (Hg) es un metal utilizado ampliamente en procesos industriales de fabricación de electrodomésticos, fármacos, cremas entre otros (Geier *et al.*, 2008), así como empleado en la minería artesanal para la extracción del oro, para amalgamar el mismo, proceso que ha ido en aumento en Latinoamérica durante las pasadas 3 décadas (Appleton *et al.*, 2001). Además, posee gran estabilidad química disminuyendo su biodegradación y metabolización de este por los seres vivos, generando así una contaminación por bioacumulación en el medio y en los organismos circundantes (Mancera-Rodríguez y Álvarez-León, 2006).

El efecto tóxico de este metal ya ha sido registrado en diversos organismos como bivalvos (Sheir *et al.* 2010), peces (Hirt y Domitrovic 2002, Ishikawa *et al.* 2007), anfibios (Muñoz y Palacio 2010), reptiles (Day *et al.* 2007), mamíferos (Das *et al.* 2008, Pelissó *et al.* 2008). Consecuentemente, la acuicultura es vulnerable a la contaminación de estos químicos, debido al uso del recurso hídrico y su posible contaminación con estos metales (Naranjo-Gómez, *et al.*, 2013)

Naranjo-Gómez *et al.* (2013) determinaron la concentración letal media (CL_{50}) del mercurio a 96 horas para la cachama blanca *Piaractus brachypomus* estimando un valor de 0,56 mg Hg/L e indicando que fue un valor cercano a lo registrado en otras especies de peces y representa el primer registro de toxicidad aguda para el mercurio en cachama blanca.

Aunque en algunas especies de peces nativos se han realizado experimentos de toxicidad bajo condiciones de laboratorio (Lozano, 2000), el presente estudio evaluó la toxicidad del sulfato cúprico (CuSO_4) y cloruro mercuríco (HgCl_2) en juveniles de tilapia roja bajo estrés alimenticio en laboratorio; con el propósito de obtener fundamentos biológicos, cualitativo y cuantitativo de la resistencia de estos peces ante la presencia de estas sustancias contaminantes.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de bioensayos para evaluar la toxicidad de sustancias químicas liberadas al medio ambiente, se han convertido en herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología a nivel mundial para conocer los efectos en los cultivos acuáticos y diferentes ecosistemas, frente a la presencia de sustancias altamente tóxicas (Orozco y Toro, 2007).

Los metales pesados en su conjunto pueden ser contaminantes del ambiente, cada uno actúa independientemente causando diferentes problemas (Lloyd, 1992). Los disueltos en las aguas, producen generalmente sofocamiento en los peces, debido a los precipitados o coagulados de mucoproteínas sobre el epitelio branquial, constituyendo un bloqueo del intercambio de gases, excreción de productos de desecho y osmorregulación (Jones, 1973), alteraciones en parámetros hemáticos, metabólicos, inmunitarios, desarrollo embrionario e incluso en un incremento de la incidencia de neoplasias (Zelikoff *et al.*, 1995).

Debido a los pocos estudios sobre toxicidad del Sulfato cúprico (CuSO_4) y Cloruro mercuríco (HgCl_2) en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*), en el presente trabajo se formuló la siguiente pregunta:

¿Qué efecto puede causar el uso de CuSO_4 y HgCl_2 en un cultivo de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) bajo estrés alimenticio en laboratorio?

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar los efectos tóxicos del Sulfato cúprico (CuSO_4) y Cloruro mercúrico (HgCl_2) en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) bajo estrés alimenticio en laboratorio.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer los tipos de tratamientos para el bioensayo bajo estrés toxicológico y alimenticio.
- Determinar el efecto de los tóxicos Sulfato cúprico y Cloruro mercúrico en juveniles de tilapia roja y evaluar daños en órganos externos (piel, ojos, aletas).
- Registrar datos de parámetros físicos químicos del agua de los tratamientos.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 GENERALIDADES

La liberación de sustancias tóxicas en los ecosistemas acuáticos produce una variedad de respuestas complejas en los organismos, las que precisan ser evaluadas. Para ello se han implementado los bioensayos, que son técnicas de evaluación de los efectos tóxicos agudos o crónicos, tanto de sustancias químicas conocidas como de muestras ambientales de composición incierta. Estas pruebas de toxicidad tienen como objetivo medir el efecto de uno o más contaminantes sobre las especies y consiste en la exposición de los organismos de ensayo a concentraciones crecientes de un agente tóxico con el objetivo de determinar algún cambio en éstos en un cierto período de tiempo (Larrain, 1995).

5.2. RELACIONES DOSIS-EFECTO Y DOSIS-RESPUESTA

Efecto es la manifestación de la acción de un compuesto que modifica algún mecanismo bioquímico o función fisiológica. Este cambio debido a la interacción a nivel molecular entre el xenobiótico y los constituyentes biológicos puede no ser evidente (subclínico) o manifiesto (clínico), que incluso a veces puede medirse de manera objetiva. Normalmente se utilizan como sinónimos los términos efecto y respuesta, pero éste último sirve para designar el porcentaje de población en que se manifiesta un efecto. El efecto va ligado a

dos variables: dosis y tiempo, pero frecuentemente se considera sólo el binomio dosis-efecto. Esta relación puede ser de dos tipos:

a) Cuántica: cuando responde a la ley del todo o nada; es decir que ante una dosis el individuo presenta el máximo efecto posible o no experimenta nada.

b) Gradual: cuando el efecto es función de la dosis.

Para calcular la relación dosis-efecto conviene recoger datos de muchos individuos, y como ocurre que para una misma dosis, en una población dada, no todos los individuos experimentan idéntico efecto, denominamos respuesta a la proporción (%) de esa población que manifiesta el efecto requerido (Klaassen y Doull, 1975).

5.3 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE A PRUEBA

La tilapia es un pez teleósteo, del orden Perciforme perteneciente a la familia Cichlidae, originario de África, habita en la mayor parte de las regiones tropicales del mundo, donde las condiciones son favorables para su reproducción y crecimiento (Toledo, 2005).

5.3.1 TAXONOMÍA

Reino: Metazoa (Animalia)

Phyllum: Chordata

Subphyllum: Vertebrata

Infraphyllum: Gnathostomata

Clase: Osteichtyes

Orden: Perciforme

Familia: Cichlidae

Géneros: *Oreochromis*, *Tilapia*, *Sarotherodon*, *Danakilia*

Especies: *Oreochromis niloticus*

Oreochromis mossambica

Tilapia rendalli (= *Tilapia melanopleura*)

Oreochromis aurea

Oreochromis urolepis

Otras: tilapia roja.

5.3.2 DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA TILAPIA (*Oreochromis sp*)

El cuerpo de estos peces es robusto comprimido, a menudo discoidal, raramente alargado, con aleta dorsal que tiene de 23 a 31 espinas y radios; la boca es protráctil, mandíbula ancha, a menudo bordeada por labios gruesos con dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos, en otros casos puede presentar un puente carnoso (freno) que se encuentra en el

maxilar inferior, en la parte media debajo del labio. La línea lateral es bifurcada: la porción superior se extiende desde el opérculo hasta los últimos radios de la aleta dorsal, en la porción inferior, aparecen varias escamas por debajo de donde termina la línea lateral de la parte superior hasta la terminación de la aleta caudal; la aleta caudal truncada redondeada (Figura 1) (Castillo, 2000).

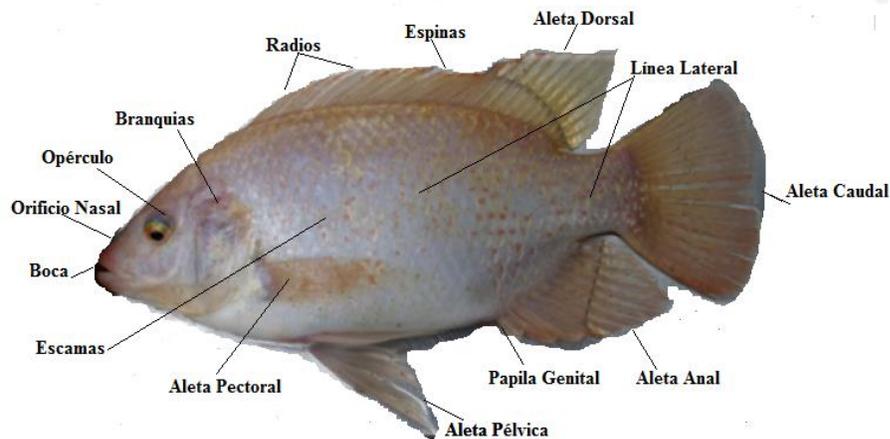


Figura 1. Morfología externa de la Tilapia

5.3.3 MORFOLOGÍA EXTERNA

Presenta un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza, que sirve simultáneamente como entrada y salida de la cavidad nasal (Figura 1). El cuerpo es generalmente comprimido y discoidal, raramente alargado. La boca es protráctil, generalmente ancha, a menudo bordeada por labios gruesos; las mandíbulas presentan dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos. Para su locomoción poseen aletas pares e impares. Las aletas pares las

constituyen las pectorales y las ventrales; las impares están constituidas por las aletas dorsales, la caudal y la anal. La parte anterior de la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas y la parte terminal de radios suaves, disponiendo sus aletas dorsales en forma de, la aleta caudal es redonda, trunca y raramente cortada, como en todos los peces, esta aleta le sirve para mantener el equilibrio del cuerpo durante la natación y al lanzarse en el agua (Saavedra, 2006).

5.3.4 HÁBITOS ALIMENTICIOS

El género *Oreochromis* se clasifica como Omnívoro, por consumir diversidad de alimentos, variando desde vegetación macroscópica hasta algas unicelulares, bacterias, y zooplancton. Las Tilapias son peces provistos de branquiespinas, los cuales pueden filtrar el agua para obtener su alimento basado en algas y otros organismos acuáticos microscópicos. Los alimentos ingeridos pasan a la faringe donde son mecánicamente desintegrados por los dientes faríngeos (López y Cruz, 2011).

5.3.5 HÁBITOS REPRODUCTIVOS

La Tilapia es una especie ovípara, que se reproduce naturalmente, y aunque pone pocos huevos (de 1000 a 2000 por hembra como promedio por puesta) es muy prolífera y puede reproducirse desde los 30 cm una vez cada 45 días, por ser una desovadora parcial. Es omnívora, con preferencia por el fitoplancton (Yordan, 2008).

5.3.6 ENFERMEDADES DE LA TILAPIA

Uno de los inconvenientes que presenta el cultivo de tilapia es la aparición de enfermedades en edades tempranas (larvas y alevines) causadas por hongos, parásitos, crustáceos, y un gran número de bacterias (Conroy, 2004), por lo cual se ve afectado el desarrollo y crecimiento del pez (Moriarty, 1999).

5.3.7 PARÁMETROS DE CULTIVO

Según Lozano y López (2001), los parámetros físicos y químicos de mayor importancia que se deben considerar en cultivo de tilapia son: Oxígeno disuelto, temperatura, pH, nitrito, amoníaco, cloro, cobre, metales pesados como mercurio, zinc y hierro, acidez, alcalinidad, dureza, gases tóxicos, fosfatos, cloruros, sulfatos, sólidos en suspensión y otros.

La tabla 1, muestra el rango óptimo de los parámetros físicos y químicos del agua en el cultivo de tilapia.

Tabla 1. Parámetros físicos químicos requeridos en el cultivo de Tilapias

Parámetro	Rango óptimo
pH	6.5-9
Temperatura	Minima 24°C
Amonio Toxico (NH_3)	0.01-0.1 mg/L
Nitritos ($\text{NO}_2\text{-N}$)	<0.1mg/L
Alcalinidad	0.1-0.2 mg/L
Dureza (CaCO_3)	50-350
Dioxido de Carbono	<20mg/L
Oxigeno	Mínimo: 4.5mg/L
Fosfatos	0.6-1.5 mg/L
Cloruros	<5mg/L
Sulfatos	<18mg/L

Fuente: Norma Mexicana para crianza de Tilapia PC-058-2006

5.4 CONTAMINANTES

El sulfato de cobre (CuSO_4) es un alguicida aprobado por la EPA (U.S. - Environmental Protection Agency) para uso en acuicultura. Aunque no está aprobado por la FDA (U.S. - Food and Drug Administration) como agente terapéutico, es usado masivamente para el control de parásitos protozoarios en especies acuáticas (Straus, 2003), así como para disminuir la proliferación de fitoplancton en aguas eutróficas (Mazon *et al.*, 2002).

En casi todas las especies, el cobre (Cu) es un cofactor indispensable en numerosos procesos enzimáticos. Sin embargo, se ha considerado un contaminante importante de los cuerpos de agua, clasificándose como extremadamente tóxico (Heath, 1991).

El mercurio es un elemento tóxico que puede ser liberado a la atmósfera de manera natural por degradaciones en la corteza terrestre y en los océanos (Leyva y Luszczewski, 1998). En sus diversas formas inorgánicas y orgánicas es usado por el hombre en la manufactura de equipos eléctricos y de medición, pinturas, pesticidas, drogas y minería (amalgamamiento del oro), con el agravante de que sus residuos o productos lixiviados son arrojados a las aguas naturales (Bilinski *et al.*, 1999; Claxton, 1998; Vargas *et al.*, 2001; Lu y Jaffe, 2000; Odeigah y Osanyinpeju, 1995; Panda *et al.*, 1989; Sánchez –Galan *et al.*, 1998).

El mercurio tiene la capacidad de acumularse a lo largo de la cadena alimentaria en los tejidos animales expuestos a este metal, especialmente en peces (Cossa, 1995; Leyva y Luszczewski, 1998; Stary *et al.*, 1980; Waalkes *et al.*, 2000). Así, la alimentación se constituye en una de las formas de exposición indirecta más frecuentes del hombre a este xenobiótico.

Autores como: Stratus 2003, estudiaron la toxicidad del cobre en *Oreochromis aureus*; Cerqueria y Fernández 2002, en *Prochilodus scrofa*; Wilson y Taylor 1993, en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y MacGregor *et al.*, 2000, en cachama negra (*Colossoma macropomum*).

Velasco- Santamaria *et al.*, (2006), determinaron la toxicidad aguda del sulfato de cobre (CuSO_4) en alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) bajo condiciones de agua blandas. 110 individuos fueron expuestos a siete concentraciones, así: 0 (control), 0,25; 0,5;

1,0; 1,5; 2,0 o 4,0 ppm, utilizando acuarios en un sistema semi-estático. La dureza del agua en términos de CaCO₃ se mantuvo constante en 20 ppm durante todo el período experimental. 110 Individuos expuestos a 2,0 y 4,0 ppm de Sulfato de Cobre manifestaron cuadros de hiperexcitación, alternados con letargia y pérdida del eje de nado, con una mortalidad de 100% a las 24 y 6 h, respectivamente. La concentración letal 50 (CL₅₀) al cabo de 48 h de exposición fue de 0,94 ppm (0,82 – 1,08, IC 95%). Estos resultados preliminares permiten inferir que bajo las concentraciones y condiciones del presente ensayo (dureza total de aproximadamente 20 ppm), los alevinos de cachama blanca son relativamente susceptibles a los efectos tóxicos del sulfato de cobre.

Romero (2014), determinó la concentración letal media (CL₅₀) producida por sulfato de cobre (CuSO₄.5 H₂O) en alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). En este trabajo se obtuvo la CL₅₀ de sulfato de cobre penta hidratado (CuSO₄ .5H₂O en alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) con un peso promedio de 1 gramo, determinando su valor en 1,54 mg/L, mediante el modelo estadístico Probit. Como resultado la mayoría de los alevines se vieron afectados por la solución de Sulfato de Cobre (CuSO₄.5H₂O), causando envenenamiento y notándose en las repeticiones que el periodo de la dosis letal media se dio entre los 1,5 mg y 1,6 mg de CuSO₄.5H₂O a las 72 horas de su exposición en la prueba final. La prueba de toxicidad en los alevines de tilapias que se expusieron a las soluciones de sulfato de cobre, mostraron coloración blanquecina en la piel y en las órbitas de sus ojos.

También dejaron de realizar movimientos con sus aletas: caudal, dorsal y pectorales, asentándose en el fondo del recipiente. Se observó que el Sulfato de Cobre causó en los alevines de tilapia un comportamiento errático, con natación confusa y movimientos desequilibrados.

Rai *et al.*, (2015) determinaron la toxicidad aguda de cobre y cobalto en tilapia *niloticas* durante dicha investigación del CL₅₀ en 96 horas(h) en condiciones controladas de laboratorio con un pH constante de 7,25 dureza total de 255 mg/L y la temperatura de 30°C; se evaluaron los parámetros físico químicos del agua como pH, oxígeno disuelto, conductividad eléctrica, dióxido de carbono, amoníaco total, calcio, sodio, magnesio, potasio y dureza total, se controlaron a intervalos de 12 h cada prueba. Los peces fueron expuestos a diferentes concentraciones de cobre y cobalto por separados, se inició a partir de cero con un incremento de 0,05 y 0,5 mg/L Después de la exposición de 96 h, se aplicó varias concentraciones de cada metal, los datos de mortalidad de peces se registraron con tres réplicas para cada concentración. La CL₅₀ a 96 horas y concentraciones letales para cada metal fue calculada utilizando Probit con intervalo de confianza del 95%. En 96-h las concentraciones letales de cobre CL₅₀ se calcularon de la siguiente manera: 25,00 ± 0,65 y 47,56 ± 1,18 mg/L, respectivamente. Sin embargo, los límites de tolerancia de peces para cobalto, en términos de CL₅₀ de 96 horas y concentraciones letales se calcularon como 96,14 ± 0,58 y 178,46 ± 2,04, respectivamente. Los límites de tolerancia de los peces, tanto

para el cobre y el cobalto variaron significativamente en términos de CL_{50} de 96 horas y concentraciones letales. Sin embargo, los peces fueron significativamente más tolerantes al cobalto que la del cobre. Con el aumento de iones metálicos y las concentraciones de los medios de ensayo, el nivel de amoníaco y dióxido de carbono aumentando, mientras que la de oxígeno disuelto disminuyó constantemente. El amoníaco total mostró relación significativa directa con dióxido de carbono, mientras que la misma se mantuvo significativamente negativa con el oxígeno disuelto la disminución del oxígeno Por el consumo de oxígeno de los peces, el estrés, a diferentes concentraciones de cobre y cobalto que el aumento de la excreción de amoníaco de los peces.

Ishikawa *et al.*, (2007) determinaron la toxicidad aguda de mercurio (HgCl_2) en tilapia del nilo, *Oreochromis niloticus*, en esta investigación se reporta la concentración letal media ($\text{CL}_{50-96\text{h}}$) de mercurio para la tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus*, a través de pruebas de toxicidad aguda semi-estático desarrollada con cloruro mercuríco (HgCl_2). El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Toxicología acuática del instituto de Pesca, SP, bajo condiciones controladas de temperatura ($24,4 \pm 2,25$ °C) y fotoperíodo (10L: 14D). Los alevines se mantuvieron durante 96 horas en acuarios de vidrio de 5 litros de acuerdo con las siguientes concentraciones de mercurio ($2,46 \pm 0,21$ cm y $0,41 \pm 0,12$ g) cada tres replica: 0,00 (control), 0,037; 0,185; 0,370; 0,740; 0,925 mg Hg/L. El valor de $\text{CL}_{50-96\text{h}}$ era estimado en 0,220 mg Hg/L Las variables físicas y químicas analizadas en el

ensayo no mostraron diferencias significativa en estadísticas cinco concentraciones, entre grado de concentración y grupo de control. Los valores medios de estas variables fueron: temperatura, $24,40 \pm 2,25$ ° C; pH, $7,31 \pm 0,53$; conductividad eléctrica, $73,88 \pm 2,02$ microsiemens/cm; dureza, $24,66 \pm 1,10$ mg CaCO_3 /L, alcalinidad, $20,54 \pm 1,24$ mg CaCO_3 /L; y amoníaco total $1,63 \pm 0,32$ mg /L Todas estas variables de resultados estaban en conformidad con las normas que se recomiendan en APHA *et al.* (1998) para ensayos de toxicidad.

Peñaloza *et al.* (2003) determinaron la genotoxicidad del cloruro mercuríco en dos especies íctica (*Prochilodus magdalenae* y *Oreochromis sp.*) mediante el test de (MN) micronúcleos se evaluó la genotoxicidad del cloruro de mercurio (HgCl_2) bajo condiciones controladas, y en dos especies ícticas, una nativa y otra introducida a Colombia, *Prochilodus magdalenae* (bocachico) y *Oreochromis sp.* (tilapia), respectivamente. Tres lotes de veinte ejemplares de cada especie se expusieron a tres concentraciones subletales de HgCl_2 (0,001; 0,003; 0,027 mg/L) durante siete días, acompañados de un lote control no expuesto. Diariamente se reemplazó el agua y se reajustó la concentración de la sal mercurial. Se tomaron muestras de ambas branquias en dos especímenes de cada lote y en ellas se cuantificó el promedio de MN/1.000 eritrocitos. Los resultados mostraron un claro efecto de dosis y al tiempo de exposición ($p < 0,05$ a $p < 0,0001$). Además, indicaron que la especie nativa (bocachico) es más sensible que la foránea (tilapia) a este genotóxico. Por consiguiente, se

recomienda el uso del bocachico como especie centinela potencial para el biomonitoreo genotóxico de contaminantes ambientales acuáticos, en particular para cuencas en donde habita esta especie o donde predomina este tipo de contaminación.

6. HIPÓTESIS

Los efectos tóxicos del Sulfato Cúprico (CuSO₄) y Cloruro Mercuríco (HgCl₂) en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) bajo estrés alimenticio en laboratorio inciden en la mortalidad de éstos.

7. VARIABLES

Tabla 2. Variables y su operacionalización

CONCEPTUAL	INDICADOR	OPERACIONAL
Variable Independiente		
<p>Contaminantes</p> <p>Sulfato Cúprico (CuSO_4) y Cloruro Mercuríco (HgCl_2)</p>	<p>Afectaciones en órganos externos, piel, ojos, aletas.</p>	<p>Se colocaron 2 tipos de contaminantes a los diferentes tanques para determinar su toxicidad en los organismos prueba.</p>
Variables dependientes		
<p>Sobrevivencia</p> <p>Proporción de los organismos que viven respecto al total de la población.</p>	<p>% sobrevivencia</p>	<p>Se realizó una observación cualitativa y cuantitativa de los organismos afectados y la sobrevivencia de los mismos.</p>
<p>Parámetros físico-químicos</p> <p>Registro de Parámetros del agua.</p>	<p>Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)</p> <p>Oxígeno (mg/L)</p> <p>Potencial de Hidrogeno (pH)</p>	<p>Se registraron diariamente los parámetros físico-químicos del agua utilizando un equipo multiparámetro.</p>

8. DISEÑO METODOLÓGICO

8.1 TIPO DE ESTUDIO

La presente investigación correspondió a un estudio experimental y descriptivo ya que se basó en la observación cualitativa y cuantitativa de los organismos prueba a la toxicidad y resistencia del sulfato cúprico y cloruro mercuríco.

8.2 ÁREA DE ESTUDIO

Este trabajo se realizó en las instalaciones de la escuela de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías de la Universidad Técnica de Manabí extensión Bahía de Caráquez, en la sala experimental de larvicultura (Figura 2).

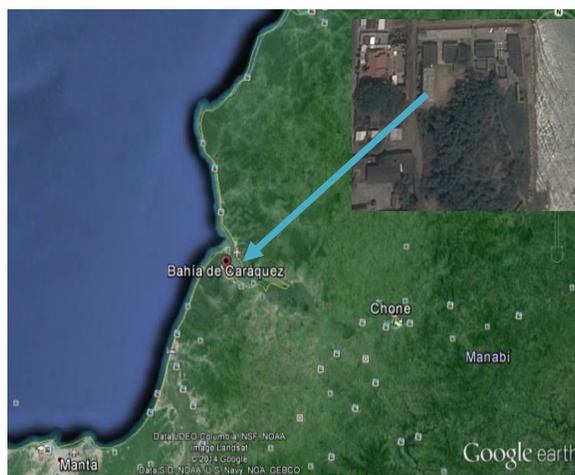


Figura 2. Escuela de Acuicultura y Pesquerías, lugar donde se desarrolló la investigación

8.3 METODOLOGÍA

8.3.1. OBTENCIÓN DE ORGANISMOS

Se obtuvo 500 juveniles de tilapias (*Oreochromis sp.*) procedente de cultivos en el cantón San Vicente, los mismos que fueron trasladados a los laboratorios de cultivo a pequeña escala de la Escuela de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías.

8.3.2. ADAPTACIÓN DE LAS TILAPIAS

En el laboratorio de cultivo, las tilapias se colocaron en tanques de 500 litros de agua para la fase de aclimatación y adaptación. Diariamente durante esta fase correspondiente a 30 días, las tilapias se alimentaron con balanceado (30% de proteína) a una ración correspondiente al 5% de la biomasa total, suspendiendo la alimentación 24 horas antes del inicio del experimento (Fotografía 1).



Fotografía 1. Aclimatación de Tilapias

8.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

En esta investigación el diseño fue completamente al azar (DCA). Noventa y seis peces juveniles de tilapia con peso promedio de $13,24 \pm 5,96$ g y longitud total de $9,26 \pm 1,38$ cm, fueron seleccionados para el experimento, cada pez fue medido con un ictiómetro y pesados en una balanza digital (Ohaus, Scout Pro) para determinar la longitud total (cm) y peso total (g) promedio antes de la experimentación (Fotografía 2).



Fotografía 2. Biometría de las Tilapias

Luego todos los peces fueron aleatoriamente divididos en 8 grupos, se distribuyó 12 tilapias en los 8 tanques circulares con capacidad 100 de litros, con un volumen operable de 50 litros (T0 = 12; T1= 12; T2= 12; T3= 12; T4= 12; T5= 12; T6= 12 y T7= 12) (Fotografía 3). Los diferentes tratamientos establecidos se detallan en la Tabla 3

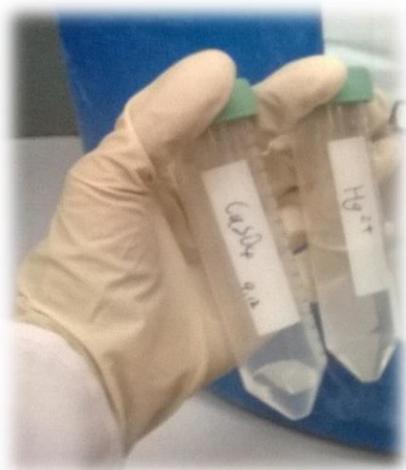
Tabla 3. Tratamientos utilizados en el experimento

N	TRATAMIENTO
T0	Alimentación normal sin tóxico (control)
T1	Alimentación normal + tóxico CuSO_4 (0,01 mg/L)
T2	Alimentación normal + tóxico HgCl_2 (0,005 mg/L)
T3	Alimentación normal + combinación de tóxicos CuSO_4 (0,01 mg/L) y HgCl_2 (0,005 mg/L)
T4	Ayuno sin tóxico
T5	Ayuno + tóxico CuSO_4 (0,01 mg/L)
T6	Ayuno + tóxico HgCl_2 (0,005 mg/L)
T7	Ayuno + combinación de tóxicos CuSO_4 (0,01 mg/L) y HgCl_2 (0,005 mg/L)



Fotografía 3. Tratamientos establecidos

En esta prueba se utilizaron como compuestos químicos experimentales al Sulfato cúprico (CuSO₄) y Cloruro mercúrico (HgCl₂) (Fotografía 4).



Fotografía 4. Tóxicos experimentales

Se implementó un sistema semi-estático con recambio diario del 25% del volumen de agua, desde el inicio de la prueba se aplicó la concentración correspondiente de las sustancias experimentales en cada tanque, CuSO₄ (1 mL) y HgCl₂ (1 mL) de la dilución toxica; manteniéndola por medio de la adición del 25% diaria de la dosis correspondiente (Fotografía 5).



Fotografía 5. Recambio de agua y aplicación de tóxicos

Durante la fase experimental, a los 4 primeros tanques se le adicionó diariamente alimento balanceado con un 30% de proteína, suministrándole al 5% de la biomasa de los animales, en cambio los otros cuatro tanques restantes se los mantuvo solo con las sustancias experimentales sin adición de alimento (Fotografía 6).



Fotografía 6. Alimentación

Por medio de observación directa, se registró durante la exposición de las sustancias el comportamiento de los peces, con especial énfasis en el eje de nado (presente o ausente), patrón de nado (errático, normal) y lesiones corporales (Velasco-Santamaría *et al.*, 2006).

La mortalidad de las tilapias en cada uno de los tratamientos se registró diariamente con el fin de determinar la toxicidad de las sustancias experimentales (Fotografía 7).



Fotografía 7. Tilapias Muertas

La fase experimental tuvo una duración de 11 días tomando como inicio el momento en el cual se adicionó las sustancias experimentales a los diferentes tanques de prueba.

8.5. PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA

Diariamente se tomaron registros de parámetros físicos-químicos del agua de los tanques utilizados en el experimento como temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg/L) y pH utilizando un equipo multiparámetros Thermo Scientific (Fotografía 8).



Fotografía 8. Medición de parámetros físicos-químicos del agua

8.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la evaluación de la toxicidad de los compuestos utilizados se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) de dos vías ($\alpha = 0,05$), en cambio los parámetros de calidad de agua se compararon mediante análisis de varianza de una vía. Las diferencias significativas entre los tratamientos se determinaron por el test de comparaciones múltiples de Tukey ($\alpha = 0,05$).

9. EQUIPOS, MATERIALES Y RECURSOS

9.1. EQUIPOS

- Balanza gramera digital Ohaus Scout Pro 202
- Equipo multiparámetros. Thermo Scientific Orion Star A329
- Microscopio binocular Olympus SP 350
- Cámara fotografica Kodakeasy Share dx 4330, 3,1 Megapixel.
- Computadora Compac Presario CQ43
- Equipo de disección

9.2. MATERIALES

- Juveniles de Tilapia (*Oreochromis sp.*)
- Sulfato Cúprico (CuSO_4)
- Cloruro Mercuríco (HgCl_2)
- Tanques circulares de 100 L
- Mangueras transparentes de 3/16
- Manguera de 2 metros
- Piedras difusora
- Pipeta 1mL
- Balde plástico de 20 L
- Guantes y mascarillas
- Frascos plásticos
- Fundas plásticas.
- Útiles de oficina (esferográficos, lápiz, libreta, hojas A4,calculadora, regla)

9.3. RECURSOS

9.3.1. ECONÓMICOS

Los recursos económicos para la presente investigación fueron financiados en parte a través del proyecto Prometeo y por los investigadores, las instalaciones y los equipos de laboratorio fueron facilitados por la carrera de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías, donde se desarrolló la investigación.

9.3.2. HUMANOS

Los recursos humanos involucrados en la presente investigación fueron: 2 tesisistas y 1 director de tesis, docente de la Carrera de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías.

10. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

10.1 EFECTOS DE LOS TÓXICOS

En la tabla 4 y figura 3, se muestran las lesiones diarias causadas por los contaminantes (Sulfato cúprico y Cloruro mercuríco) en los tratamientos con alimento. Durante los once días del experimento T0 (control) no presento ningún tipo de afectación, el signo clínico que más tubo significancia fue el cambio de coloración en T1 (CuSO₄), T2 (HgCl₂) y T3 (CuSO₄ + HgCl₂). El nado errático y lesiones graves fue mayor en T3 (CuSO₄ + HgCl₂), lesiones leves como laceraciones se presenciaron más en T1 (CuSO₄) (Fotografía 9).

Tabla 4. Afectaciones de los peces en los diferentes tratamientos con alimento

EFECTO DE LOS CONTAMINATES A LOS JUVENILES DE TILAPIA																																												
	Tratamientos con alimento																																											
	DIA 0			DIA 1			DIA 2			DIA 3			DIA 4			DIA 5			DIA 6			DIA 7			DIA 8			DIA 9			DIA 10													
AFECTACIONES	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3				
Nado errático	x	x	x		x	x	x										x	x											x	x														
Lesiones leves																																												
Laceraciones																																												
Lesiones graves																																												
Sin ojo																																												
Sin aleta caudal																																												
Sin aleta pectoral																																												
Cambio de coloración																																												
Coloración palida					x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x	

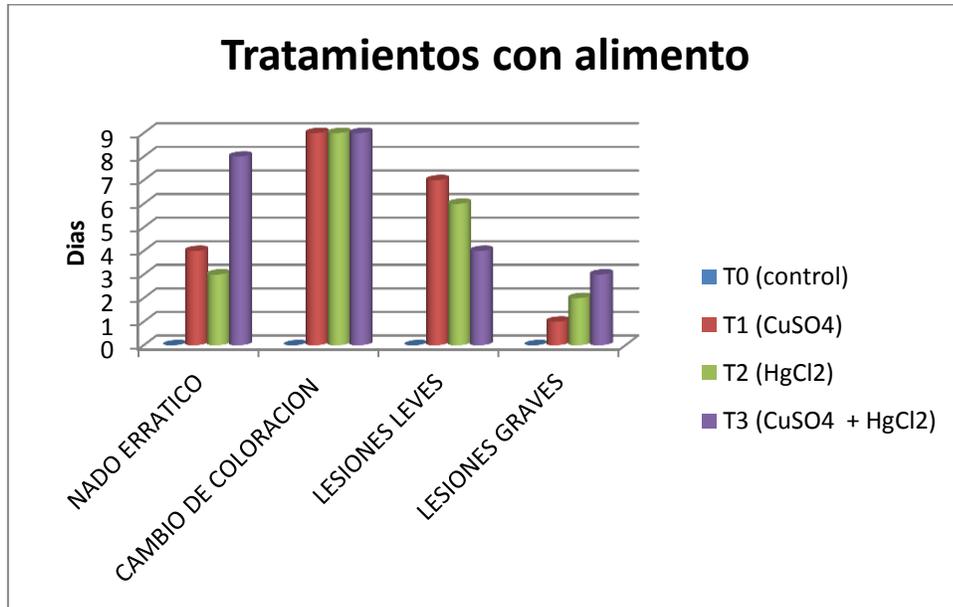


Figura 3. Afectaciones en los tratamientos con alimento



Fotografía 9 . Tilapia con laceración en la piel

En la tabla 5 y figura 4, se muestran las lesiones diarias causadas por los contaminantes (Sulfato cúprico y Cloruro mercuríco) en los tratamientos sin alimento. Durante los once días del experimento T0 (control) no presento ningún tipo de afectación. El signo clínico que más tubo significancia fue el cambio de coloración en T5 (CuSO₄), T6 (HgCl₂) y T7 (CuSO₄ + HgCl₂). Lesiones leves hubo igualdad en los tratamientos con tóxicos. El nado errático y lesiones graves fue mayor en T7 (CuSO₄ + HgCl₂) (Fotografía 10).

Tabla 5. Afectaciones de los peces en los diferentes tratamientos sin alimento

EFECTO DE LOS CONTAMINATES A LOS JUVENILES DE TILAPIA																																				
	Tratamientos sin alimento																																			
	DIA 0		DIA 1		DIA 2		DIA 3		DIA 4		DIA 5		DIA 6		DIA 7		DIA 8		DIA 9		DIA 10															
AFECTACIONES	T4	T5	T6	T7	T4	T5	T6	T7	T4	T5	T6	T7	T4	T5	T6	T7	T4	T5	T6	T7	T4	T5	T6	T7	T4	T5	T6	T7	T4	T5	T6	T7				
Nado errático	x		x		x	x	x				x				x	x	x				x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x		
Lesiones leves																																				
Laceraciones																																				
Lesiones graves																																				
Sin ojo																																				
Sin aleta caudal																																				
Sin aleta pectoral																																				
Cambio de coloración																																				
Coloración palida					x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x		x	x	x	

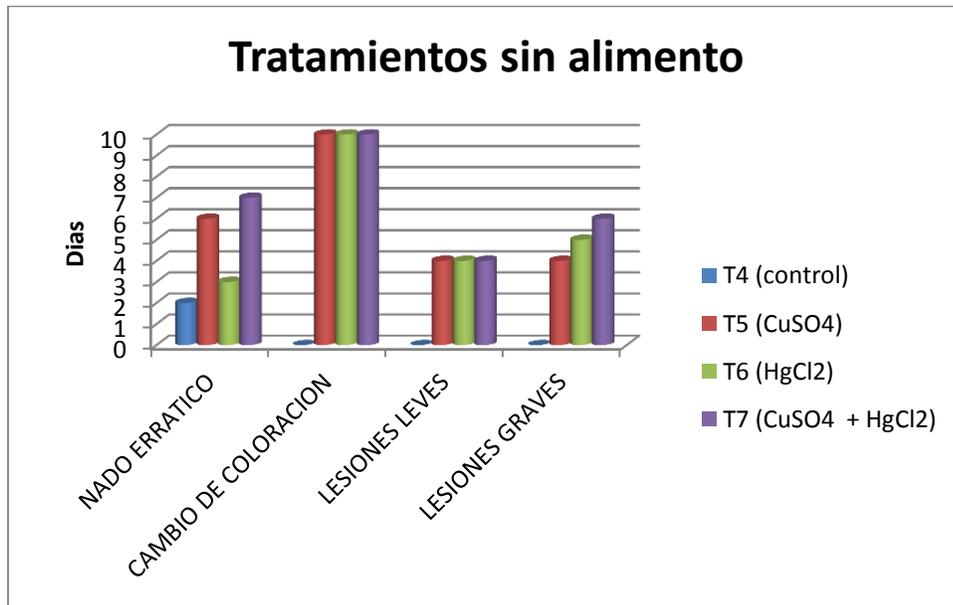


Figura 4. Afectaciones en los tratamientos sin alimento



Fotografía 10. Canibalismo en los tratamientos

10.2 SOBREVIVENCIA

En la Tabla 6 y Figura 5, se aprecia el porcentaje de sobrevivencia final de los organismos prueba, comparando los tratamientos (con Alimento y sin alimento), se puede observar en los tratamientos de control que hubo mayor sobrevivencia: T0 = 75% y T4 = 75% en relación con los otros tratamientos en los que se les adiciono los tóxicos hubo mayor sobrevivencia en los tanques que no se estaba agregando alimento T5 = 66,67% y T6= 58,33%, mientras en los tanques que se adiciono alimento la sobrevivencia fue menor T1= 50% y T2= 50%; en los tratamientos de tóxicos combinados la sobrevivencia fue menor en el T3 = 33,33% (tóxicos + alimento), mientras que en la T7 (tóxicos + ayuno) la sobrevivencia fue del 25%.

Tabla 6. Sobrevivencia de los peces en los diferentes tratamientos en el experimento

DIAS	CON ALIMENTO 30 %				SIN ALIMENTO			
	T0 (control)	T1(CuSO4)	T2(HgCl2)	T3 (CuSO4 + HgCl2)	T4(control)	T5(CuSO4)	T6(HgCl2)	T7 (CuSO4 + HgCl2)
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	58,33
2	100,00	91,67	83,33	83,33	91,67	100,00	91,67	41,67
3	91,67	75,00	66,67	66,67	91,67	100,00	91,67	41,67
4	91,67	75,00	58,33	33,33	83,33	75,00	75,00	33,33
5	91,67	75,00	58,33	33,33	83,33	75,00	75,00	25,00
6	91,67	75,00	58,33	33,33	83,33	75,00	75,00	25,00
7	91,67	58,33	58,33	33,33	83,33	75,00	75,00	25,00
8	83,33	58,33	58,33	33,33	83,33	75,00	75,00	25,00
9	75,00	50,00	58,33	33,33	75,00	75,00	58,33	25,00
10	75,00	50,00	50,00	33,33	75,00	66,67	58,33	25,00

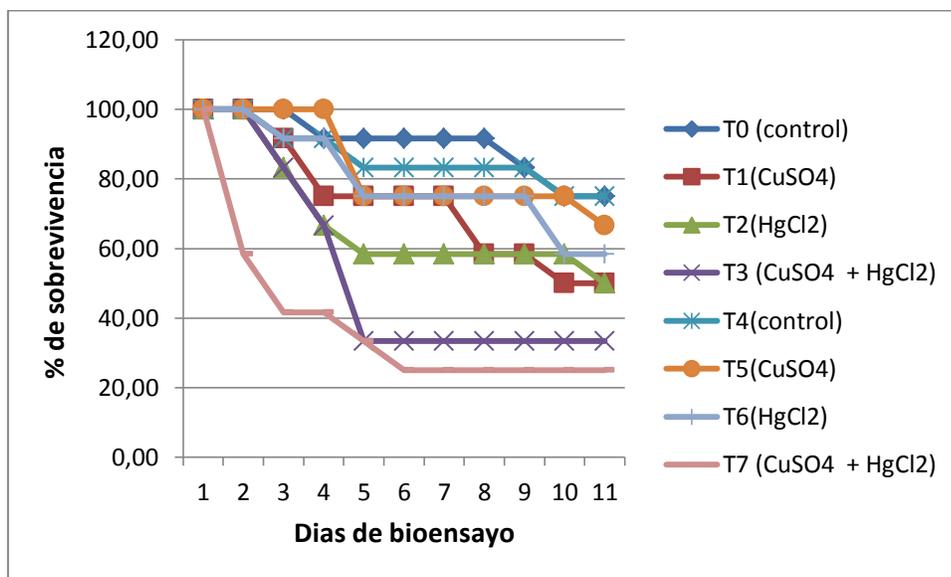


Figura 5. Porcentaje de sobrevivencia en los diferentes tratamientos

El análisis de varianza (ANOVA) ($\alpha = 0,05$) muestra las diferencias significativa en las agrupaciones. Con un intervalo de confianza de 95% refleja que entre el control, el CuSO_4 y HgCl_2 , hay igualdad en las agrupaciones, mientras que $\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$ con una media de 45,8333 muestra un diferencia entre los demás tratamientos.

Tabla 7. Análisis ANOVA de dos factores entre la mortalidad , toxico y alimento

ANOVA de dos factores: MORTALIDAD vs. TOXICO. ALIMENTO

Fuente	GL	SC	CM	F	P
TOXICO	3	4,2657	1,42192	10,55	0,000
ALIMENTO	1	0,0029	0,00295	0,02	0,883
Interacción	3	0,6545	0,21816	1,62	0,192
Error	80	10,7818	0,13477		
Total	87	15,7050			

S = 0,3671 R-cuad. = 31,35% R-cuad. (ajustado) = 25,34%

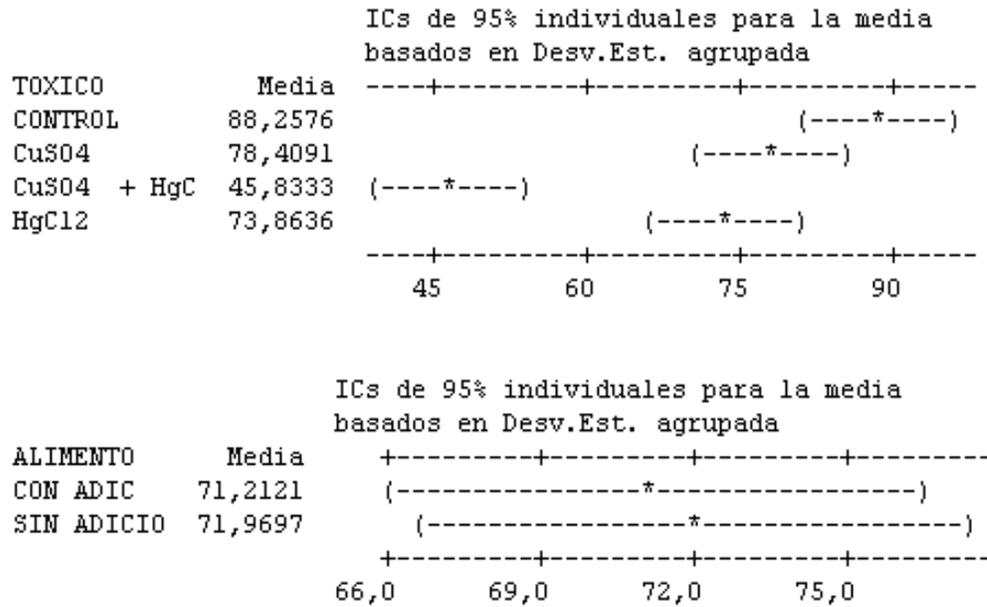


Figura 6. Analisis de varianza (ANOVA)

En la figura 7, se presenta el porcentaje de sobrevivencia de los juveniles de tilapias ante estos compuestos químicos; Valorándose la individualidad de los tratamientos ya que el alimento no interacciona en los resultados de sobrevivencia. La grafica de caja de mortalidad demuestra que estos compuestos químicos unidos son altamente tóxicos.

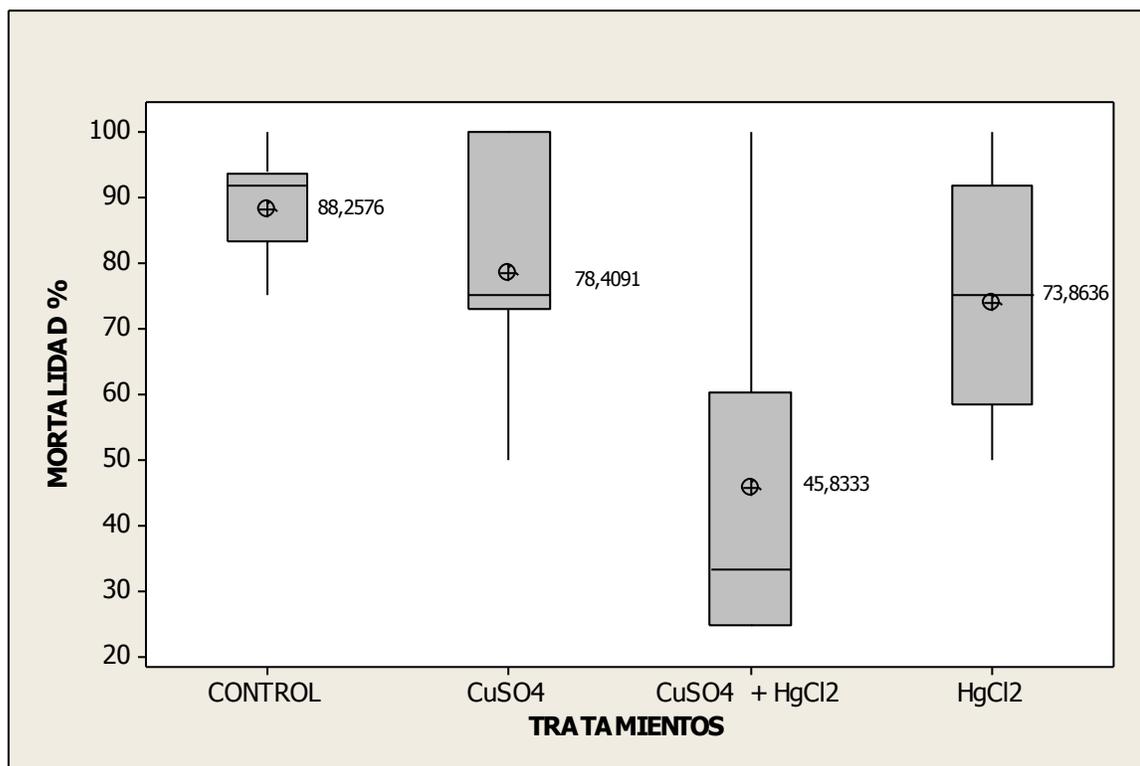


Figura 7. Caja de mortalidad representando porcentaje de sobrevivencia.

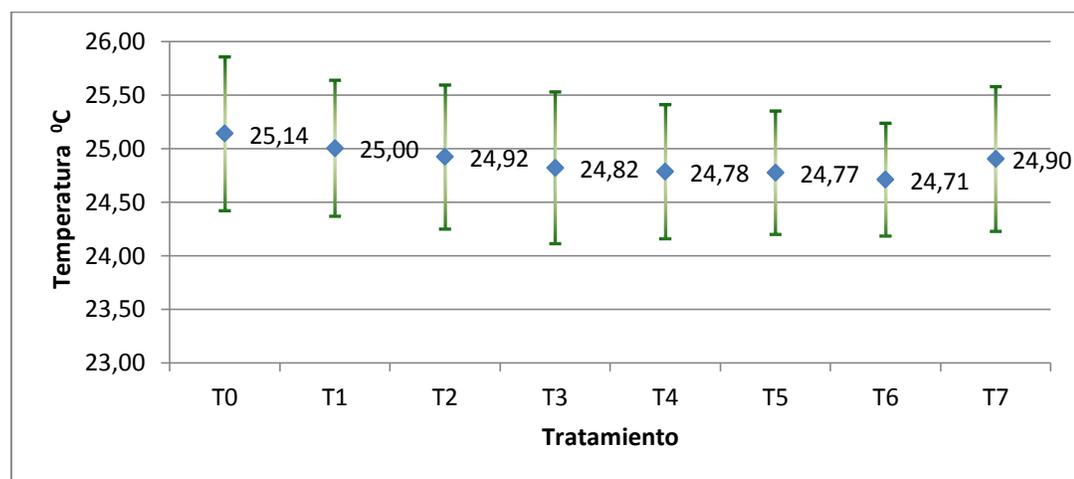
10.3 PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS DE LOS TRATAMIENTOS DEL BIOENSAYO TOXICOLÓGICO

En la Tabla 8, Figura 8, 9 y 10 se aprecian los valores promedios de temperatura, oxígeno y pH de los diferentes tanques. El análisis de varianza (ANOVA) ($\alpha = 0,05$) muestra que en los parámetros de calidad de agua no se evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos. Estos parámetros estuvieron dentro del rango de confort descrito para la especie (Temperatura $24,88 \pm 0,14$; Oxígeno $7,13 \pm 0,24$ mg/L y pH $7,24 \pm 0,16$).

Tabla 8. Promedio de parámetros físico químicos de los diferentes tratamientos

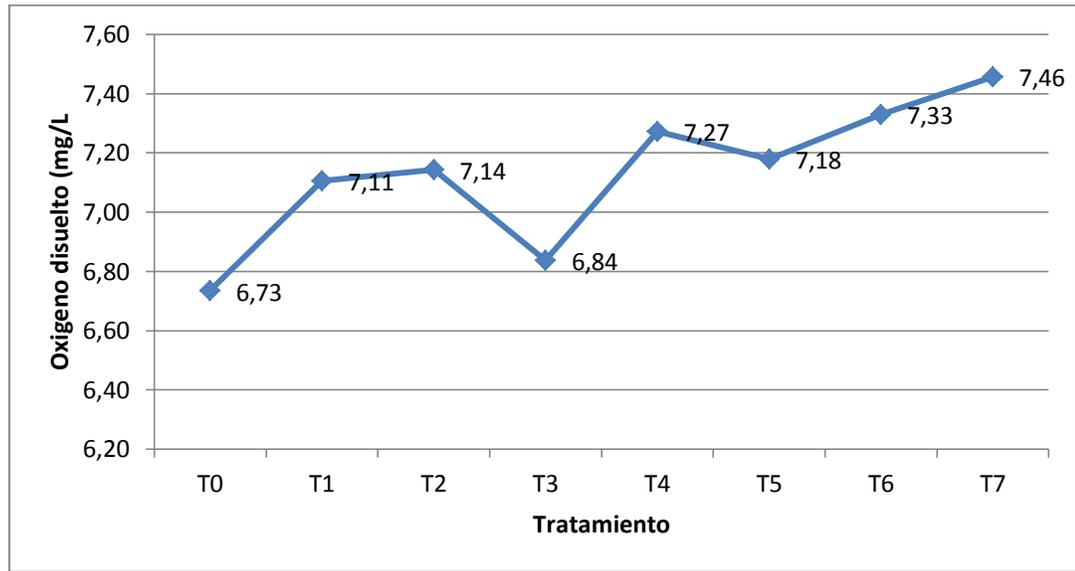
PROMEDIO \pm D.S					
	TRATAMIENTOS	# TANQUES	TEMPERATURA	OXIGENO	pH
Con alimento	Control	0	25,14 \pm 0,72 A	6,73 \pm 1,05 A	7,05 \pm 0,44 A
	CuSO_4	1	25 \pm 0,63 A	7,11 \pm 0,38 A	7,18 \pm 0,41 A
	HgCl_2	2	24,92 \pm 0,67 A	7,14 \pm 0,36 A	7,09 \pm 0,51 A
Sin alimento	$\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$	3	24,82 \pm 0,71 A	6,84 \pm 0,71 A	7,19 \pm 0,21 A
	Control	4	24,78 \pm 0,63 A	7,27 \pm 0,93 A	7,39 \pm 0,38 A
	CuSO_4	5	24,77 \pm 0,58 A	7,18 \pm 0,5 A	7,15 \pm 0,53 A
	HgCl_2	6	24,71 \pm 0,53 A	7,33 \pm 0,47 A	7,44 \pm 0,25 A
	$\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$	7	24,9 \pm 0,68 A	7,46 \pm 0,44 A	7,45 \pm 0,29 A

- ❖ Los datos son expresados como promedio \pm desviación estándar. Las letras iguales no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$)



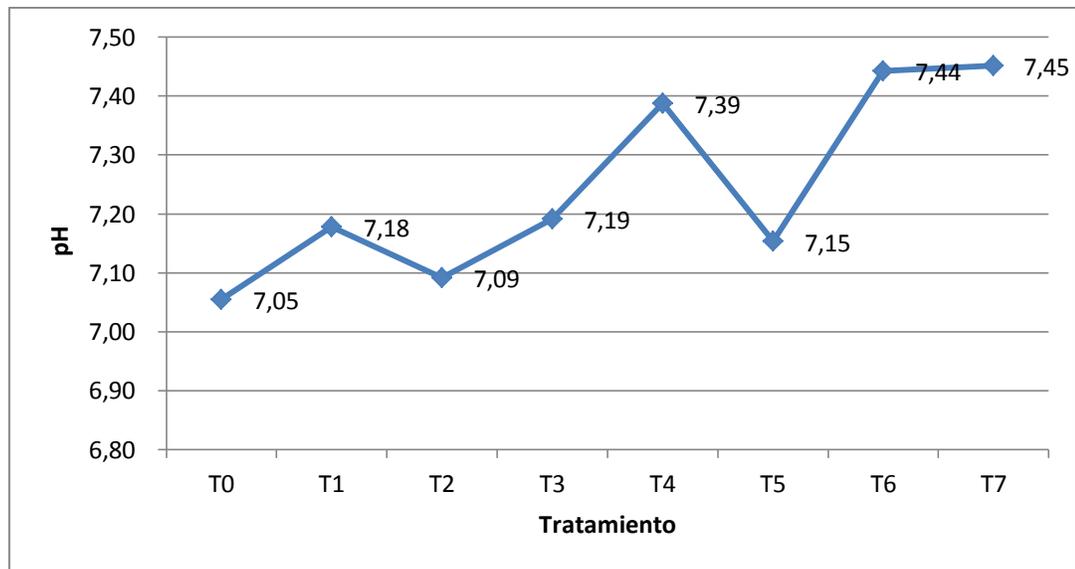
Con alimento				Sin alimento			
T0	T1	T2	T3	T4	t5	T6	T7
Control	CuSO_4	HgCl_2	$\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$	Control	CuSO_4	HgCl_2	$\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$

Figura 8. Promedio de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) del agua en los diferentes tratamientos



Con alimento				Sin alimento			
T0	T1	T2	T3	T4	t5	T6	T7
Control	CuSO_4	HgCl_2	$\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$	Control	CuSO_4	HgCl_2	$\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$

Figura 9. Promedio de oxígeno disuelto (mg/L) del agua en los diferentes tratamientos.



Con alimento				Sin alimento			
T0	T1	T2	T3	T4	t5	T6	T7
Control	CuSO_4	HgCl_2	$\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$	Control	CuSO_4	HgCl_2	$\text{CuSO}_4 + \text{HgCl}_2$

Figura 10. Promedio de pH del agua en los diferentes tratamientos.

11. DISCUSIÓN

Los metales pesados han sido el foco de muchos estudios con gran preocupación en la salud ambiental. El mercurio (Hg²⁺) es uno de los metales más tóxicos y la acuicultura es vulnerable a la exposición de este químico. Una de las consecuencia a la exposición de este tóxico es que los peces sufre inhibición del metabolismo, cambios hematológicos, e incluso disminución en la supervivencia y la reproducción (Huang *et al.* 2015).

Una cualidad común de las tilapias frente a los tóxicos fue la presencia de una mayor secreción de moco, debido al posible efecto irritante del cobre y mercurio, siendo este una respuesta adaptativa para la protección mecánica de la superficie del pez (Naranjo *et al.*, 2013). Esta respuesta ha sido descrita en la exposición a otros contaminantes, así como parásitos y bacterias, sin embargo, el incremento o disminución también depende de cambios en la calidad del agua (Balasubramanian *et al.*, 2012; Esteban 2012, Ferguson 2006).

Además los datos obtenidos demuestran que la tilapia presenta sensibilidad frente a estos químicos y sirve como bioindicador de toxicidad por contaminación por cobre Cu y mercurio Hg (Zelikoff *et al.*, 2000). El cobre y el mercurio pueden representar un alto riesgo para el medio ambiente debido a su alta toxicidad para las poblaciones de peces y otros animales de vida acuática (Aduayom *et al.*, 2005; Das *et al.*, 2008; Day *et al.*, 2007;

Monteiro *et al.*, 2010; Pellissó *et al.*, 2008; Sheir *et al.*, 2010), además de perjudicar a comunidades adyacentes que tengan como fuente de alimento y de ingresos la actividad piscícola (Dorea *et al.*, 1998, Fillion *et al.*, 2006, kempuraj *et al.*, 2010, Schober *et al.*, 2003, Schwenk *et al.*, 2009; Naranjo *et al.*, 2013).

En los parámetros fisicoquímicos del agua medidos bajo condiciones de laboratorio no se evidenciaron diferencias significativas durante la etapa de experimentación ($p < 0,05$), probablemente por el sistema semi-estático que se utilizó con recambio de agua diario del 25%. De este modo, las variaciones leves en la temperatura, pH y el oxígeno disuelto durante las horas de la prueba estuvieron dentro de los rangos tolerables para la tilapia, y posiblemente no fueron los causantes de la mortalidad observada en los diferentes tratamientos, aunque no se debe descartar que su interacción en el medio y con los químicos utilizados puedan incrementar su toxicidad (Triana *et al.*, 2013).

12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

12.1 CONCLUSIONES

- Tanto en los tratamientos con o sin alimentación, desde los primeros días mostraron lesiones causadas por los contaminantes sulfato cúprico y cloruro mercuríco, presentando nado errático con coloración blanquecina en el cuerpo, lesiones leves como laceración, lesiones graves como organismos sin ojos, sin aletas caudales y pectorales por canibalismo.
- La tilapia pese a ser una especie resistente a los cambios ambientales y otros factores, se vio afectada por la introducción de los compuestos tóxicos como cloruro mercuríco y sulfato cúprico, siendo el cloruro mercuríco más toxico y la combinación de ambos más letal de acuerdo a los resultados obtenidos.
- El alimento no tubo interacción en la presentación de afectaciones y mortalidad.
- Los parámetros físico-químicos del agua: pH, oxígeno disuelto y temperatura no presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Además de encontrarse dentro del rango descrito para esta especie, por tanto las variables no influyeron en la presentación de las lesiones y mortalidad.

12.2 RECOMENDACIONES

- Al estar en contacto estos metales con la acuicultura, y esta ser producto de alto valor para el consumo humano, se recomienda realizar estudios que permitan conocer el grado de toxicidad a nivel muscular vinculándose el tema de salud humana.
- Diseñar experimentos toxicológicos con diferentes alimentos y dosis para conocer los niveles de tolerancias.
- Probar temperaturas más cálidas o frías, pH alcalinos o ácidos, para conocer si los efectos de estos químicos se potencializan o disminuyen.
- Realizar experimentos toxicológicos con otras especies utilizadas en acuicultura y probar metales pesados que se encuentran en el ambiente ya que son los principales contaminantes en los ecosistemas acuáticos.

13. PRESUPUESTO

DENOMINACIÓN	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO USD	VALOR TOTAL USD
COMPUTADORA	1	\$ 700,00	\$ 700,00
CÁMARA DIGITAL	1	\$ 250,00	\$ 250,00
JUVENILES DE TILAPIA	500	\$ 0,06	\$ 30,00
CONTAMINANTES	2	\$ 10,00	\$ 20,00
TANQUES CIRCULARES DE 60 L	10	\$ 10,0	\$ 100,00
MANGUERAS AIREADORAS	10	\$ 0,50	\$ 5,00
MANGUERA DE 2 METROS	1	\$ 2,0	\$ 2,00
PIEDRAS DIFUSORA	10	\$ 1,0	\$ 10,00
BALDE PLÁSTICO DE 20 LITROS	2	\$ 2,0	\$ 4,00
CAJA DE GUANTES	1	\$ 4,0	\$ 4,00
CAJA DE MASCARILLA	1	\$ 4,0	\$ 4,00
FUNDAS PLÁSTICAS	50	\$ 1,0	\$ 1,00
FRASCOS PLÁSTICOS	10	\$ 2,0	\$ 20,0
EQUIPO DE DISECCIÓN	1	\$ 10,0	\$ 10,00
ÚTILES DE OFICINA			
PAPEL BOND REMAS	2	\$ 6,0	\$ 12,0
LÁPICES Y LAPICEROS	15	\$ 0,30	\$ 4,50
MARCADOR BORRABLE	4	\$ 1,0	\$ 4,0
CAPETAS	10	\$ 0,40	\$ 4,0
LIBRETAS	2	\$ 1,20	\$ 4,80
CORRECTOR	2	\$ 0,75	\$ 1,5
CALCULADORA	1	\$ 15,0	\$ 15,0
REGLA	1	\$ 0,50	\$ 0,50
FLASH MEMORY	1	\$ 14,0	\$ 14,0
CD	7	\$ 0,5	\$ 3,50
IMPRESIONES	700	\$ 0,15	\$ 105,0
COPIAS	400	\$ 0,03	\$ 12,0
ENCUADERNADOS Y EMPASTADOS	7	\$ 30,0	\$ 210

HORAS DE INTERNET	150	\$ 1,00	\$ 150,0
IMPREVISTOS	2	\$ 200,0	\$ 400,0
Total			\$ 2.100,80

14. CRONOGRAMA

Actividades	Meses 2015- 2016																																			
	Junio				Julio				Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.Búsqueda Bibliografica	■	■	■	■																																
2.Redacción del anteproyecto	■	■	■																																	
3.Presentación del Anteproyecto			■																																	
4.Aprobación de anteproyecto							■																													
5.Inicio del experimento									■	■	■	■	■	■	■	■																				
6.Procesamientos de datos													■	■	■	■																				
7.Análisis de datos y resultados																	■	■	■	■	■	■	■	■												
8.Revisión del director de tesis																					■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■				
9.Sustentación de tesis																																				■

15. BIBLIOGRAFÍA

- Aduayom, I., Denizeau, F. and Jumarie, C. 2005. Multiple effects of mercury on cell volume regulation, plasma membrane permeability, and thiol content in the human intestinal cell line Caco-2. *Cell biology and Toxicology*, 21(34), 163-179.
- Al-Sabti, K. y Metcalfe, C. 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutation Research*, 343: 121-135.
- Apha, Awwa y Wpcf. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20. ed. In: APHA. American Public Health Association; AWWA. American Water Works Association; WPCF. Water Pollution Control Federation (Ed.). Washington, DC. 140 p (Capítulo 8)
- Appleton J., Williams, T., Orbea, H. y Carrasco, M. 2001. Fluvial contamination associated with artisanal gold mining in the Ponce Enríquez, Protovelo-Zaruma and Nambija areas, Ecuador. *Water, Air and Soil Pollution*, 131(1-4), 19-39.
- Balasubramanian, S., Baby, R.P., Arul, P.A., Prakash, M., Senthilraja, P. and Gunasekaran, G. 2012. Antimicrobial properties of skin mucus from four freshwater cultivable fishes (*Catla catla*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Labeo rohita* and *Ctenopharyngodon idella*). *African Journal of Microbiology Research*, 6(24), 5110-5120.
- Bilinski, H., Kwokal, Z., Plavsic, M., Wrischer, M. and Branica, M. 1999. Mercury distribution in the water column of the stratified Krka river estuary (Croatia)

- importance of natural organic matter and of strong winds. *Water Research*, 34(7): 2001-2010.
- Carvalho, C. and Fernandes, M. 2008. Effect of copper on liver key enzymes of anaerobic glucose metabolism from freshwater tropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 151(3): 437– 442.
- Castillo, L. 2000. La tilapia roja en Colombia y Ecuador: Un éxito de la empresa privada. *Panorama Acuícola*, 5:20-21
- Castillo, L. y Campos, F. 2000. La historia genética e hibridación de la tilapia roja. Castillo *Ed. Imp. Ideal*. Colombia 235 pp.
- Cerqueira, C. and Fernandes, M. 2002. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 52(2): 83-91.
- Claxton, L. 1998. Genotoxicity of industrial wastes and effluents. *Mutation Research* 410(3):237-243.
- Conroy, G. 2004. Importantes enfermedades detectadas en tilapias cultivadas en América Latina. *Panorama Acuícola Magazine*, 6(9):20-25.
- Corpei. 2004. Programa de Diversificación de la Oferta Exportable “Nuevos Productos de Exportación” Tomo I, pág 137.
- Cossa, D. 1995. ¿Cuánto mercurio ingerimos a diario? *Mundo Científico*, 222:84-89.

- Day, R.D., Segars, AIL, Arendt, M.D., Lee, A.M. and Peden-Adams, M.M. 2007. Relationship of blood mercury levels to health parameters in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Environmental Health Perspectives*, 115(10), 1421-1428.
- Das, K., Siebert, U., Gillet, A., Dupont, A., Di-Poï, C., Fonfara, S., Mazzucchelli, G., De Pauw, E., and De Pauw-Gillet, M.C. 2008. Mercury immune toxicity in harbour seals: links to in vitro toxicity. *Environmental Health*, 7(52), 1-17.
- Dorea, J.G., Moreira, B.M., East, G. and Barbosa, A.C. 1998. Selenium and mercury concentrations in some fish species of the Madeira River, Amazon Basin, Brazil. *Biological Trace Element Research*, 65: 211-220.
- Esteban, M.A. 2012. An overview of the immunological defenses in fish skin. ISRN Immunology (International Scholarly Research Network Immunology), 2012: 1-29.
- Ferguson, H.W. 2006. Systemic pathology of fish. 2th ed. London: Scotian Press. p. 366.
- Fillion, M., Mergler, D., Passos, C.J.S., Larribe, F., Lemire, M. and Guimarães, J.R.D. 2006. A preliminary study of mercury exposure and blood pressure in the Brazilian Amazon. *Environmental Health*, 5: 29.
- Geier, D.A., King, P.G., Sykes, L.k, y Geier, M.R. 2008. A comprehensive review of mercury provoked autism. *The Indian Journal of Medical Research*, 128(4), 383-411.
- Heath, A. 1991. Effect of waterborne copper on physiological responses of bluegill (*Lepomis macrochirus*) to acute hypoxic stress and subsequent recovery. *Comparative Biochemistry Physiology C*, 100(3): 559-564.

- Hirt, L.M. y Domitrovic, H.A. 2002. Toxicidad y respuesta histopatológica en *Cichlasoma dimerus* (Pisces, Cichlidae) expuestos a bicloruro de mercurio en ensayos agudos y subletales. *Revista Ictiología*, 10(1/2), 37-52.
- Huang, Q., Vera-Delgado, J., Seni-Pinoargote, O. and Avellan-Llaguno, R. 2015. Molecular evolution of the Slc15 family and its response to waterborne copper and mercury exposure in tilapia. *Aquatic Toxicology* 163: 140-147.
- Ishikawa, N.M., Tavares, M.J. y Lombardi, J.V. 2007. Acutetotoxicity of mercury (HgCl_2) to Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Boletim do Instituto de Pesca*, 33(1), 99-104.
- Jones, j.r.e. 1973. Fish and river pollution. Butterworth & co. (publishers), London: 203 p.
- Kempuraj, D., Asadi, S., Zhang, B., Manola, A., Hogan, J., Peterson, E. and Theoharides, T.C. 2010. Mercury induces inflammatory mediator release from human mast cells. *Journal of Neuroinflammation*, 7: 20.
- Kilgour, B., Munkittrick, K., Portt, C., Hedley, K., Culp, J., Dixit, S. and Pastershank, G. 2005. Biological Criteria for Municipal Wastewater Effluent Monitoring Programs. *Water Quality Research Journal of Canada*, 40(3): 374-387.
- Klaassen, C. and Doull, J. 1975. In "Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. Second Edition. Ed. McMillan Pb.
- Larrain, A. 1995. Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: Importancia de los Bioensayos de Toxicidad. *Revista Ciencia y Tecnología del Mar. Cona (Nº Especial):*39-47.
- Leyva R. and Luszczewski, A. 1998. El mercurio en el medio ambiente. *Ingeniería Química* 30(344):179-183.

- Lloyd, R. 1992. Pollution and freshwater fish. Fishing News Books; Cambridge, MA: Distributor, Blackwell Scientific Publications, Oxford; Cambridge, MA, USA. 176 p.
- López, B. y Cruz, L. 2011. Elaboración de un prebiótico a base de microorganismos nativos y evaluación de su efecto benéfico al proceso digestivo de la tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en etapa de engorde en la zona de santo domingo. Ecuador. Tesis de Grado. Escuela Politécnica del Ejército, Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias. Santo Domingo, Ecuador. 109 p.
- Lozano, A. 2000. Determinación de parámetros hematológicos y toxicológicos en juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) expuestos a diferentes concentraciones de sulfato de cobre. Tesis de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 122 pp.
- Lozano, D. y López, F. 2001. Manual de piscicultura de la región amazónica Ecuatoriana. Mossaico. Quito, Ecuador. 151 p.
- Lu, X. and Jaffe, R. 2000. Interaction between Hg (II) and natural dissolved organic matter: a fluorescence spectroscopy based study. *Water Research*, 35(7):1793-1803.
- MacGregor, J., Casciano, D. and Müller, L. 2000. Strategies and testing methods for identifying mutagenic risks. *Mutation research*, 455(1-2):3-20.
- Mancera-Rodríguez, N.J. y Álvarez-León, R. 2006. Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta biológica Colombiana*, 11(1), 3-23.

- Marchetti, R. 1960. I criteri biologici per l'acettabilita di aeque di scanico industrialia in acque pubbliche. Atti del Convegno sulle acque di scanico industriale. Milano 47. pp: 123-241.
- Marr, J., Hansen, J., Meyer, J., Cacela, D., Podrabsky, T., Lipton, J. and Bergman, H. 1998. Toxicity of cobalt and copper to rainbow trout: application of a mechanistic model for predicting survival. *Aquatic Toxicology*, 43(4): 225-238.
- Matsuo, A., Wood, C. and Val, A. 2005. Effects of copper and cadmium on ion transport and gill metal binding in the Amazonian teleost tambaqui (*Colossoma macropomum*) in extremely soft water. *Aquatic Toxicology*, 74(4): 351-364.
- Mazon, A., Cerqueira, C. and Fernandes, M. 2002. Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical freshwater Fish *Prochilodus scrofa*. *Environmental Research*, 88(1): 52-63.
- Monteiro, D.A., Rantin, F.T. and Kalinin, A.L. 2010. Inorganic mercury exposure: toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical freshwater fish matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829). *Ecotoxicology*, 19(1), 105-123.
- Moriarty, D. 1999. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology, pp 237–243. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada.
- Muñoz-Escobar, E.M y Palacio-Baena, J.A. 2010. Efectos del cloruro de mercurio (HgCl_2) sobre la sobrevivencia y crecimiento de renacuajos de *Dendrosophus bogerti*. *Actualidades biológicas*, 32(93), 189-197.

- Naranjo-Gómez, J., Vargas-Rojas, L. y Rondón-Barragán, I. 2013. Toxicidad Aguda de Cloruro de Mercurio (HgCl_2) en Cachama Blanca, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818). *Actual Biol* 35(98), 85
- Odeigah, P. and Osanyinpeju, A. 1995. Genotoxic effect of two industrial effluents and ethyl methane sulfonate in *Clarias lazera*. *Food Chem Toxicol*, 33(6):501-505.
- Orozco, J. y A. Toro 2007. Determinación de la concentración letal media (CL5048) del cromo y el cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Universidad de la Salle, Facultad de ingeniería ambiental y sanitaria. Bogotá D.C. pág. 21. F.
- Panda, K., Lenka, M. and Panda, B. 1989. Allium micronucleus (MNC) assay to assess bioavailability, bioconcentration and genotoxicity of mercury from solid waste deposits of a chloralkali plant, and antagonism of L-cysteine. *Sci Total Environ* 79(1):25-36.
- Pellissó, S.C., Muñoz, M.J., Carballo, M. y Sánchez-Vizcaíno, J.M. 2008. Determination of the immunotoxic potential of heavy metals on the functional activity of bottlenose dolphin leukocytes in vitro. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 121(3-4), 189-198.
- Peñaloza, M., Camargo, M. y Palacio, J. 2003. Genotoxicidad del cloruro de mercurio en dos especies icticas (*Prochilodus magdalenae* y *Oreochromis sp.*). *Actual Biol.*, 25(79):105-111.
- Rai, A. N, Ullah, A., y Haider, J. 2015. Determination of Acute Toxicity of Copper and Cobalt for *Tilapia nilotica*, *Journal of Bioresource Management*, 2 (1).

- Rajeshkumar, S. and Munuswamy, N. 2011. Impact of metals on histopathology and expression of HSP 70 in different tissues of Milk fish (*Chanos chanos*) of Kaattuppalli Island, South East Coast, India. *Chemosphere*, 83(4): 415–421.
- 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 Grado. Universidad Técnica de Machala, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Ingeniería Acuícola. 53 p.
- Ronco, A., Díaz-Báez, M. y Pica-Granados, Y. 2004. Conceptos generales. In Castillo-Morales, G. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Gabriela Castillo (ed.). 1era edición. México: IMTA. 189 p.
- Saavedra, M. 2006. Manejo del cultivo de la tilapia. Managua, Nicaragua. 24 p.
- Sánchez-Galán, S., Linde, A., Izquierdo, J. and García-Vásquez, E. 1998. Micronuclei and fluctuating asymmetry in brown trout (*Salmo trutta*): complementary methods to biomonitor freshwater ecosystems. *Mutation Research*, 412(3):219-225.
- Schober, S.E., Sinks, T.H., Jones, R.L., Bolger, P.M., McDowell, M., Osterloh, J., Garrett, E.S., Canady, R.A., Dillon, C.F., Sun, Y., Joseph, C.B. and Mahaffey, K.R. 2003. blood mercury levels in uS children and women of childbearing age, 1999-2000. *The Journal of the American Medical Association*, 289(13), 1667-1674.
- Schwenk, M., Klein, R. and Templeton, D.M. 2009. Immunological effects of mercury (IUPAC Technical report). *International union of Pure and Applied Chemistry*, 81(1), 153-167.

- Sheir, S.k., Handy, R.D. y Galloway, T.S. 2010. Tissue injury and cellular immune responses to mercuric chloride exposure in the common mussel *Mytilus edulis*: modulation by lipopolysaccharide. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(6), 1338-1344.
- Straus, D. 2003. The acute toxicity of copper to blue tilapia in dilutions of settled pond water. *Aquaculture*, 219: 233-240.
- Stary, J., Kratzer, K., Havlik, B., Prasilova, J. and Hanusova, J. 1980. The cumulation of methylmercury in fish (*Poecilia reticulata*). *International Journal Environmental Analytical Chemistry*, 8(3):189-195.
- Toledo, S. 2005. Cultivo de Tilapia. Experiencia en Cuba. Habana (Cuba). 25 pp.
- Triana, T., Montes, C. y Bernal, M. 2013. Efectos letales y subletales del glifosato (Roundup® activo) en embriones de anuros colombianos. *Acta biol. Colomb.*, 18(2):271-278
- Vargas, V., Migliavacca, S., de Melo, A., Horn, R., Guidobono, R., de Sá Ferreira, I. and Pestana, M. 2001. Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. *Mutation Research* 490(2):141-158.
- Velasco-Santamaría, Y., Gómez-Manrique, W. y Calderón-Bernal, J. 2006. Toxicidad aguda del sulfato de cobre (CuSO_4) en alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) bajo condiciones de agua blanda. *Orinoquia*, 10(1): 64-70.

- Waalkes, M., Fox, D., States, J., Patierno, S. and McCabe, M. 2000. Metals and disorders of cell accumulation: modulation of apoptosis and cell proliferation. *Toxicological Sciences*, 56(2):255-261.
- Wilson, R. and Taylor, E. 1993. The physiological responses of freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, during acutely lethal copper exposure. *Journal of Comparative Physiology B*, 163(1): 38-47.
- Yordan, A. 2008. Tilapia características. Cuba.
- Zelikoff, j.t., bowser, d., squibb, k.s. & frenkel, k. 1995. Immunotoxicity of low level cadmium exposure in fish: an alternative animal model for immunotoxicological studies. *J. Toxicol. Environm. Health* 45, 235-248.
- Zelikoff, J.T., Raymond, A., Carlson, E., Li, Y., Beaman, J.R. y Anderson, M. 2000. Biomarkers of immunotoxicity in fish: from the lab to the ocean. *Toxicology Letters*, 112-113, 325-331.

ANEXO

ANEXO 1. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Aclimatación (biológica). Procesos que incluyen selección y/o adaptación, por el cual una población o un individuo desarrollan tolerancia a un cambio ambiental o a una sustancia, o adquiere capacidad para degradarla.

Absorción. Proceso de transferencia de nutrientes a través de la membrana celular. También introducción o disminución de una sustancia a través de otra.

Agente químico. Elemento, sustancia o compuesto químico, natural o sintético, presente en cualquier situación de exposición.

Algucida. Sustancia que destruye las algas. t. rel. herbicida, plaguicida.

Asfixia. Situación resultante de insuficiente absorción de oxígeno, los síntomas incluyen dificultad respiratoria, trastornos de los sentidos y, finalmente convulsiones, inconciencia y muerte.

Bioacumulación. Capacidad de un organismo para acumular en sus tejidos algún compuesto químico

Biocenosis. Una biocenosis (también llamada comunidad biótica, ecológica) es el conjunto de organismos de todas las especies que coexisten en un espacio definido llamado biotopo, que ofrece las condiciones ambientales necesarias para su supervivencia.

Bioconcentración. Capacidad de algunos organismos de concentrar niveles crecientes de un tóxico sin que esto les ocasione un daño evidente. Esta característica es típica de muchos organismos acuáticos. Por ella, magnifican el problema y ponen al tóxico en situación de disponibilidad para el resto de la cadena trófica, en el curso de la cual el proceso de concentración continúa.

Bioensayo. Proceso experimental mediante el cual se determinan las características y la fuerza de una sustancia potencialmente tóxica o de un desecho metabolito, a través del estudio de sus efectos sobre organismos cuidadosamente escogidos y bajo condiciones específicas de laboratorio.

CL₅₀ (Concentración letal media) Concentración en la que un contaminante causa la muerte del 50 % de los organismos en exposición con el mismo.

Contaminación. Presencia en el ambiente de uno o más contaminantes, o de cualquier combinación de los mismos, que excediendo los límites tolerables, cause daños a la vida o impacto en el ambiente

Contaminantes. Una sustancia que se encuentra en un medio al cual no pertenece o que lo hace a niveles que pueden causar efectos (adversos) para la salud o el medio ambiente.

Control. Grupo o individuo seleccionado para usarlo como referencia o testigo en las determinaciones cualitativas y cuantitativas, en un estudio para detectar interferencias o errores analíticos.

Dosis. Relación entre la cantidad de una sustancia administrada a un organismo y el peso corporal del mismo, capaz de producir un efecto.

Efectos. Tóxicos Indicador integral que puede manifestar cambios en el estado general del organismo expuesto a sustancias tóxicas .

Ensayos biológicos. Herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas controladas

Exposición. Contacto directo o indirecto de un organismo con un agente físico, químico o biológico, capaz de producir daño a la salud.

Homogeneidad. Igualdad mayor o menor de los valores de una variable o de una combinación de características en un conjunto de cosas.

Laceración. Herida en la piel y del tejido subcutáneo debido a un desgarro.

Lesión. Daño, herida o alteración patológica de una zona de tejido.

Letal. Que causa la muerte; mortífero, fatal.

Metabolismo. Suma de todos los procesos químicos y físicos que tienen lugar en un organismo; en sentido más estricto, cambios físicos y químicos que sufre una sustancia en un organismo

Metales pesados. Elementos metálicos con alto peso atómico (mercurio, cromo, cadmio, arsénico, plomo, entre otros).

Organismo centinela. Organismos que dispuestos de forma natural o artificial nos informan el estado del ecosistema estudiado. Son extremadamente sensibles/tolerantes al cambio en las condiciones ambientales.

Patógeno. Agente que genera una enfermedad.

Plaguicidas. Sustancias tóxicas diseñadas para matar, repeler o inhibir el crecimiento de organismos vivos.

Sobrevivencia. Proporción de los organismos que viven respecto al total de la población.

Tolerancia. Especial grado de aceptación de un riesgo, determinado por la conjunción de factores sociales, políticos, económicos, culturales y técnicos.

Toxicidad. Capacidad para producir daño a un organismo vivo, en relación con la cantidad o dosis de sustancia administrada o absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo (dosis única o repetidas), tipo y severidad del daño, tiempo necesario para producir éste, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones intervinientes.

Toxicidad aguda. Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos dentro de un corto tiempo.

Toxicidad crónica. Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos consecuentes a una exposición prolongada: éstos pueden aparecer durante o después de interrumpida la exposición.

Tóxico. Cualquier agente químico o físico capaz de producir un efecto adverso para la salud. Todos los agentes físicos y químicos son tóxicos potenciales, ya que su acción depende de la dosis y de las circunstancias individuales y ambientales.

Toxicología. Ciencia que estudia las sustancias químicas y los agentes físicos en cuanto que son capaces de producir alteraciones patológicas a los seres vivos, los mecanismos de producción de tales alteraciones y los medios para contrarrestarlas, así como los procedimientos para detectar, identificar y determinar tales agentes y valorar su grado de toxicidad

ANEXO 2. REGISTRO DE PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS DEL AGUA DURANTE EL EXPERIMENTO BIOLÓGICO

Universidad Técnica de Manabí							
Carrera de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías							
Prueba Toxicológica - Registro de parámetros físicos-químicos del agua							
Fecha	Hora	Tanques #	Temperatura °C	Salinidad Ups	pH	Oxígeno disuelto mg/L	Observaciones

ANEXO 3. REGISTRO DE MORTALIDAD DE LOS ORGANISMOS PRUEBA DURANTE EL EXPERIMENTO BIOLÓGICO

Universidad Técnica de Manabí															
Carrera de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías															
Proyecto Tilapia-Registro de Biometría												Fecha:			
Tanque #1		Tanque #2		Tanque #3		Tanque #4		Tanque #5		Tanque #6		Tanque #7		Tanque #8	
Lt (cm)	Pt(g)	Lt (cm)	Pt(g)	Lt (cm)	Pt(g)	Lt (cm)	Pt(g)	Lt (cm)	Pt (g)	Lt (cm)	Pt(g)	Lt (cm)	Pt(g)	Lt (cm)	Pt(g)
	€ =		€ =		€ =		€ =		€ =		€ =		€ =		€ =
	̄x =		̄x =		̄x =		̄x =		̄x =		̄x =		̄x =		̄x =

ANEXO 4. FOTOGRAFÍAS



Fotografía 11. Adecuación del área previo al inicio del experimento



Fotografía 12 .Recoleccion de organismos muertos



Fotografía 13. Tilapias afectadas