



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTRÉS PRODUCIDO POR CONCENTRACIONES TERAPÉUTICAS
DE SULFATO DE COBRE EN *Carassius auratus*
(PISCES. CYPRINIDAE).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

(BIOLOGÍA DE SISTEMAS Y RECURSOS ACUATICOS)

P R E S E N T A :

BIÓL. CATALINA ROSSANA MALDONADO JIMÉNEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSÉ LUIS ARREDONDO FIGUEROA

MÉXICO, D. F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias, UNAM, al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, así como al Consejo Académico de Posgrado del Área de las Ciencias Biológicas y de la Salud, que aprobó mediante el Acuerdo núm. 2/III/07 la incorporación de nuevas opciones de graduación en la Maestría en Ciencias con orientaciones extendiendo mis agradecimientos. Esto constituyó un gran apoyo lo que permitió concluir mis estudios de Maestría en Biología de Sistemas y Recursos Acuáticos.

Así mismo, deseo agradecer encarecidamente a los miembros del jurado por su valioso aporte en la revisión del trabajo de tesis; Dr. José Luis Arredondo Figueroa, M. en C. Mario Alfredo Fernández Araiza, Dr. Luis Héctor Hernández Hernández, Dra. Nandini Sarma y Dr. Antonio Rodríguez Canto.

A la Dra. Sonia Sofía Espina Aguilera por su inestimable apoyo, por sus conocimientos, que me brindó en todo momento. Por su asesoría, revisión y comentarios a la presente tesis.

A la Biól. Teresa Vázquez Velázquez por su dedicación y profesionalismo al trabajar en conjunto en la realización del trabajo experimental.

*Trabajo que se empieza,
se termina,
la lluvia moja,
pero no parte los huesos.*

Saramago, 2007.

INDICE

Prefacio.....	5
Resumen.....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y métodos.....	19
Resultados.....	23

Discusión.....	30
Conclusiones.....	40
Referencias bibliográficas.....	42
Artículo publicado.....	52

PREFACIO

El cultivo de peces constituye hoy en día un eje prioritario de investigación tendiente a estudiar los peces para encontrar la manera de mejorar la producción de la pesca o de la acuicultura, para determinar los efectos de las actividades humanas sobre los ambientes acuáticos o para incrementar el conocimiento en áreas tales como la ecología, el comportamiento, la evolución, la sanidad piscícola y la fisiología (Moyle y Cech, 2004).

Si bien la piscicultura existe en México desde la época prehispánica (Arredondo-Figueroa y Lozano-García, 2003), ésta se desarrolló empíricamente en el pasado. El vasto acervo bibliográfico que se haya al respecto evidencia que a partir de los últimos treinta años se fortalece el carácter científico de la actividad piscícola; es decir, en el transcurso del tiempo se ha observado un incremento en el número de científicos preocupados por encontrar respuestas a los diversos problemas relacionados con la piscicultura, como son los referentes a la calidad del agua, la biología y la sistemática de organismos acuáticos, la construcción de estanques; el efecto de contaminantes en el medio, las enfermedades y la terapéutica de peces, por mencionar algunos.

Así mismo, es notorio el aumento del número de investigaciones que han sido de utilidad tanto para los piscicultores como para los científicos que colaboran en fortalecer la piscicultura con un enfoque científico y multidisciplinario en nuestro país.

En este marco de referencia un grupo de trabajo del Laboratorio de Ecofisiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, ha contribuido

de manera sustancial a proporcionar respuestas ecofisiológicas y ecotoxicológicas que permitan el desarrollo de una práctica piscícola adecuada; en los últimos años se ha trabajado con diferentes especies de peces dulceacuícolas de interés comercial, entre los cuales se distinguen las especies introducidas como la carpa (*Ctenopharyngodon idella*) y la tilapia (*Oreochromis mossambicus*) y autóctonas como la mojarra criolla (*Cichlasoma istlanum*) para consumo humano; y la carpa dorada (*Carassius auratus*) como especie de ornato. A través de tres líneas de investigación ecofisiológica: **a.** Influencia de factores ambientales, temperatura, compuestos nitrogenados, dureza, entre otros, en el cíclido nativo *Cichlasoma istlanum* y en la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* (Contreras, 1993; Contreras y Espina, 1997; Espina *et al.*, 1990; Luna-Figueroa *et al.*, 2000; Luna-Figueroa *et al.*, 2003). **b.** Evaluación del estrés producido por el cadmio y por el sulfato de cobre en juveniles de carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* aclimatados a diferentes temperaturas (González *et al.*, 1997a; González *et al.*, 1997b; Espina *et al.*, 2000; Jiménez *et al.*, 2001), y **c.** Evaluación del estrés producido por tratamientos profilácticos en carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* y en peces de ornato *Carassius auratus* (Vázquez, 2003; Vázquez *et al.*, 2005).

En resumen, estas líneas de investigación comprendieron tanto el efecto estresor del cadmio y del cobre así como las respuestas de las diferentes especies de peces a los tratamientos profilácticos. Dichas investigaciones, se han realizado bajo condiciones experimentales de laboratorio que han sido de utilidad para documentar en términos generales que las especies dulceacuícolas tienen la capacidad de tolerar ciertas

condiciones adversas del medio lo cual es dependiente de la especie, de la condición fisiológica del pez, del estado del ciclo de vida y de las condiciones ambientales como el oxígeno disuelto, dureza y temperatura, entre otros.

Asimismo se observó que la respuesta de estrés de los peces es secuencial, ya que se activan procesos fisiológicos ligados que pueden producir alteraciones tanto metabólicas como osmóticas.

Los organismos pueden estar sujetos a uno o más factores estresantes; en consecuencia, la magnitud de la respuesta a estresores múltiples es principalmente sinergista, aditiva o producir la muerte.

Los resultados de estos estudios han sido presentados en congresos nacionales y se han publicado en revistas científicas nacionales e internacionales. La presente investigación se publicó en la revista *Hidrobiológica* con el título "Estrés producido por concentraciones terapéuticas de sulfato de cobre en *Carassius auratus*, Pisces, Cyprinidae (Vázquez *et al.*, 2005) y se expone en extenso en las siguientes páginas.

RESUMEN

Con el fin de evaluar si el tratamiento terapéutico con sulfato de cobre producía estrés, los juveniles de *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) se expusieron en baños de sulfato de cobre por 30 min a concentraciones de 0.5 y 1.0 mg Cu²⁺/l, denominadas C1 y C2, respectivamente. En cada experimento se incluyeron grupos testigo. El estrés se cuantificó mediante la prueba del oxígeno disuelto residual (ODR, mg O₂/l) en carpas pequeñas (Clase A: 1.67 ± 0.12 g) y grandes (Clase B: 2.57 ± 0.18 g). Los resultados demostraron que para la Clase A, la exposición a C2 fue estresante; el ODR fue 35.7% mayor que en los testigos y 50% más alto que en C1 (P < 0.05). El consumo de oxígeno fue 39.5% más elevado que en los testigos y 52.6% mayor que en C1 (P < 0.05). Al comparar ambas clases de peso, en C1 el ODR de la Clase A fue similar al de la Clase B y en C2 fue 42.9% mayor que en ésta. La tasa de consumo de oxígeno (TCO) fue 32.7% menor en la Clase A que en la Clase B y en C2, 39.5% más alta en la primera. La eficiencia de extracción de oxígeno (90%) fue similar en todos los grupos. Los resultados obtenidos son importantes para el cultivo de *C. auratus* juvenil considerando mantenimiento y alimentación (36% proteína). Para los tratamientos con sulfato de cobre se recomienda el procedimiento empleado en este estudio, con objeto de evitar que el efecto adverso del cobre sea enmascarado.

Palabras clave: *Carassius auratus*, sulfato de cobre, prueba de desafío, oxígeno disuelto residual, estrés.

ABSTRACT

To evaluate if therapeutic treatment with copper sulfate produced stress on juvenile *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), fish were exposed to copper bath during 30 min, copper concentrations were 0.5 and 1.0 mg Cu²⁺/l, named C1 and C2, respectively. Control groups were included in each experiment. Fish stress was measured by challenge test of residual dissolved oxygen (RDO, mg O₂/l) in small (Class A: 1.67 ± 0.12 g) and large carps (Class B: 2.57 ± 0.18 g). Results show that C2 stressed small carp. Obtained RDO in those carps was 35.7% higher than control fish and 35.5% higher than fish exposed to C1 ($P < 0.05$). Oxygen consumption was 39.5% more elevated than control group and 52.6% higher than C1 ($P < 0.05$). Both weight classes were compared; RDO-Class A was similar to Class B in C1, and in C2 was 42.9% higher than this one. The RDO was 32.7% smaller in Class A than in Class B in C1 but 39.5% higher than this in C2. The oxygen extraction efficiency (90%) was similar in all groups. Results obtained in this study, considering maintenance and feeding (36% protein), are important to cultivate *C. auratus* juveniles. In therapeutic treatments with copper sulphate, we recommend the procedure used in this work in order to avoid masking the copper noxious effect.

Key words: *Carassius auratus*, copper sulphate, challenge test, residual dissolve oxygen, stress.

INTRODUCCIÓN

La piscicultura en México la impulsó Antonio Alzate¹ en 1792 con el objetivo de aumentar la disponibilidad de especies nativas que se utilizaban para consumo humano y cuya demanda iba en aumento. Posteriormente, Cházari en 1884, introduce al país dos especies de ciprínidos asiáticos: la carpa común *Cyprinus carpio* y la carpa dorada *Carassius auratus*, para incrementar el consumo de proteínas de origen animal (Cházari, 1984; Hernández-Avilés y García-Calderón, 1990; Arredondo-Figueroa, 1990 y Rodríguez y Maldonado, 1996).

La ciprinicultura o cultivo de carpas en nuestro país, posee una función trascendente, puesto que incluye el manejo de especies con gran importancia social y económica (Faith *et al.*, 1986). Entre las especies de ciprínidos que se cultivan en México, se encuentra la carpa dorada *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), la que se introdujo al país con el propósito de proporcionar proteínas de origen animal a la dieta alimenticia de las poblaciones rurales marginadas; sin embargo, en la actualidad este pez se utiliza fundamentalmente con fines de ornato (Sánchez, 1994); su calidad comercial está determinada por la forma, el tamaño y el color.

Los piscicultores chinos que han cultivado la carpa dorada *Carassius auratus* desde hace siglos, han obtenido a través de la manipulación y selección genética más de 90 variedades que difieren en sus características

¹ Nació en 1737 en Ozumba, México. En 1753, obtuvo el Grado de Bachiller en Artes; en 1756, el Grado de Bachiller en Teología. Se reconoce como símbolo de la cultura del período de la Ilustración Novohispana. Fue sacerdote, científico, naturalista, historiador. Representante del clímax del pensamiento ilustrado en ciencia y periodismo. Murió en 1799 (Saladino G. 2001).

corporales. En estos organismos se observa disminución, duplicación y alteración de aletas o partes del cuerpo, o bien, presentan diversidad de colores, resaltando los brillos metálicos, entre otros (Cházari, 1984).

La piscicultura china es popular en todo el mundo por la gran variedad de especies que se cultivan con diferentes usos como consumo humano, ornato, deportivo y otros. Con respecto al cultivo de la carpa dorada *Carassius auratus*, en México se cuenta con pocos registros relacionados con la expansión del cultivo, la producción y la distribución. Es a partir de 1940, cuando el Gobierno Federal inicia el cultivo de la carpa dorada *Carassius auratus*, en la estación piscícola de “El Zarco” en el Distrito Federal y en la “La Hacienda del Pabellón” en Aguascalientes. En esa misma época fue introducida en el río Tunal en Durango (Arredondo-Figueroa y Lozano-García, 2003).

Hoy en día, se desconoce tanto la demanda existente en el mercado como la situación real del estado de cultivo de la carpa dorada *Carassius auratus*, debido a que no se cuenta con un conteo exacto de las actividades productivas ornamentales en México (Luna, 2008), por lo que se incluye en los reportes como producción total de peces dulceacuícolas o de ornato y no se realiza una separación o especificación de la especie en particular. Según Alfaro (1999), el noventa por ciento de las especies de peces dulceacuícolas que se comercializan en todo el mundo son reproducidas en cautiverio, entre las que se incluye la carpa dorada *Carassius auratus*. Mientras que la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación en Morelos (SAGARPA), reporta una producción total anual de 16.5 millones

de peces de ornato (Luna, 2008).

El interés por cultivar carpa dorada *Carassius auratus* en el territorio mexicano está en función de abastecer el acuarismo y el comercio tanto nacional como internacional (Hoole *et al.*, 2001). Se le utiliza principalmente como pez de ornato, como ya se mencionó; así como carnada o animal de prueba con el fin de detectar, diagnosticar, caracterizar y controlar diversas enfermedades o como material biológico para estudios toxicológicos.

De acuerdo con Alfaro (1999) y Hoole *et al.* (2001), la carpa dorada es cultivada por un gran número de productores, acuaristas, estudiantes, profesionales e investigadores. Se desconoce tanto el número de personas dedicadas a tal actividad como la producción generada anualmente. Sobre este punto el Gobierno Federal y el Banco de México a través de los Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA, 1999) reportaron más de 2 000 000 de beneficiarios cuya actividad se apoya en la captura, acuicultura, industria y comercio de organismos acuáticos en general.

Los cultivos de la carpa dorada se establecen en granjas piscícolas con instalaciones adecuadas a los requerimientos de la especie, o en encierros rústicos “tapos” que aprovechan las aguas de riego o se desvía una porción del agua de ríos, o en locales de venta de organismos acuáticos que cuentan fundamentalmente con acuarios de vidrio de dimensiones variadas, o en viviendas particulares, entre otros (Alfaro, 1999).

La intensidad de los sistemas de cultivo de la carpa dorada varía

aproximadamente desde los extensivos (5 org./m²), semi-intensivos (15 org./m²), intensivos (60 org./m²) y hasta los híperintensivos (150 org./m²) (FIRA, 1999). El manejo de grandes poblaciones en confinamiento trae como consecuencia la competitividad por el espacio territorial no sólo de los peces sino de otros organismos parásitos y saprofitos perjudiciales que provocan una mayor incidencia de enfermedades, alteración de la salud y calidad de los peces, lo que conlleva a pérdidas en la producción, fluctuación del mercado e incluso un posible desastre económico (Cárdenas *et al.*, sin fecha; Hoole *et al.*, 2001).

Debido al tamaño de la población que se maneja en las granjas productoras de carpa dorada y al hecho de que el habitat, en el que se desarrollan los peces, es el medio de contagio directo al estar en contacto con el cuerpo del pez se facilita el acceso por vía transcutánea, oral, branquial y ocular a los agentes infecciosos con más facilidad que ningún otro organismo (Jiménez *et al.*, sin fecha). Una de las estrategias preventivas o curativas para mantener una condición de calidad de los peces como la carpa dorada, es la administración de tratamientos terapéuticos con diversas sustancias y medicamentos.

El empleo de las sustancias y medicamentos en los centros de cultivo de peces es tan antiguo como la acuicultura misma. La administración y formas de uso, en algunos casos, se hace con base en experiencias con organismos de diferentes especies o que se encuentran en ambientes completamente distintos, lo que resulta perjudicial más que benéfico al desequilibrar aún más las funciones fisiológicas de los organismos que ya se

encuentran expuestos a los efectos ocasionados por los agentes infecciosos (Kinkelin *et al.*, 1985).

Las funciones fisiológicas de los peces pueden ser alteradas por factores adversos del medio, también denominados estresores ambientales. Los estresores ambientales de origen natural o producidos por el hombre alteran el estado fisiológico del pez, de tal manera que ya no es capaz de resistir el efecto de otros estresores (Wedemeyer y McLeay, 1981; Heath, 1987; Schreck, 1990). Bajo un estrés ambiental, los peces manifiestan una respuesta primaria a los cambios en el nivel de hormonas, los cuales estimulan las respuestas secundarias que incluyen cambios bioquímicos y fisiológicos. La homeostasis de un animal es alterada como resultado de las acciones de estresores intrínsecos y extrínsecos (Ramesh *et al.*, 2007).

En cultivo, el estrés producido en los peces se debe principalmente a la manipulación a la que se someten con frecuencia, o bien al deterioro de la calidad de agua con bajas concentraciones de oxígeno disuelto, elevados niveles de amonio y de anhídrido carbónico, exposición a temperaturas adversas; asimismo, el mantenimiento en aguas demasiado suaves o demasiado duras les provoca estrés. En estas condiciones se favorece tanto el desarrollo de organismos patógenos que son causantes de enfermedades asociadas al estrés, como las enfermedades inducidas por parásitos. Entre las primeras se mencionan las provocadas por las bacterias obligatorias y facultativas, por los hongos y por los virus. Entre los parásitos se incluyen los pertenecientes a los géneros *Argulus spp.*, *Gyrodactylus spp.*, *Tricodina spp.* e *Ichthyophthirus spp.* (Wedemeyer, 1996, 1997). Para evitar la propagación

de enfermedades, es común que en el manejo de los cultivos de peces se establezcan acciones específicas de sanidad acuícola entre las que se recomienda el tratamiento terapéutico con diversos compuestos, entre estos, el sulfato de cobre (CuSO_4) es ampliamente utilizado. Esta sal se emplea en el control de las enfermedades bacterianas de las branquias y en el tratamiento de los ectoparásitos, como protozoos y trematodos (Hoole *et al.*, 2001).

Son diversos los autores que sugieren el uso del sulfato de cobre como tratamiento terapéutico, por citar algunos tenemos a:

Michaels (1988), quien recomienda emplear 11.1 kg/ha de CuSO_4 contra rotíferos, protozoarios y fitoplancton presentes en los cultivos de peces dulceacuícolas, sólo cuando otros tratamientos hayan fallado en la erradicación de los organismos no deseados, debido a que el compuesto es muy tóxico para los peces.

Martty (1989), propone el uso de 100 mg/L de CuSO_4 por 30 minutos, contra *Gyrodactylus* y *Dactilogyrus* en los cultivos de peces dulceacuícolas.

Schäperclaus (1992), aconseja utilizar un tratamiento no prolongado con 0.5 mg/L de CuSO_4 contra *Gyrodactylus*, *Costia* y *Oodinium* en los cultivos de *Cyprinus* carpio, argumentado que la toxicidad del cobre es elevada tanto para los parásitos como para el pez.

Hoole *et al.* (2001) se limita a sugerir el uso de sulfato de cobre contra protozoarios para peces en general y contra bacterias para peces de ornato, sin mencionar la concentración del compuesto a utilizar.

La aplicación más utilizada del tratamiento consiste en sumergir a los peces en baños con sulfato de cobre por un cierto período; es necesario

tener en cuenta que el propio tratamiento terapéutico puede provocar estrés en los animales, ya sea por la manipulación a la que se someten o porque la concentración de cobre es inadecuada (Kinkelin *et al.*, 1985). También es importante considerar que el ión cúprico es tóxico para los organismos acuáticos y que su toxicidad es dependiente del pH, la dureza y la temperatura del agua (Kinkelin *et al.*, 1985; Lázaro-Chávez, 1985; Lloyd, 1992; Newman y Jagoe, 1996); de la cantidad de materia orgánica presente en el medio (Leland y Kuwabara, 1985; Lloyd, 1992); de la especie y de su estadio de desarrollo (Gündoğdu y Erdem, 2008), así como del estado fisiológico del organismo (Pelgrom *et al.*, 1994).

El cobre en agua, aún en concentraciones relativamente bajas afecta seriamente la salud y desempeño de los peces. Puede llegar a dañar la branquia, la cual constituye la principal vía de intercambio iónico y de gases en peces, provocando producción de mucus, hinchamiento celular y elevación del epitelio (Wood, 2001 en De Boeck *et al.*, 2006). Estos procesos interfieren con la respiración y la ionorregulación porque se incrementan las distancias de difusión (De Boeck *et al.*, 2006; De Boeck *et al.*, 2007). De acuerdo con Rábago-Castro *et al.* (2006) las concentraciones de sulfato de cobre que se utilizan frecuentemente en acuicultura, inducen la supresión del crecimiento por lo que se deben utilizar con precaución.

En algunos países el sulfato de cobre ha sido incluido en la lista de sustancias autorizadas para el mercado para ser usado en el control y prevención de enfermedades no sólo en especies de ornato sino también en las de consumo humano. Cabe recordar que la autorización de

medicamentos para la acuicultura, establece la calidad de las sustancias medicinales disponibles y la seguridad y eficacia en el uso. En la Unión Europea y en EEUU esto está cubierto en la legislación denominada Autorización para el Mercado, MA (Treves-Brown, 2000). Asimismo, la Comunidad Económica Europea a través de la Agencia Europea para la Evaluación de Productos Médicos (EMA) y los Estados Unidos con la agencia Food and Drug Administration (FDA) brindan una guía de los medicamentos utilizados para los países productores que dependen de estos mercados para comercializar sus productos. Considerando que, la FDA acepta la utilización del sulfato de cobre y teniendo en cuenta que México se vincula a ese país a través del Tratado de Libre Comercio (TLC) las autoridades del país adoptan las recomendaciones de la FDA lo que permite la apertura a la producción y exportación mexicana (Bonami, sin fecha).

Existen varios indicadores que proporcionan información sobre el estado general de la salud del animal y cuantifican el grado de estrés producido cuando las funciones del estado estable del organismo han sido deterioradas por los estresores; en tal condición de estrés la energía necesaria para llevarlas a cabo no es suficiente debido a que las respuestas de resistencia son procesos que generalmente demandan gran cantidad de energía (Burggren y Roberts, 1991; Jobling, 1994). Por lo tanto, el deterioro del pez se determina en función de su capacidad para enfrentar una nueva condición estresante; con este fin, se han diseñado procedimientos denominados pruebas de desempeño o de desafío en las que se postula la acción sinérgica de los estresores (Wedemeyer y McLeay, 1981;

Wedemeyer, 1996, 1997). Las respuestas respiratorias se consideran como indicadores de estrés (Sprague, 1971).

En tratamientos terapéuticos, el sulfato de cobre se administra comúnmente por inmersión del organismo en el agua que contiene disuelto el compuesto y aunque tiene acción biocida beneficiosa en los sistemas de cultivo, se ha demostrado que también puede tener efectos perjudiciales en los peces (Heath, 1987; Jobling, 1994; Beaumont *et al.*, 1995; Treves-Brown, 2000), puede provocar cambios en la ionoregulación, en el olfato y en el desempeño de la natación (Sloman, 2003). En los ciprínidos como la carpa común *Cyprinus carpio*, se presentan efectos sobre la tasa respiratoria a concentraciones de cobre relativamente bajas, a pesar que estos peces son mucho más resistentes a la intoxicación por cobre (De Boeck *et al.*, 2007).

Considerando lo expuesto anteriormente, el presente estudio se realizó con el propósito de evaluar el efecto del sulfato de cobre en concentraciones recomendadas para tratamientos terapéuticos, en los juveniles de *C. auratus*.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó por fases, de acuerdo a la disponibilidad de espacio en el Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Por esta razón, se adquirieron dos grupos de organismos juveniles en dos granjas, ambas ubicadas en el Municipio de Jiutepec, Morelos. La edad promedio de los juveniles fue de 60 ± 10 días, aproximadamente.

Los organismos se mantuvieron en condiciones de laboratorio en tres acuarios de 80 l, a una densidad de 1 g/l, con agua filtrada por carbón activado y aireación permanente; el volumen perdido por evaporación se repuso. Las características físico-químicas del agua fueron las siguientes: temperatura 25 ± 1 °C, (calentadores sumergibles Hagen), el oxígeno disuelto fue 5.9 ± 0.1 mg O₂/l (YSI-54ARC; ± 0.01 mg O₂/l) y el pH de 7.8 ± 0.3 (potenciómetro Walklab Trans-Instrument; ± 0.01 unidades). Diariamente se suministró a los peces alimento comercial para carpa dorada, Wardley®, (40% de proteína), en una proporción del 6% del peso corporal, dividido en dos raciones diarias. Esta dieta se complementó con alimento vivo, *Artemia* sp. proporcionado dos veces por semana. El alimento remanente y las heces se retiraron del fondo de los acuarios con redes de luz de malla de 0.3 mm y mediante un sifón, una vez por semana. El fotoperíodo se fijó en 12 h luz: 12 h oscuridad.

En estas condiciones los peces permanecieron durante 45 días, al término de los cuales se seleccionaron los sujetos de experimentación, antes de ser sometidos a los tratamientos terapéuticos, se formaron dos grupos:

Clases A y B, acorde al peso de los organismos evaluado con carga de agua en balanza de plato OHAUS (± 0.01 g). Al término de los experimentos se midió la longitud total con vernier (± 0.1 cm). Los peces más pequeños, de 1.50 a 1.74 g y 3.41 a 4.70 cm aproximadamente, se incluyeron en la Clase A y los más grandes de 2.37 a 2.70 g y 5.26 a 5.64 cm, en la Clase B.

En la fase experimental, las carpas de ambas Clases se distribuyeron en acuarios de 40 l y se mantuvieron por cinco días en condiciones idénticas a las del periodo anterior.

De estos acuarios se seleccionaron al azar 12 peces con el fin de medir los niveles de oxígeno residual ($\text{mg O}_2/\text{l}$) en los peces expuestos a las diferentes condiciones experimentales. La captura se llevó a cabo con cajas de plástico de base cuadrada (10x10x15 cm) con tapa, forradas con una red de 0.3 mm de luz de malla. Los baños terapéuticos se efectuaron sumergiendo los peces, contenidos en dichos dispositivos, en cubetas de plástico con 4 l de las respectivas soluciones de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (Merck, 99.9%): 0 (testigos), 0.5 y 1.0 $\text{mg Cu}^{2+}/\text{l}$ aireadas de forma gradual y mantenidas a $25 \pm 1.0^\circ\text{C}$. Al finalizar el lapso de exposición de 30 min, las cajas con los peces se sumergieron durante 2 min en agua limpia, de las mismas características que las de mantenimiento, tres veces sucesivas. En seguida, los organismos se liberaron en acuarios de vidrio de 15 l y se observó su comportamiento después de 1, 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h. Durante el período de observación los peces se alimentaron como anteriormente y de igual manera se mantuvo la limpieza de los acuarios. Después de este lapso no se les proporcionó alimento las siguientes 24 h, con objeto de efectuar en

ayunas las pruebas de desafío del oxígeno disuelto residual (ODR, mg O₂/l).

Para medir el ODR, los peces se trasladaron individualmente a frascos de vidrio de 150 ml con aireación constante suministrada a través de pipetas Pasteur y a la temperatura experimental, mantenida en un baño termorregulado. La captura y el traslado se efectuó en vasos de precipitado (250 ml) con el fin de evitar el estrés producido por la manipulación. Después de 1 h en estas condiciones, se retiraron las mangueras de aireación de cada cámara, se midió la concentración de oxígeno inicial con un sensor de oxígeno conectado a un oxímetro (YSI 54 ARC; ± 0.01 mg O₂/l) y se sellaron los frascos con papel encerado (Parafilm) cuidando que no quedaran burbujas en su interior. El punto final de la prueba fue la muerte de los peces. El criterio de muerte fue el cese del batido opercular; en este momento se registró el tiempo de muerte (h). Se abrieron los frascos, los peces se retiraron rápidamente, se introdujo un agitador magnético en el frasco y se midió la concentración del oxígeno disuelto residual (ODR); los resultados se expresaron en mg O₂ h⁻¹ g⁻¹.

La tasa de consumo de oxígeno (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ PH) se calculó por diferencia entre los valores de la concentración de oxígeno al inicio y al final de los experimentos. La eficiencia de extracción del gas (EEO, %) se determinó en relación a los niveles iniciales del oxígeno disuelto en el medio.

Al finalizar los experimentos se midió el peso de los juveniles (g) y su longitud total (cm). Con objeto de caracterizar la variabilidad de los datos obtenidos de los diferentes grupos de peces experimentales y testigos de

ambas granjas, se describió gráficamente su comportamiento por diagramas de cajas (Hoaglin *et al.*, 1991). Las diferencias se estimaron significativas cuando no hubo traslape entre los intervalos de confianza de la mediana ($\alpha=0.05$). En el análisis estadístico se empleó el programa de cómputo Statgraphics (Statist. Graph. Syst. Co., 1985).

Con los datos de peso (g), longitud (cm) y altura (cm) se determinaron las relaciones alométricas a través del Factor de Condición Múltiple (KM) para evaluar el estado morfológico de los peces (Medina-García, 1979). Para ello, se realizó un análisis de varianza de dos factores con nivel de significancia de 95%, en seguida se aplicó la prueba de Tuckey para determinar diferencias significativas. Se validaron los modelos alométricas mediante un análisis de residuos (Draper y Smith, 1981).

Posteriormente se calculó el coeficiente de determinación (r^2), para estimar el grado de explicación de los cambios morfológicos de los peces de la presente investigación.

RESULTADOS

La sobrevivencia de los peces después de 72 horas de haber sido expuestos al sulfato de cobre fue del 100%.

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos de los juveniles de *C. auratus* de la Clase A (1.67 ± 0.12 g) y de la Clase B (2.57 ± 0.18 g). Se muestran los valores medianos e intervalos de confianza de la mediana, correspondientes al oxígeno disuelto residual (ODR, $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$), a la tasa de consumo de oxígeno (TCO, $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$) y a la eficiencia de extracción de oxígeno (EEO, %) del grupo testigo y de los grupos experimentales.

En la Clase A se observó que el ODR en los organismos expuestos a $0.5 \text{ mg Cu}^{2+} / \text{l}$ fue similar al de los testigos, pero que al elevarse la concentración de cobre, el ODR se incrementó significativamente ($P < 0.05$). En la figura 1 se observa que el aumento relativo de ODR de los peces expuestos a $1.0 \text{ mg Cu}^{2+} / \text{l}$ (C2) con respecto a los testigos, fue del 35.7% y con los expuestos a $0.5 \text{ mg Cu}^{2+} / \text{l}$ (C1) fue del 50%.

Tabla 1. Oxígeno disuelto residual (ODR, $\text{mg O}_2\text{h}^{-1}\text{g}^{-1}$), tasa de consumo de oxígeno (TCO_2 , $\text{mg h}^{-1}\text{g}^{-1}$) y eficiencia de extracción de oxígeno (EEO, %) de *Carassius auratus* de dos clases de tallas (A y B, g peso húmedo) expuestos al sulfato de cobre. Mediana e intervalo de confianza de la mediana (95%). (N)= Número de organismos

mg Cu^{2+}/l		Clase A	Clase B
C0	ODR	0.09 (0.07, 0.11)	0.08 (0.06, 0.10)
	TCO	0.92 (0.75, 1.09)	0.88 (0.52, 1.24)
	EEO	90 (89, 91)	97 (96, 98)
	Peso, g	1.68 (1.39, 1.97)	2.98 (2.41, 3.55)
	(N)	(12)	(11)
C1	ODR	0.07 (0.05, 0.09)	0.06 (0.04, 0.08)
	TCO	0.72 (0.52, 0.92)	1.07 (0.90, 1.25)
	EEO	90 (88, 92)	96 (95, 97)
	Peso, g	1.34 (1.08, 1.60)	2.48 (2.00, 2.96)
	(N)	(12)	(11)
C2	ODR	0.14 (0.12, 0.16)	0.08 (0.06, 0.10)
	TCO	1.52 (1.34, 1.70)	0.92 (0.76, 1.08)
	EEO	91 (89, 93)	96 (94, 98)
	Peso, g	2.00 (1.73, 2.27)	2.24 (1.77, 2.71)
	(N)	(12)	(8)

C0: Testigos, C1: 0.5 mg Cu^{2+}/l ; C2: 1.0 mg Cu^{2+}/l)

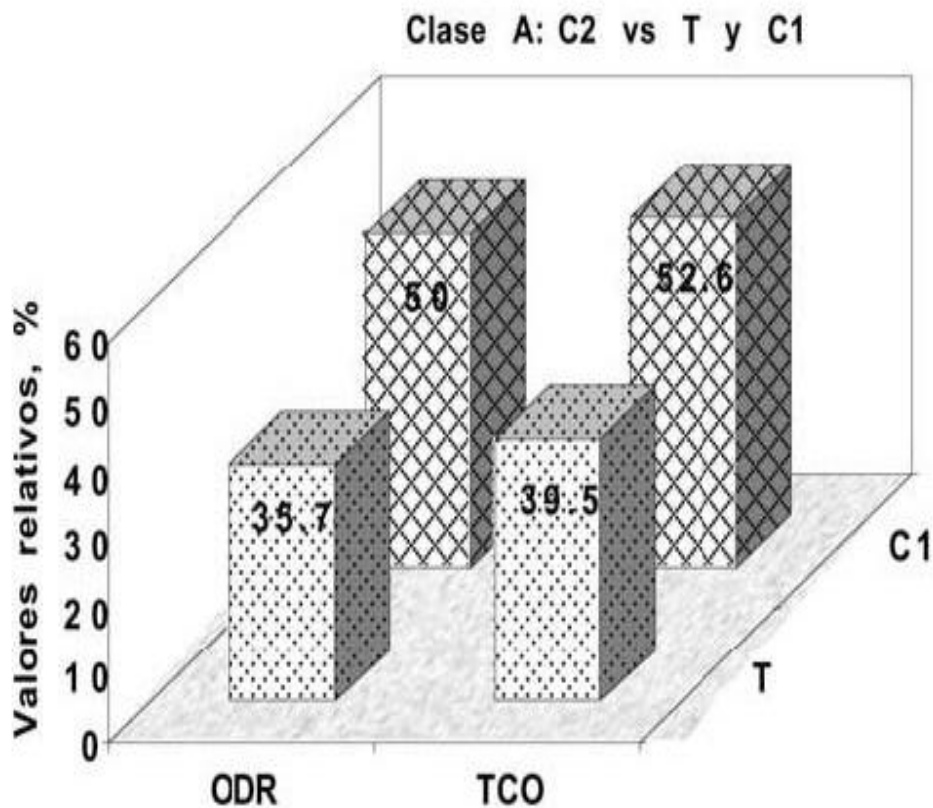


Fig. 1. Valores de las tasas fisiológicas de los juveniles de *Carassius auratus* Clase A, expuestas a 1.0 mg Cu²⁺/l (C2) relativas a las del grupo testigo (T) y a las expuestas a 0.5 mg Cu²⁺/l (C1). ODR: oxígeno disuelto residual; TCO: consumo de oxígeno.

En referencia al consumo de oxígeno, los peces Clase A expuestos a la menor concentración de cobre tuvieron tasas similares a la de los testigos (Tabla 1; $P > 0.05$) y superiores a las carpas expuestas a la mayor concentración de cobre (C2) cuyos valores fueron 39.5% más altos que la de los testigos y 52.6% más elevados que en los peces expuestos a 0.5 mg Cu²⁺/l (C1) como se aprecia en la figura 1. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

En la Clase B los valores de ODR de los peces expuestos a ambas concentraciones de cobre, fueron similares al testigo (Tabla 1; $P > 0.05$).

La eficiencia de EEO, independientemente del tamaño corporal, fue superior al 90% tanto en los peces testigos como en los experimentales (Tabla 1).

Al establecer las comparaciones de ODR entre ambas Clases de peso, no se obtuvieron diferencias ($P > 0.05$) entre los testigos ni entre los grupos de peces expuestos a $0.5 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{l}$ (Tabla 1; Fig.1). En cambio cuando los peces se expusieron a $1.0 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{l}$ el ODR de las carpas Clase A fue 42.9% más alto que en la Clase B ($P < 0.05$) (Fig. 2). En referencia al consumo de oxígeno (Tabla 1), no hubo diferencias entre los grupos testigo de ambas clases de peso (Tabla 1; $P > 0.05$). En el tratamiento con $0.5 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{l}$ la tasa respiratoria fue 32.7% más baja en la Clase A que en la Clase B ($P > 0.05$), en cambio en el tratamiento con $1.0 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{l}$ los peces Clase A tuvieron una tasa de consumo de oxígeno 39.5% mayor que los de la Clase B ($P > 0.05$) (Fig. 2).

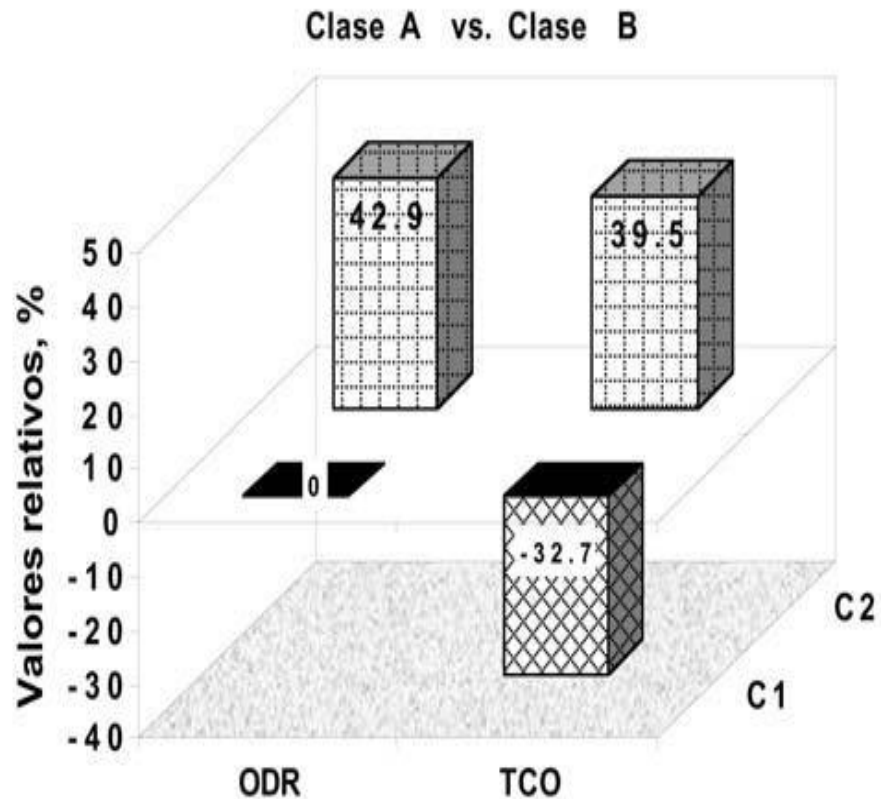


Fig. 2. Valores de las tasas fisiológicas de los juveniles de *Carassius auratus* Clase A, expuestas a 0.5 mg Cu²⁺/l (C1), 1.0 mg Cu²⁺/l (C2) relativos a los de la Clase B. ODR: oxígeno disuelto residual; TCO: consumo de oxígeno.

Al comparar la eficiencia de extracción de oxígeno (EEO), entre las diferentes clases de peso, se observó tanto en los peces testigo como en los expuestos a las diferentes concentraciones del ión cúprico, que los peces grandes fueron más eficientes que los de menor talla (Tabla 1). En los testigos de clase B los valores de EEO fueron 7% superiores a los de clase A; en los especímenes expuestos a 0.5 y 1.0 mg Cu²⁺/l respectivamente (Tabla 1). Los peces de clase B tuvieron una eficiencia 6 y 5% mayor que los de clase A, estas pequeñas diferencias fueron significativas ($P < 0.05$).

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos a partir de los modelos alométricos correspondientes a los valores del coeficiente de regresión, al coeficiente de determinación (%) y al factor de condición promedio (KM) de los grupos testigo y los grupos experimentales.

Tabla 2. Coeficiente de regresión estimado del modelo: peso vs. Longitud y altura; Coeficiente de determinación y factor de condición múltiple (KM) en juveniles de *Carassius auratus* de dos clases de talla expuestos al sulfato de cobre.

Clase	mg Cu ²⁺ /L	Coeficiente de regresión		Coeficiente de determinación (%)	KM promedio
		Longitud (cm)	altura (cm)		
A	C0	-0.65	2.58	60.61	170.10
	C1	0.33	1.79	75.17	51.02
	C2	0.61	1.65	85.01	33.88
B	C0	2.18	0.13	80.80	6.56
	C1	2.27	-0.21	62.49	5.53
	C2	2.02	0.96	83.19	5.85

El análisis de varianza de dos factores mostró diferencias significativas con respecto a la longitud y peso de los organismos ($p < 0.05$) entre ambas clases.

La prueba de Tuckey evidenció diferencias significativas en talla y peso entre

los individuos del primer grupo y los del segundo.

Con los resultados del coeficiente de determinación se observa que los modelos explican el comportamiento de las variables con un mínimo de 60.61 % para el grupo testigo de la clase A y un máximo de 85% para los peces expuestos a 1.0 mg Cu²⁺/l de la misma clase. El coeficiente de determinación tanto para el grupo testigo como para el grupo expuesto a 1.0 mg Cu²⁺/l de la clase B, fue similar, presentando valores superiores al 80%; mientras que en los organismos expuestos a 0.05 mg Cu²⁺/l de la misma clase el coeficiente fue menor (62.49).

DISCUSIÓN

Los especímenes empleados en este trabajo se obtuvieron en el Estado de Morelos en dos granjas aledañas con el fin de cubrir los requisitos estipulados en el mismo, en cuanto a la disponibilidad de organismos de las tallas adecuadas. Los resultados indicaron que la condición fisiológica de ambos grupos fue diferente; el peso corporal de los peces de la primera granja (Clase A) era menor que el de la segunda (Clase B) como se señaló anteriormente. Al respecto, Vázquez (2003) estimó la condición fisiológica de las carpas a través del factor de condición múltiple (KM) y encontró que dicha condición era inferior en los peces Clase B. La variabilidad entre el KM observado en peces probablemente es reflejo de las diferencias en la calidad, la cantidad y la frecuencia del suministro del alimento (Kuri-Nivón, 1979) en las dos granjas, debido a que el alimento es el principal factor biótico que se debe tener en cuenta en el cultivo de peces (Pelgrom *et al.*, 1994). Por lo tanto, los juveniles de *C. auratus* de ambas granjas, se mantuvieron por más de un mes en condiciones controladas antes de exponerlos al sulfato de cobre; el tamaño corporal se consideró como otra variable.

Kunwar *et al.* (2008), propuso recientemente considerar la cantidad de alimento entre los diferentes factores externos e internos que pueden afectar la biodisponibilidad de cobre en peces. Dicho autor trabajó con dos grupos de carpa común *Cyprinus carpio*; a un grupo proporcionó alimento al 0.5% del peso corporal (p. c, g) y al otro al 5%. Ambos grupos de carpas fueron expuestas a 1 μM de Cu^{2+} por 28 días. El autor refiere que los peces

alimentados con la dieta menor no fueron afectados por el metal, en cambio los peces con ración del 5% p. c. resultaron más sensibles, con un aumento en la excreción de amonio, acumulación de amonio en plasma y alteración del metabolismo hepático, entre otros.

La respuesta de los peces que no presentaron los efectos mencionados durante la exposición al cobre, fue interpretada como una posible elevación de las proteínas que se ligan a metales de bajo peso molecular, metalotioneinas. Debido a esto la concentración libre del metal es más baja. Por lo tanto el incremento en metalotioneinas puede reducir el daño a las branquias (Kunwar *et al.* 2008).

Estos mismos autores, en concordancia con Olsson (1996), argumentan que la biosíntesis de metalotioneinas en mamíferos y en peces puede ser disparada por los metales pesados así como por el cortisol. Los peces con ración de 0.5% p.c. pudieron haber estado estresados crónicamente porque la limitación de alimento condujo a un incremento en la secreción de cortisol. Cuando estos peces se expusieron al cobre, se produjo una inducción rápida de metalotioneinas la cual protegió a los organismos de los efectos deletéreos del cobre.

En el mismo sentido Hashemi *et al.* (2008) plantearon que la sensibilidad al cobre en las carpas *Cyprinus carpio* es dependiente tanto de la cantidad de alimento como de la aclimatación al metal.

Estos autores trabajaron inicialmente con dos grupos de carpas *Cyprinus carpio* al primer grupo le proporcionaron alimento 0.5% (p. c, g) y al segundo al 5%. Después de 52 días cada grupo se dividió en dos. A un

subgrupo de cada división se le mantuvo en las mismas condiciones previamente descritas, al otro se le aclimató a una concentración de cobre subletal de 1 μM . Posteriormente los subgrupos se dividieron en cuatro y se expusieron a concentraciones de cobre de 3.5, 6, 10 y 15 μM por 10 días.

Los autores indican que los peces alimentados con la ración de 0.5% p. c fueron menos sensibles al metal que los peces alimentados con la dieta mayor en todas las pruebas. Asimismo, los peces de ambas dietas y aclimatados al cobre fueron ligeramente menos sensibles al efecto adverso del cobre. Sin embargo, estos organismos acumularon mayor concentración del metal en las branquias, el hígado y el cuerpo. Los peces aclimatados y alimentados con la ración menor presentaron más cobre en las branquias, el hígado y el cuerpo que los peces de la dieta menor.

Los autores también midieron los niveles de sodio en las branquias, el hígado y el cuerpo, observaron que el sodio disminuyó significativamente con el incremento de la exposición al metal.

La pérdida de sodio a través de las branquias es más importante que a través de otras vías y está relacionada con la inhibición de la actividad Na^+/K^+ ATP en la branquia lo que evidencia una competencia entre el cobre y el sodio puesto que utilizan el mismo canal de entrada. Eventualmente la capacidad del pez para ionorregular se rompe y el nivel de sodio cae progresivamente provocando declinación del potencial osmótico del plasma que finaliza con la muerte del pez (Hashemi *et al.*, 2008).

Los resultados de Hashemi *et al.* (2008), concuerdan con los proporcionados por Kunwar *et al.* (2008), es decir, los peces alimentados con la ración del 5% del peso corporal fueron dos veces más sensibles que los peces alimentados con 0.5% del peso corporal, lo que los lleva a sugerir que el nivel de metalotioneinas en los peces con ración baja puede ser más elevado que los de las carpas alimentadas con la ración mayor y que las carpas alimentadas con la dieta menor pueden tener más canales de sodio como resultado de su aclimatación a la inanición que permite que más sodio y cobre fluya hacia el interior del pez.

En el presente estudio se observó que las carpas clase A tuvieron un factor de condición (KM) heterogéneo con valores promedio extremos (34-170, correspondientes a los organismos sometidos a 1.0 mg Cu²⁺/l y los testigo, respectivamente). Se encontró que los valores promedio de KM de los organismos de la Clase A fueron superiores, lo que da cuenta de una mejor condición fisiológica. Sin embargo, con los valores de KM se comprueba que los peces de menor tamaño fueron los más afectados por el tratamiento con sulfato de cobre.

Los valores promedio de KM de los organismos de la clase B fueron más homogéneos (5.5-6.6, correspondientes a los organismos sometidos a 0.5 mg Cu²⁺/l y los testigo, respectivamente), lo que refleja una menor condición fisiológica en comparación con los peces de la Clase A, siendo los menos afectados por efecto del ión cúprico. Al respecto Rábago-Castro *et al.* (2006), mencionan que las concentraciones de sulfato de cobre comúnmente

utilizadas en acuicultura tienen un efecto perjudicial significativo sobre el crecimiento en peso y longitud del bagre de canal *Ictalurus punctatus*. Lo anterior se refleja en una disminución del Índice de Conversión Alimenticia (ICA). Simultáneamente el pez estresado canaliza mayor cantidad de la energía disponible a contrarrestar los efectos fisiológicos adversos generados por el cobre. Así mismo, es posible observar que varias horas después de la administración del tratamiento terapéutico, las carpas redujeron la actividad alimentaria.

El sulfato de cobre es un compuesto de uso tradicional en la piscicultura por su alto poder biocida; se emplea frecuentemente en la preparación de estanques y pozas de cultivo (Lloyd, 1992) y también es ampliamente utilizado en tratamientos terapéuticos (Treves- Brown, 2000). Sin embargo, en concentraciones relativamente altas, dependientes de la especie y del tamaño, el ión cúprico tiene un efecto nocivo sobre el sistema respiratorio de los peces. Causa daño estructural de las branquias lo que incluye engrosamiento y fusión de laminillas, edema, pérdida de epitelio (Lewis, 1978; De Boeck *et al.*, 2006); producción de mucus (De Boeck *et al.*, 2007); dificultad para respirar, renuencia al alimento, no mantienen el grupo sino que nadan separadamente uno de otros (Gündoğdu y Erdem, 2008); severa alteración en la regulación de iones debido a la pérdida neta de sodio a través de las branquias (Hashemi *et al.*, 2008). Lewis (1978) refiere que los peces de Arizona (*Agosia chrysogaster*) tuvieron alteraciones en el comportamiento como natación agitada, pérdida de equilibrio, sofocación, periodos de letargo y muerte. En concentraciones subletales el cobre reduce

el contenido de oxígeno y el pH plasmáticos (Leland y Kuwabara, 1985; Lydy y Wising, 1988). Si la concentración es subletal y crónica el principal efecto es ionoregulatorio, debido a la inhibición de la función de la Na^+/K^+ ATPasa en la membrana basolateral del epitelio branquial lo cual disminuye la captación de sodio. En concentraciones relativamente bajas afecta la tasa respiratoria de los ciprínidos como la carpa común *Cyprinus carpio* (De Boeck *et al.*, 2007).

En los juveniles de *C. auratus* se utilizó la prueba de desafío del oxígeno disuelto residual (ODR) como indicador del estrés producido por el ión cúprico, en concentraciones recomendadas para los tratamientos terapéuticos (Kinkelin *et al.*, 1985; Lázaro-Chávez, 1985) suponiendo que si la exposición al cobre provocaba estrés en las carpas, éstas no serían capaces de resistir la acción de otro estresor como es en este caso el medio hipóxico (Wedemeyer y McLeay, 1981; Schreck, 1990). Por estas razones se seleccionó la prueba de desafío del ODR, ya que el cobre altera la tasa respiratoria de los peces, en tanto que el medio hipóxico aumenta el efecto dañino de los estresores (Lydy y Wising, 1988; Wedemeyer, 1997).

En los juveniles de la carpa dorada *C. auratus* se comprobó a través del ODR, que los baños de 30 min de duración en sulfato de cobre (1.0 mg Cu^{2+} /l) provocaban estrés en los peces pequeños, en cambio en los de mayor tamaño no se detectaron los efectos adversos del metal, aparentemente. Estos resultados coinciden con Heath (1990), quien menciona que los peces pequeños son más afectados por el cobre debido a

que lo acumulan más rápidamente que los grandes; el autor refiere que esto se debe a que la tasa de captación del metal, a través de la branquia, se relaciona con la tasa metabólica peso-específica. Heath (1987) también indica que la magnitud del oxígeno residual es proporcional a la concentración del tóxico a la que se exponen los peces, lo que no se pudo comprobar en la carpa dorada ya que sólo la mayor concentración de cobre produjo estrés en las carpas pequeñas y no tuvo efecto en las de mayor tamaño, como se estableció anteriormente (Vázquez, 2003).

De igual manera, los baños terapéuticos con sulfato de cobre durante 10, 20 30 y 60 min resultaron estresantes para la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844), con un deterioro mayor en los peces de menor tamaño, independientemente del tiempo de exposición (Jiménez *et al.*, 2001). En salmónidos (*Onchorynchus mykiss*: Walbaun, 1792) las concentraciones subletales del ión cúprico también tienen efectos nocivos para los organismos (Hodson *et al.*, 1979), lo cual se manifiesta en una mayor susceptibilidad a las infecciones comprobada mediante pruebas de desafío (Treves-Brown, 2000).

La alcalinidad y la dureza total del agua, el pH y la temperatura modifican la toxicidad del cobre, mientras mayor sea el contenido de calcio y menor la acidez, menor será la toxicidad del ión cúprico, probablemente debido a la disminución de la permeabilidad de los tejidos y a la acción del ión calcio en el epitelio branquial donde produce cambios en la carga eléctrica haciéndolo más positivo, por lo que el catión sería repelido

(Waiwood y Beamish, 1978; Sprague, 1985; Jobling, 1994; Newman y Jagoe, 1996; Perschbacher y Wurts, 1997). En los juveniles de *C. auratus* no se observó mortalidad durante los períodos de mantenimiento y tratamiento con cobre, ni en las 72 h postratamiento, lo que se atribuye a que las variables fisicoquímicas del agua mencionadas fueron adecuadas para las carpas más grandes y disminuyeron el estrés en las pequeñas. El tratamiento con sulfato de cobre consistió en la inmersión de los peces por 30 min, tiempo suficiente para la incorporación del metal acorde a Ling *et al.* (1993), quienes usaron la sal con objeto de proteger a la carpa dorada contra patógenos; indican que en las carpas expuestas a 288 µg/l de sulfato de cobre durante 15, 30, 60 y 120 min, el cobre fue absorbido durante todo el período de exposición. Cabe mencionar que la carpas en este trabajo, estuvieron en ayunas durante 48 h considerando toda la fase experimental y las 24 h previas. Como la materia orgánica ambiental y por ende la producción de heces disminuye la disponibilidad del cobre al formar complejos (Leland y Kuwabara, 1985; Heath, 1987; Jobling, 1994; Pelgrom *et al.*, 1994); tal situación favorable, pudo haberse presentado durante el período postratamiento, debido a la producción de heces de los peces alimentados en ese periodo. El cobre presente en el medio sería proveniente de la depuración del metal captado por los peces; éste proceso es lento ya que niveles importantes son retenidos en los organismos por más de dos semanas (Ling *et al.*, 1993; Treves-Brown, 2000).

Con respecto al consumo de oxígeno, los organismos acuáticos tienen la capacidad para sobrevivir en condiciones deficientes en oxígeno, modificando sus respuestas respiratorias; en estas condiciones los peces

pueden aumentar la frecuencia del batido opercular y la eficiencia de extracción de oxígeno del disponible en el medio, manteniendo constante la tasa de consumo de oxígeno (Burggren y Roberts, 1991). No obstante, De Boeck *et al.* (2006), realizaron un estudio comparativo en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, carpa común *Cyprinus carpio*, carpa gibel *Carassius auratus gibelio* expuestas a 1µM de cobre, se presentaron reducciones en las tasas de respiración para la carpa común y carpa gibel pero no para la trucha. Adicionalmente, la carpa común mostró signos claros de un período transitorio de metabolismo anaerobio que resultó en una acidificación de su tejido muscular después de 24 horas de exposición. Así mismo, De Boeck *et al.* (2007), encontraron que en los ciprínidos se puede reducir las tasas de ventilación y de respiración como un primer mecanismo de defensa lo cual disminuye las pérdidas de iones. En contraste, en los juveniles de *C. auratus* se encontró un aumento en la tasa de consumo de oxígeno dependiente del tamaño corporal y de la concentración de cobre en el baño terapéutico.

En referencia a la tasa de extracción de oxígeno del disponible en el medio, ésta es considerada como indicador de los mecanismos de compensación fisiológica asociados al peso corporal, lo que fue comprobado en los juveniles de *C. idella* expuestos a concentraciones subletales de contaminantes endógenos como amonio y nitritos (Contreras y Espina, 1997) y exógenos como el cadmio (Espina *et al.*, 2000). En los juveniles de *C. auratus* al ser expuestos al cobre, la eficiencia de extracción se mantuvo relativamente alta (89-92%) aunque la influencia del peso se manifestó solo ligeramente (5– %). Tal discrepancia, probablemente se deba a las diferencias existentes entre los metales utilizados, ya que el cobre en

contraste con el cadmio, es un metal esencial; también se debe considerar el estrecho intervalo de peso de los ejemplares de carpa dorada empleados en este trabajo en comparación con la amplitud del mismo en *C. idella*.

CONCLUSIONES

La condición fisiológica de las carpas pequeñas (Clase A: 1.67 ± 0.12 g) fue superior que la de las carpas grandes (Clase B: 2.57 ± 0.18 g).

Los organismo de menor tamaño (Clase A) fueron los más afectados por el tratamiento con sulfato de cobre.

A través de la prueba de desafío de oxígeno disuelto residual, se comprobó que los baños de 30 minutos de duración en sulfato de cobre ($1.0 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{l}$), provocaron estrés en los juveniles de *Carassius auratus* de menor tamaño.

La eficiencia de extracción de oxígeno fue superior al 90%, en los peces testigo como en los experimentales; resaltando que los peces grandes (Clase B) fueron los más eficientes que los de menor talla (Clase A).

La tasa de consumo de oxígeno también es dependiente del tamaño corporal y de la concentración de cobre en el baño terapéutico.

El efecto del sulfato de cobre en las concentraciones recomendadas para tratamientos terapéuticos (0.5 y $1.0 \text{ mg Cu}^{2+}/\text{l}$) es dependiente de la especie, del tamaño y de la condición fisiológica del organismo.

Los resultados del presente estudio son importantes para el cultivo óptimo de *C. auratus*, en la etapa juvenil, en cuanto al mantenimiento y alimentación. Asimismo, se recomienda evitar en lo posible, la manipulación de los peces cuando se someten a los baños terapéuticos, con el fin de enmascarar el estrés provocado por el ión cúprico y considerar la condición fisiológica y el tamaño de los peces, así como los niveles del ión cúprico en los tratamientos terapéuticos con sulfato de cobre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfaro, M. J. J. 1999. Instalación de acuarios marinos utilizando sistemas naturales de filtración biológica. Un gran reto para la acuicultura mexicana. III Encuentro Nacional de Acuarofilia 99. México.
- Arredondo-Figueroa, J. L. 1990. Estado actual de la reproducción inducida de ciprínidos alóctonos en México. *In*: De la Lanza-Espino, G. y J. L. Arredondo-Figueroa (Comps). La acuicultura en México: De los conceptos a la producción. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 55-66 pp.
- Arredondo-Figueroa, J. L. y S. D. Lozano-García. 2003. La acuicultura en México. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. México. 260 pp.
- Beaumont, W.M., Butler, P.J. y W. Taylor. 1995. Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to sub-lethal copper concentrations in soft acidic water and its effect upon sustained swimming performance. *Aquatic Toxicology* 33: 45-63.
- Bonami, J. R. Sin fecha. Prefacio de terapéutica de las enfermedades de los peces. *In*: Ocampo, L. y A. Auró (Eds). Sin fecha. Terapéutica de las enfermedades de los peces. Departamento de Fisiología y Farmacología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Universidad Nacional Autónoma de México. 131 pp.

Burggren, W. y J. L. Roberts. 1991. Respiration and metabolism. In: C.L. Prosser (Ed.), *Environmental and Metabolic Animal Physiology. Comparative Animal Physiology*, 4th Edition. John Wiley and Sons, Inc. Pub., New York. pp. 353-435.

Cárdenas, G. P., Cruz, P. J. y L. Ocampo. Sin fecha. Profilaxis y terapéutica de enfermedades bacterianas. *In: Ocampo, L. y A. Auró (Eds). Sin fecha. Terapéutica de las enfermedades de los peces. Departamento de Fisiología y Farmacología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 131 pp.*

Cházari, E. 1884. Piscicultura en agua dulce. Secretaría de Fomento. Reproducción facsimilar 1984. Secretaría de Pesca. 2^a ed. Ed. Porrúa. México. 828 pp.

Contreras, F. 1993. Efecto del nitrito sobre algunas respuestas fisiológicas de la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* (PISCES, CYPRINIDAE). Tesis. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 37 pp.

Contreras, F. y S. Espina. 1997. Influencia de la temperatura sobre la tasa respiratoria de la carpa herbívora expuesta a las mezclas de amonio y nitrito. *Acta Toxicológica Argentina* 5: 87-90.

Draper, N. y Smith, 1981. *Applied regresión analysis*. John Wiley and Sons Inc. New York. 709 p.

- De Boeck, G., Van der Ven, K., Hattink, J. y R. Blust. 2006. Swimming performance and energy metabolism of rainbow trout, common carp and gibel carp respond differently to sublethal copper exposure. *Aquatic Toxicology* 80: 92-100.
- De Boeck, G., Van der Ven, K., Meeus, W. y R. Blust. 2007. Sublethal copper exposure induces respiratory stress in common carp and gibel carp but not in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 144: 380-390.
- Espina, S., Alcaraz, G. y P. Dávalos. 1990. Efecto del nitrito sobre la función respiratoria de la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella*. XI Congreso Nacional de Zoología, Mérida, Yucatán, 28-31 de octubre de 1990.
- Espina, S., Salibián, A. y F. Díaz. 2000. Influence of cadmium on the respiratory function of the grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Water, Air, and Soil Pollution* 119: 1-10.
- Faith, B., Lomelí, L., Aguilera, P., Quintana, A., Zarza, E. y F. Obregón. 1986. Piscicultura de agua dulce. Manual-Recetario. Bagre-Carpa-Tilapia-Trucha. Secretaría de Pesca. México. 461 pp.
- FIRA. 1999. Opciones de financiamiento para el fomento y la consolidación de la producción ornamental. FONDEPESCA. 3er Encuentro Nacional de Acuarofilia. Cuernavaca, Morelos. Pág. 34.
- González Fierro. A., Maldonado, C., Cárdenas, R. y S. Espina. 1997a. Efecto agudo de niveles subletales de cadmio en juveniles de la carpa

- herbívora. *II Congreso Mexicano de Toxicología. La toxicología en México en el umbral del Siglo XXI*. México, D.F. 28 al 30 de mayo de 1997.
- González Fierro, A., Maldonado, C., Cárdenas, R. y S. Espina. 1997b. Tolerancia a la salinidad de la carpa herbívora expuesta al cadmio. *XIV Congreso Nacional de Zoología*. Guanajuato, Guanajuato, México. 4 al 7 de noviembre de 1997.
- Gündoğdu, A. y M. Erdem. 2008. The accumulation of the heavy metals (copper and zinc) in the tissues of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). *Journal of Fisheries Sciences* 2(1): 41-50.
- Hashemi, S., Blust, R. y G. De Boeck. 2008. The effect of starving and feeding on copper toxicity and uptake in Cu acclimated and non-acclimated carp. *Aquatic Toxicology* 86: 142-147.
- Heath, A. G. 1987. *Water Pollution and Fish Physiology*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 245 p.
- Heath, A. G. 1990. Summary and Perspectives. In: S. M. Adams (Ed.), *Biological Indicators of Stress in Fish*. American Fisheries Symposium 8. Bethesda, Maryland. pp. 183-191.
- Hernández- Avilés, J. L. y J. L. García-Calderón, 1990. La acuicultura. Hacia el manejo integrado de los recursos. *In: De la Lanza-Espino, G. y J. L. Arredondo-Figueroa (Comps). La acuicultura en México: De los conceptos a la producción*. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 15-37 pp.

- Hoaglin, D., Mosteller, F. y J. Tukey. 1991. *Fundamentals of exploratory analysis of variance*. John Wiley and Sons Inc., New York. 527 p.
- Hodson, P.V., Borgmann, U. y H. Schear. 1979. Toxicity of copper to aquatic biota. *In: J.O. Nriagu (Ed.), Copper in the Environment, Part II: Health Effect*. Wiley-Interscience, New York. pp. 307-372.
- Hoole, D., Bucke, D., Burgess, P. y I. Wellby. 2001. *Diseases of Carp and other Cyprinids Fishes*. Fishing News Books. A Division of Blackwell Science Ltd., Oxford. 264 p.
- Jiménez, H. E., Auró, A. A. y L. Ocampo. Sin fecha. Antisépticos y desinfectantes utilizados en piscicultura. *In: Ocampo, L. y A. Auró (Eds)*. Sin fecha. *Terapéutica de las enfermedades de los peces*. Departamento de Fisiología y Farmacología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 131 pp.
- Jiménez, C. A., Maldonado, C. y S. Espina. 2001. Estrés producido por el sulfato de cobre en juveniles de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*): tratamiento terapéutico. Resúmenes. XVI Congreso Nacional de Zoología. Zacatecas, Zacatecas. 56 p.
- Jobling, M. 1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman and Hall, Fish and Fisheries Series 13, New York. 309 p.
- Kinkelin, P., Michel, C. y P. Ghittino. 1985. *Tratado de las Enfermedades de los Peces*. Editorial Acribia, Zaragoza. 329 p.
- Kuri-Nivón, E. 1979. *Determinación del factor de condición múltiple (KM)*.

- Manual Técnico de Acuicultura. Departamento de Pesca, México. 21 p.
- Kunwar, P. S., Tudorache, C., Eyckmans, M., Blust, R. y G. De Boeck. 2008. Influence of food ration, copper exposure and exercise on the energy metabolism of common carp (*Cyprinus carpio*). *Com. Biochem. Physiol. C*. Doi: 10: 1016/j. cbpc. 2008.07.011.
- Lázaro-Chávez, E. 1985. *Sustancias, Desinfectantes y Drogas de Utilidad en las Piscifactorías*. AGT-Editor, México. 90 p.
- Leland, H. V. y J. S. Kuwabara. 1985. Heavy metals. *In*: G.M. Rand and S.R. Petrocelli (Eds.). *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications*. Hemisphere Publishing Corporation, New York. pp. 374-415.
- Lewis, M. 1978. Acute toxicity of copper, zinc and manganese in single and mixed salt solutions to juvenile longfin dace, *Agosia chrysogaster*. *J. Fis. Biol.* 13: 695-700.
- Ling, K. H., Sin, M. y T. J. Lam. 1993. Effect of copper sulfate on ichtyophthiriasis (white spot disease) in goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture* 118: 23-35.
- Lloyd, R. 1992. *Pollution and Freshwater Fish*. Fishing News Books. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford. 176 p.
- Luna-Figueroa, J., Díaz, F. y S. Espina. 2000. Consumo de oxígeno y excreción amoniacal de los juveniles de *Cichlasoma istlanum*

- alimentados con dietas comerciales. Resúmenes. VII Congreso Nacional de Ictiología. Ciudad de México. 3-4 p
- Luna-Figueroa, J., Díaz, H. F. y S. Espina. 2003. Preferred temperatura of the Mexican native Cichlid *Cichlasoma istlanum* (Jordan and Zinder, 1899). *Rev. Hidrobiológica*, 13 (4): 271-275.
- Luna-Figueroa, J. 2008. Técnicas de cultivo de peces de agua dulce. UAEM. *La jornada de Morelos*. Artículo en línea del 21 de julio de 2008.
- Lydy, M. J. y T. E. Wissing. 1988. Effect of sublethal concentrations of copper on the critical thermal maxima (CTMax) of the fantail (*Et-heostoma flabellare*) and johnny (*E. nigrum*) darters. *Aquatic Toxicology* 12: 311-322.
- Martty, A. H. Dr. 1989. *Los peces, sus enfermedades. Tomo I. Afecciones externas: parásitos y hongos*. Editorial Albatros. Argentina. 124 p.
- Medina-García, M. 1979. *El Factor de Condición Múltiple (KM) y su importancia en el manejo de la carpa de Israel (Cyprinus carpio specularis). Hembras en estado de madurez V (Nikolsky, 1963)*. Manuales Técnicos de Acuicultura. Departamento de Pesca. México. 1(1). 10 p.
- Michaels, V. K. 1988. *Carp farming*. Fishing News Books Ltd. Inglaterra. 207 p.
- Moyle P. B. y J. J. Cech Jr. 2004. *Fishes: an introduction to ichthyology*. 5ª Ed. Prentice Hall. Inc. United States. 726 p.
- Newman, M. C. y C. H. Jagoe. 1996. *Ecotoxicology*. A Hierarchical

- Treatment. CRP Press Inc. Boca Raton, Florida. 411 p.
- Olsson, P. E 1996. Metallothioneins in fish: Induction and use in environmental monitoring. *In*: Taylor, E. W. (Ed). Toxicology of aquatic pollution: Physiological ,molecular biology and cellular approaches. Society for experimental biology seminar. Series 57. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 187-203.
- Pelgrom, S. M. G. J., Lamers, L. P. M., Garritsen, J. A. M., Pels, B. M., Lock, R. A. C., Balm, P. M. H. y S. E. Wendelaar Bonga. 1994. Interactions between copper and cadmium during single and combined exposure in juvenile tilapia *Oreochromis mossambicus*: Influence of feeding condition on whole body metal accumulation and the effect of the metals on tissue water and ion content. *Aquatic Toxicology* 30: 117-135.
- Perschbacher, P. W. y W. A. Wurts. 1997. Effects of calcium and magnesium hardness on acute copper toxicity to juvenile channel cat-fish *Ictalurus punctatus*. World Aquaculture '97. The Annual International Conference and Exposition of the World Aquaculture Society. Seattle, Washington, USA. Abstract: 556.
- Rábago-Castro, J. L., Sánchez, J. G., Pérez-Castañeda, R. y A. González-González. 2006. Effects of the prophylactic use of Romet[®]-30 and copper sulfate on growth, condition and feeding indices in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 253: 343-349.
- Ramesh, M., Senthil-Kumaran, S., Kavith, C., Saravanan, M. y A. Mustafa. 2007. Primary stress responses of common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to copper toxicity. *Acta Ichthyol. Piscat.* 37(2): 81-85.

- Rodríguez-Gutiérrez, M. y C. Maldonado. 1996. La acuicultura en México. Bases conceptuales y principios. *Oceanología (1)*: 7-26.
- Sánchez, M. C. 1994. *Cultivo de Peces de Ornato*. Editorial Sepes - Cicro, México. 29 p.
- Saladino, G. A. 2001. *El sabio José Antonio Alzate y Ramírez de Santillana*. Universidad Autónoma del Morelos (Ed). 92 p.
- Schäperclaus, W. 1992. *Fish Diseases*. Editorial A. Balkema. Rotterdam. Vol. 1 y 2. 1398 p.
- Schreck, C. B. 1990. Physiological, behavioral, and performance indicators of stress. In: S. M. Adams (Ed.). *Biological Indicators of Stress in Fish*. American Fisheries Symposium 8. Bethesda, Maryland. pp. 29-37.
- Sloman, K. A. 2003. Cooper, cortisol and the common carp. *The Journal of Experimental Biology* 206, 3309. On line.
- Sprague, J. B. 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish-III. (review paper). Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Research Pergamon Press. (5)*: 245-266.
- Sprague, J. B. 1985. Factors that modify toxicity. In: G.M. Rand and S.R. Petrocelli (Eds.). *Fundamentals in Aquatic Toxicology: Methods and Applications*. Hemisphere Publishing Corporations. New York. pp-124-163.
- Treves-Brown, K.M. 2000. *Applied Pharmacology*. Kluger Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 309 p.

- Vázquez, V. T. 2003. *Determinación del estrés producido por el tratamiento terapéutico con sulfato de cobre en Carassius auratus* (Pisces: Cyprinidae). Informe Final de Servicio Social. Licenciatura en Biología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Depto. El Hombre y su Ambiente, Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco. 39 p.
- Vázquez, T., Maldonado, C., Marañón, S. y S. Espina. 2005. Estrés producido por concentraciones terapéuticas de sulfato de cobre en *Carassius auratus* (Pisces, Cyprinidae). *Hidrobiológica* 15(1): 35-42.
- Waiwood, K.G. y F.W.H. Beamish. 1978. The effect of copper, hardness and pH on growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Fish Biology* 13: 591-598.
- Wedemeyer, G.A. y D.J. Mcleay. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. *In: A.D. Pickering (Ed.). Stress and Fish*. Academic Press, London. pp. 247-275.
- Wedemeyer, G.A. 1996. *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. Chapman and Hall, New York. 232 p.
- Wedemeyer, G.A. 1997. Effect of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. *In: G.K. Iwama, A.D. Pickering, J:P: Sumpter and C.B. Schreck (Eds.) Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 35-71.

Estrés producido por concentraciones terapéuticas de sulfato de cobre en *Carassius auratus* (Pisces, Cyprinidae)

Stress produced by therapeutic copper sulphate concentrations on *Carassius auratus* (Pisces, Cyprinidae)

Teresa Vázquez¹, Catalina Maldonado², Samuel Marañón¹ y Sonia Espina²

¹Laboratorio de Sistemas Acuícolas. Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco. 04960 México, D. F. México
e. mail: mahs7513@correo.xoc.uam.mx

²Laboratorio de Ecofisiología, Departamento de Ecología y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 04510 México D. F. México.

Vázquez T., C. Maldonado, S. Marañón y S. Espina. 2005. Estrés producido por concentraciones terapéuticas de sulfato de cobre en *Carassius auratus* (Pisces, Cyprinidae). *Hidrobiológica* 15 (1):35-42.

RESUMEN

Con el fin de evaluar si el tratamiento terapéutico con sulfato de cobre producía estrés, los juveniles de *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) se expusieron en baños de sulfato de cobre por 30 min a concentraciones de 0.5 y 1.0 mg Cu²⁺/l, denominadas C1 y C2, respectivamente. En cada experimento se incluyeron grupos testigo. El estrés se cuantificó mediante la prueba del oxígeno disuelto residual (ODR, mg O₂/l) en carpas pequeñas (Clase A: 1.67 ± 0.12 g) y grandes (Clase B: 2.57 ± 0.18 g). Los resultados demostraron que para la Clase A, la exposición a C2 fue estresante; el ODR fue 35.7% mayor que en los testigos y 50% más alto que en C1 (P < 0.05). El consumo de oxígeno fue 39.5% más elevado que en los testigos y 52.6% mayor que en C1 (P < 0.05). Al comparar ambas clases de peso, en C1 el ODR de la Clase A fue similar al de la Clase B y en C2 fue 42.9% mayor que en ésta. La tasa de consumo de oxígeno (TCO) fue 32.7% menor en la Clase A que en la Clase B y en C2, 39.5% más alta en la primera. La eficiencia de extracción de oxígeno (90%) fue similar en todos los grupos. Los resultados obtenidos son importantes para el cultivo de *C. auratus* juvenil considerando mantenimiento y alimentación (36% proteína). Para los tratamientos con sulfato de cobre se recomienda el procedimiento empleado en este estudio, con objeto de evitar que el efecto adverso del cobre sea enmascarado.

Palabras clave: *Carassius auratus*, sulfato de cobre, pruebas de desafío, oxígeno disuelto residual, estrés.

ABSTRACT

To evaluate if therapeutic treatment with copper sulfate produced stress on juvenile *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), fish were exposed to copper bath during 30 min, copper concentrations were 0.5 and 1.0 mg Cu²⁺/l, named C1 and C2, respectively. Control groups were included in each experiment. Fish stress was measured by challenge test of residual dissolved oxygen (RDO, mg O₂/l) in small (Class A: 1.67 ± 0.12 g) and large carps (Class B: 2.57 ± 0.18 g). Results show that C2 stressed small carp. Obtained RDO in those carps was 35.7% higher than control fish and 35.5% higher than fish exposed to C1 (P < 0.05). Oxygen consumption was 39.5% more elevated than control group and 52.6% higher than C1 (P < 0.05). Both weight classes were compared; RDO-Class A was similar to Class B in C1, and in C2 was 42.9% higher than this one. The RDO was 32.7% smaller in Class A than in Class B in C1 but 39.5% higher than this in C2. The oxygen extraction efficiency (90%) was

similar in all groups. Results obtained in this study, considering maintenance and feeding (36% protein), are important to cultivate *C. auratus* juveniles. In therapeutic treatments with copper sulphate, we recommend the procedure used in this work in order to avoid masking the copper noxious effect.

Key words: *Carassius auratus*, copper sulphate, challenge test, residual dissolve oxygen, stress.

INTRODUCCIÓN

La carpa dorada *Carassius auratus* (Linneus, 1758) es uno de los peces de ornato más ampliamente cultivado en el país (Sánchez, 1994); su calidad comercial está determinada por la forma, el tamaño y el color. Una de las estrategias de producción para mantener dicha condición de calidad, es la administración de tratamientos terapéuticos con diversas sustancias y medicamentos con el fin de controlar organismos perjudiciales.

Las funciones fisiológicas de los peces pueden ser alteradas por factores adversos del medio. Los estresores ambientales de origen natural o producidos por el hombre alteran la fisiología normal del pez, de tal manera que ya no es capaz de resistir el efecto de otros estresores (Wedemeyer & McLeay, 1981; Heath, 1987; Schreck, 1990).

El estrés producido en los peces en cautiverio se debe a la manipulación a la que se someten frecuentemente, o bien al deterioro de la calidad de agua con bajas concentraciones de oxígeno disuelto, elevados niveles de amonio y de anhídrido carbónico, exposición a temperaturas adversas; asimismo, el mantenimiento en aguas demasiado suaves o demasiado duras les provoca estrés. Estas condiciones favorecen tanto el desarrollo de patógenos causantes de enfermedades asociadas al estrés, como las inducidas por parásitos. Entre las primeras se mencionan las provocadas por las bacterias obligatorias y facultativas, por los hongos y por los virus. Entre los parásitos se incluyen los pertenecientes a los géneros *Argulus spp.*, *Gyrodactylus spp.*, *Tricodina spp.* e Ichthyophthirius spp. (Wedemeyer, 1996, 1997). Por estas razones, es común que en el manejo de los cultivos de peces se establezcan acciones específicas de sanidad acuícola entre las que se recomienda el tratamiento terapéutico con sulfato de cobre; esta sal se emplea en el control de las enfermedades bacterianas de las branquias y en el de los ectoparásitos, como protozoos y tremátodos (Hoole *et al.*, 2001). El tratamiento consiste en sumergir a los peces en baños con sulfato de cobre por un cierto período; es necesario tener en cuenta que el propio tratamiento terapéutico puede provocar estrés en los animales, ya sea por la manipulación a la que se someten o porque la concentración de cobre es inadecuada (Kinkelin *et al.*, 1985). También es importante considerar que el ión cúprico es tóxico para los organismos acuáticos y que su toxicidad es dependiente del pH, la dureza y la temperatura del agua (Kinkelin *et al.*, 1985; Lázaro-Chávez, 1985; Lloyd, 1992;

Newman & Jagoe, 1996); de la cantidad de materia orgánica presente en el medio (Lloyd, 1992; Leland & Kuwabara, 1985); de la especie y de su estado de desarrollo, así como del estado fisiológico del organismo (Pelgrom *et al.*, 1994).

En algunos países el sulfato de cobre ha sido incluido en la lista de autorizaciones para el mercado para ser usado no sólo en especies de ornato sino también en las de consumo humano. Cabe recordar que la autorización de medicamentos para la acuicultura, establece la calidad de las sustancias medicinales disponibles y la seguridad y eficacia en el uso. En la Unión Europea y en EEUU esto está cubierto en la legislación denominada Autorización para el Mercado (MA) (Trevés-Brown, 2000).

Existen varios indicadores que proporcionan información sobre el estado general de la salud del animal y cuantifican el grado de estrés producido cuando las funciones normales del organismo han sido deterioradas por los estresores; en tal condición la energía necesaria para llevarlas a cabo no es suficiente debido a que las respuestas de resistencia son procesos que generalmente demandan gran cantidad de energía (Burggren & Roberts, 1991; Jobling, 1994). Por lo tanto, el deterioro del pez se determina en función de su capacidad para enfrentar una nueva condición estresante; con este fin, se han diseñado procedimientos denominados pruebas de desempeño o de desafío en las que se postula la acción sinérgica de los estresores (Wedemeyer & McLeay, 1981; Wedemeyer, 1996, 1997).

En tratamientos terapéuticos, el sulfato de cobre se administra sólo por inmersión y aunque tiene acción biocida beneficiosa en los sistemas de cultivo, se ha demostrado que también puede tener efectos perjudiciales en los peces (Heath, 1987; Jobling, 1994; Beaumont *et al.*, 1995; Trevés-Brown, 2000).

Considerando lo expuesto anteriormente, el presente estudio se realizó con el propósito de evaluar el efecto del sulfato de cobre en concentraciones recomendadas para tratamientos terapéuticos, en los juveniles de *C. auratus*

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó por fases, de acuerdo a la disponibilidad de espacio en el Laboratorio de Ecofisiología de la Facul-

tad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Por esta razón, se adquirieron dos grupos de juveniles de 4 en dos granjas, ubicadas en el Municipio de Jiutepec, Morelos. La edad de los juveniles fue de 60 ± 10 días, aproximadamente.

Los organismos se mantuvieron en condiciones de laboratorio en tres acuarios de 80 l, a una densidad de 1 g/l, con agua filtrada por carbón activado y aireación permanente; el volumen perdido por evaporación se repuso. Las características fisicoquímicas del agua fueron las siguientes: temperatura 25 ± 1 °C, (calentadores sumergibles Hagen), el oxígeno disuelto fue 5.9 ± 0.1 mg O₂/l (YSI-54ARC; ± 0.01 mg O₂/l) y el pH a 7.8 ± 0.3 (potenciómetro Walklab Trans-Instrument; ± 0.01 unidades). Diariamente se suministró a los peces alimento comercial para carpa dorada, Wardley®, 40% de proteína, en una proporción del 6% del peso corporal, dividido en dos raciones diarias. Esta dieta se complementó con alimento vivo, *Artemia* sp. proporcionada dos veces por semana. El alimento remanente y las heces se retiraron del fondo de los acuarios con redes de luz de malla de 0.3 mm y mediante un sifón, una vez por semana. El fotoperíodo se fijó en 12 h luz: 12 h oscuridad.

En estas condiciones los peces permanecieron durante 45 días, al término de los cuales se seleccionaron los sujetos de experimentación, antes de ser sometidos a los tratamientos terapéuticos, se formaron dos grupos: Clases A y B, acorde al peso de los organismos evaluado con carga de agua en balanza de plato OHAUS (± 0.01 g). Al término de los experimentos se midió la longitud total con vernier (± 0.1 cm). Los peces más pequeños, de 1.50 a 1.74 g y 3.41 a 4.70 cm aproximadamente, se incluyeron en la Clase A y los más grandes de 2.37 a 2.70 g y 5.26 a 5.64 cm, en la Clase B.

En la fase experimental, las carpas de ambas Clases se distribuyeron en acuarios de 40 l y se mantuvieron por cinco días en condiciones idénticas a las del periodo anterior.

De estos acuarios se seleccionaron al azar 12 peces con el fin de medir los niveles de oxígeno residual (mg O₂/l) en los peces expuestos a las diferentes condiciones experimentales. La captura se llevó a cabo con cajas de plástico de base cuadrada (10x10x15 cm) con tapa, forradas con una red de 0.3 mm de luz de malla. Los baños terapéuticos se efectuaron sumergiendo los peces, contenidos en dichos dispositivos, en cubetas de plástico con 4 l de las respectivas soluciones de CuSO₄·5 H₂O (Merck, 99.9%): 0 (testigos), 0.5 y 1.0 mg Cu²⁺/l aireadas de forma gradual y mantenidas a 25 ± 1.0 °C. Al finalizar el lapso de exposición de 30 min, las cajas con los peces se sumergieron durante 2 min en agua limpia, de las mismas características que las de mantenimiento, tres veces sucesivas. En seguida, los organismos se liberaron en acuarios de vidrio de 15 l y se observaron después de 1, 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h. Durante el período de observación los peces se alimen-

taron como anteriormente y de igual manera se mantuvo la limpieza de los acuarios. Después de este lapso no se les proporcionó alimento las siguientes 24 h, con objeto de efectuar en ayunas las pruebas de desafío del oxígeno disuelto residual (ODR, mg O₂/l).

Para medir el ODR, los peces se trasladaron individualmente a frascos de vidrio de 150 ml con aireación constante suministrada a través de pipetas Pasteur y a la temperatura experimental, mantenida en un baño termostático. La captura y el traslado se efectuó en vasos de precipitado (250 ml) con el fin de evitar el estrés producido por la manipulación. Después de 1 h en estas condiciones, se retiraron las mangueras de aireación de cada cámara, se midió la concentración de oxígeno inicial con un sensor de oxígeno conectado a un oxímetro (YSI 54 ARC; ± 0.01 mg O₂/l) y se sellaron los frascos con papel encerado (Parafilm) cuidando que no quedaran burbujas en su interior. El punto final de la prueba fue la muerte de los peces. El criterio de muerte fue el cese del batido opercular; en este momento se registró el tiempo de muerte (h). Se abrieron los frascos, los peces se retiraron rápidamente, se introdujo un agitador magnético en el frasco y se midió la concentración del oxígeno disuelto residual (ODR); los resultados se expresaron en mg O₂ h⁻¹ g⁻¹.

La tasa de consumo de oxígeno (mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ PH) se calculó por diferencia entre los valores de la concentración de oxígeno al inicio y al final de los experimentos. La eficiencia de extracción del gas (EEO, %) se determinó en relación a los niveles iniciales del oxígeno disuelto en el medio.

Al finalizar los experimentos se midió el peso de los juveniles (g) y su longitud total (cm).

Con objeto de caracterizar la variabilidad de los datos obtenidos de los diferentes grupos de peces experimentales y testigos de ambas granjas, se describió gráficamente su comportamiento por diagramas de cajas (Hoaglin *et al.*, 1991). Las diferencias se estimaron significativas cuando no hubo traslape entre los intervalos de confianza de la mediana ($\alpha = 0.05$). En el análisis estadístico se empleó el programa de cómputo Statgraphics (Statist. Graph. Syst. Co., 1985).

RESULTADOS

La sobrevivencia de los peces después de 72 h de haber sido expuestos al sulfato de cobre fue del 100%.

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos de los juveniles de *C. auratus* de la Clase A (1.67 ± 0.12 g) y de la Clase B (2.57 ± 0.18 g). Se muestran los valores medianos e intervalos de confianza de la mediana, correspondientes al oxígeno disuelto residual (ODR, mg O₂ h⁻¹ g⁻¹), a la tasa de

Tabla 1. Oxígeno disuelto residual (ODR, mg O₂h⁻¹g⁻¹), tasa de consumo de oxígeno (TCO₂, mg h⁻¹g⁻¹) y eficiencia de extracción de oxígeno (EEO, %) en *Carrassius auratus* de dos clases de tallas (A y B, g peso húmedo) expuestos al sulfato de cobre. Mediana e intervalo de confianza de la mediana (95%). (N)= Número de organismos

mg Cu ²⁺ /l		Clase A	Clase B
C0	ODR	0.09 (0.07, 0.11)	0.08 (0.06, 0.10)
	TCO	0.92 (0.75, 1.09)	0.88 (0.52, 1.24)
	EEO	90 (89, 91)	97 (96, 98)
	Peso, g	1.68 (1.39, 1.97)	2.98 (2.41, 3.55)
	(N)	(12)	(11)
C1T	ODR	0.07 (0.05, 0.09)	0.06 (0.04, 0.08)
	CO	0.72 (0.52, 0.92)	1.07 (0.90, 1.25)
	EEO	90 (88, 92)	96 (95, 97)
	Peso, g	1.34 (1.08, 1.60)	2.48 (2.00, 2.96)
	(N)	(12)	(11)
C2	ODR	0.14 (0.12, 0.16)	0.08 (0.06, 0.10)
	TCO	1.52 (1.34, 1.70)	0.92 (0.76, 1.08)
	EEO	91 (89, 93)	96 (94, 98)
	Peso, g	2.00 (1.73, 2.27)	2.24 (1.77, 2.71)
	(N)	(12)	(8)

C₀: Testigos, C₁: 0.5 mg Cu²⁺/l; C₂: 1.0 mg Cu²⁺/l

consumo de oxígeno (TCO, mg O₂ h⁻¹ g⁻¹) y a la eficiencia de extracción de oxígeno (EEO, %) del grupo testigo y de los grupos experimentales.

En la Clase A se observó que el ODR en los organismos expuestos a 0.5 mg Cu²⁺/l fue similar al de los testigos, pero que al elevarse la concentración de cobre, el ODR se incrementó significativamente ($P < 0.05$). En la figura 1 se observa que el aumento relativo de ODR de los peces expuestos a 1.0 mg Cu²⁺/l (C2) con respecto a los testigos, fue del 35.7% y con los expuestos a 0.5 mg Cu²⁺/l (C1) fue del 50%.

En referencia al consumo de oxígeno, los peces Clase A expuestos a la menor concentración de cobre tuvieron tasas similares a la de los testigos (Tabla 1; $P > 0.05$) y superiores a las carpas expuestas a la mayor concentración de cobre (C2) cuyos valores fueron 39.5% más altos que la de los testigos y 52.6% más elevados que en los peces expuestos a 0.5 mg Cu²⁺/l (C1) como se aprecia en la figura 1. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

En la Clase B los valores de ODR de los peces expuestos a ambas concentraciones de cobre, fueron similares al testigo (Tabla 1; $P > 0.05$).

La eficiencia de EEO, independientemente del tamaño corporal, fue superior al 90% tanto en los peces testigos como en los experimentales (Tabla 1).

Al establecer las comparaciones de ODR entre ambas Clases de peso, no se obtuvieron diferencias ($P > 0.05$) entre los testigos ni entre los grupos de peces expuestos a 0.5 mg Cu²⁺/l (Tabla 1; Fig.1). En cambio cuando los peces se expusieron a 1.0 mg Cu²⁺/l el ODR de las carpas Clase A fue 42.9% más alto que en la Clase B ($P < 0.05$) (Fig. 2). En referencia al consumo de oxígeno (Tabla 1), no hubo diferencias entre los grupos testigo de ambas clases de peso (Tabla 1; $P > 0.05$). En el tratamiento con 0.5 mg Cu²⁺/L la tasa respiratoria fue 32.7% más baja en la Clase A que en la Clase B ($P > 0.05$), en cambio en el tratamiento con 1.0 mg Cu²⁺/l los peces Clase A tuvieron una tasa de consumo de oxígeno 39.5% mayor que los de la Clase B ($P > 0.05$) (Fig. 2).

Al comparar la eficiencia de extracción de oxígeno (EEO), entre las diferentes clases de peso, se observó tanto en los peces testigo como en los expuestos a las diferentes concentraciones del ión cúprico, que los peces grandes fueron más eficientes que los de menor talla (Tabla 1). En los testigos de clase B los valores de EEO fueron 7% superiores a

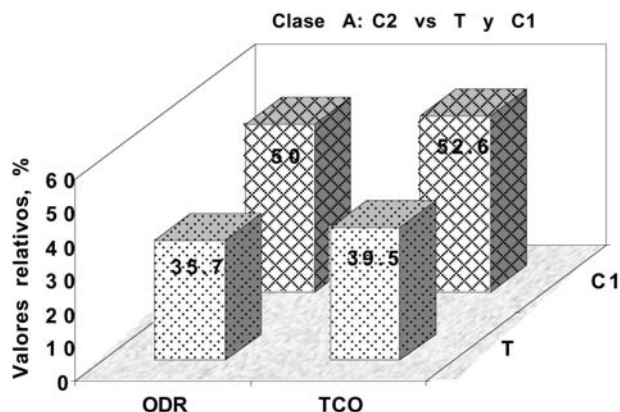


Fig1. Valores de las tasas fisiológicas de los juveniles de *Carassius auratus* Clase A, expuestas a 1.0 mg Cu^{2+}/l (C_2) relativos a las del grupo testigo (T) y a las expuestas a 0.5 mg Cu^{2+}/l (C_1). ODR:oxígeno disuelto residual; TCO: consumo de oxígeno.

los de clase A; en los especímenes expuestos a 0.5 y 1.0 mg Cu^{2+}/l respectivamente (Tabla 1). Los peces de clase B tuvieron una eficiencia 6 y 5% mayor que los de clase A, estas pequeñas diferencias fueron significativas ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

Los especímenes empleados en este trabajo se obtuvieron en el Estado de Morelos en dos granjas aledañas con el fin de cubrir los requisitos estipulados en el mismo, en cuanto a la disponibilidad de organismos de las tallas adecuadas. Los resultados indicaron que la condición fisiológica de ambos grupos fue diferente; el peso corporal de los peces de la primera granja (Clase A) era menor que el de la segunda (Clase B) como se señaló anteriormente. Al respecto, Vázquez (2003) estimó la condición fisiológica de las carpas a través del factor de condición múltiple (KM) y encontró que dicha condición era superior en los peces Clase B. La variabilidad entre el KM observado en peces probablemente es reflejo de las diferencias en la calidad, la cantidad y la frecuencia del suministro del alimento (Kuri-Nivón, 1979) en las dos granjas, debido a que el alimento es el principal factor biótico que se debe tener en cuenta en el cultivo de peces (Pelgrom *et al.*, 1994). Por lo tanto, los juveniles de *C. auratus* de ambas granjas, se mantuvieron por más de un mes en condiciones controladas antes de exponerlos al sulfato de cobre; el tamaño corporal se consideró como otra variable.

El sulfato de cobre es un compuesto de uso tradicional en la piscicultura por su alto poder biocida; se emplea frecuentemente en la preparación de estanques y pozas de cultivo (Lloyd, 1992) y también es ampliamente utilizado en

tratamientos terapéuticos (Treves- Brown, 2000). Sin embargo, en concentraciones relativamente altas, dependientes de la especie y del tamaño, el ión cúprico tiene un efecto nocivo sobre el sistema respiratorio de los peces. En concentraciones subletales el cobre reduce el contenido de oxígeno y el pH sanguíneos (Leland & Kuwabara, 1985; Lydy & Wising, 1988).

En los juveniles de *C. auratus* se utilizó la prueba de desafío del oxígeno disuelto residual (ODR), como indicador del estrés producido por el ión cúprico, en concentraciones recomendadas para los tratamientos terapéuticos (Kinkelin *et al.*, 1985; Lázaro-Chávez, 1985) suponiendo que si la exposición al cobre provocaba estrés en las carpas, éstas no serían capaces de resistir la acción de otro estresor como es en este caso, el medio hipóxico (Wedemeyer & McLeay, 1981; Schreck, 1990). Por estas razones se seleccionó la prueba de desafío del ODR, ya que el cobre altera la tasa respiratoria de los peces, en tanto que el medio hipóxico aumenta el efecto dañino de los estresores (Lydy & Wising, 1988; Wedemeyer, 1997).

En los juveniles de la carpa dorada *C. auratus* se comprobó a través del ODR, que los baños de 30 min de duración en sulfato de cobre (1.0 mg Cu^{2+}/l) provocaban estrés en los peces pequeños, en cambio en los de mayor tamaño no se detectaron los efectos adversos del metal, aparentemente. Estos resultados coinciden con Heath (1990), quien menciona que los peces pequeños son más afectados por el cobre debido a que lo acumulan más rápidamente que los grandes; el autor refiere que esto se debe a que la tasa de captación del metal, a través de la branquia, se relaciona con la tasa metabólica peso-específica. Heath (1987) también indica que la magnitud del oxígeno residual es proporcional a la concen-

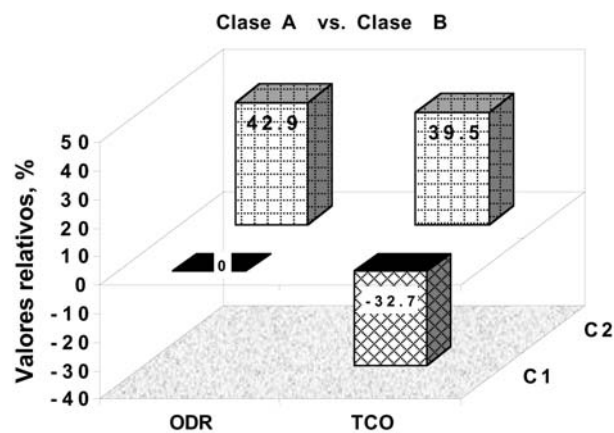


Fig. 2. Valores de las tasas fisiológicas de los juveniles de *Carassius auratus* Clase A, expuestas a 0.5 mg Cu^{2+}/l (C_1) 1.0 mg Cu^{2+}/l (C_2) relativos a los de la Clase B. ODR: oxígeno disuelto residual; TCO: consumo de oxígeno.

tración del tóxico a la que se exponen los peces, lo que no se pudo comprobar en la carpa dorada ya que sólo la mayor concentración de cobre produjo estrés en las carpas pequeñas y no tuvo efecto en las de mayor tamaño, como se estableció anteriormente (Vázquez, 2003).

De igual manera, los baños terapéuticos con sulfato de cobre durante 10, 20 30 y 60 min resultaron estresantes para la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844), con un deterioro mayor en los peces de menor tamaño, independientemente del tiempo de exposición (Jiménez *et al.*, 2000). En salmónidos (*Onchorynchus mykiss*: Walbaun, 1792) las concentraciones subletales del ión cúprico también tienen efectos nocivos para los organismos (Hodson *et al.*, 1979), lo cual se manifiesta en una mayor susceptibilidad a las infecciones comprobada mediante pruebas de desafío (Trevés-Brown, 2000).

La alcalinidad y la dureza total del agua, el pH y la temperatura modifican la toxicidad del cobre, mientras mayor sea el contenido de calcio y menor la acidez, menor será la toxicidad del ión cúprico, probablemente debido a la disminución de la permeabilidad de los tejidos y a la acción del ión calcio en el epitelio branquial donde produce cambios en la carga eléctrica haciéndolo más positivo, por lo que el catión sería repelido (Waiwood & Beamish, 1978; Sprague, 1985; Jobling, 1994; Newman & Jagoe, 1996; Perschbacher & Wurts, 1997). En los juveniles de *C. auratus* no se observó mortalidad durante los períodos de mantenimiento y tratamiento con cobre, ni en las 72 h postratamiento, lo que se atribuye a que las variables fisicoquímicas del agua mencionadas fueron adecuadas para las carpas más grandes y disminuyeron el estrés en las pequeñas. El tratamiento con sulfato de cobre consistió en la inmersión de los peces por 30 min, tiempo suficiente para la incorporación del metal acorde a Ling *et al.* (1993), quienes usaron la sal con objeto de proteger a la carpa dorada contra patógenos; indican que en las carpas expuestas a 288 µg/l de sulfato de cobre durante 15, 30, 60 y 120 min, el cobre fue absorbido durante todo el período de exposición. Cabe mencionar que la carpas en este trabajo, estuvieron en ayunas durante 48 h considerando toda la fase experimental y las 24 h previas. Como la materia orgánica ambiental y por ende la producción de heces disminuye la disponibilidad del cobre al formar complejos (Leland & Kuwabara, 1985; Heath, 1987; Jobling, 1994; Pelgrom *et al.*, 1994); tal situación favorable, pudo haberse presentado durante el período postratamiento, debido a la producción de heces de los peces alimentados en ese periodo. El cobre presente en el medio sería proveniente de la depuración del metal captado por los peces; éste proceso es lento ya que niveles importantes son retenidos en los organismos por más de dos semanas (Ling *et al.*, 1993; Trevés-Brown, 2000).

Con respecto al consumo de oxígeno, los organismos acuáticos tienen la capacidad para sobrevivir en condiciones deficientes en oxígeno, modificando sus respuestas respiratorias; en estas condiciones los peces pueden aumentar la frecuencia del batido opercular y la eficiencia de extracción de oxígeno del disponible en el medio, manteniendo constante la tasa de consumo de oxígeno (Burggren & Roberts, 1991). En contraste, en los juveniles de *C. auratus* se encontró un aumento en la tasa de consumo de oxígeno dependiente del tamaño corporal y de la concentración de cobre en el baño terapéutico.

En referencia a la tasa de extracción de oxígeno del disponible en el medio, ésta es considerada como indicador de los mecanismos de compensación fisiológica asociados al peso corporal, lo que fue comprobado en los juveniles de *C. idella* expuestos a concentraciones subletales de contaminantes endógenos como amonio y nitritos (Contreras & Espina, 1997) y exógenos como el cadmio (Espina *et al.*, 2000). En los juveniles de *C. auratus* al ser expuestos al cobre, la eficiencia de extracción se mantuvo relativamente alta (89-92%) aunque la influencia del peso se manifestó solo ligeramente (5- %). Tal discrepancia, probablemente se deba a las diferencias existentes entre los metales utilizados, ya que el cobre en contraste con el cadmio, es un metal esencial; también se debe considerar el estrecho intervalo de peso de los ejemplares de carpa dorada empleados en este trabajo en comparación con la amplitud del mismo en *C. idella*.

Los resultados del presente estudio son importantes para el cultivo óptimo de *Carassius auratus*, en la etapa juvenil, en cuanto al mantenimiento y alimentación. Asimismo, se recomienda evitar en lo posible, la manipulación de los peces cuando se someten a los baños terapéuticos, con el fin de enmascarar el estrés provocado por el ión cúprico y considerar la condición fisiológica y el tamaño de los peces, así como los niveles del ión cúprico en los tratamientos terapéuticos con sulfato de cobre.

REFERENCIAS

- BEAUMONT, W.M., P.J. BUTLER & W. TAYLOR. 1995. Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to sub-lethal copper concentrations in soft acidic water and its effect upon sustained swimming performance. *Aquatic Toxicology* 33: 45-63.
- BURGGREN, W. & J.L. ROBERTS. 1991. Respiration and metabolism. In: C.L. Prosser (Ed.), *Environmental and Metabolic Animal Physiology. Comparative Animal Physiology*, 4th Edition. John Wiley and Sons, Inc. Pub., New York. pp. 353-435.
- CONTRERAS, F. & S. ESPINA. 1997. Influencia de la temperatura sobre la tasa respiratoria de la carpa herbívora expuesta a las mezclas de amonio y nitrito. *Acta Toxicológica Argentina* 5: 87-90.

- ESPINA, S., A. SALIBIÁN & F. DÍAZ. 2000. Influence of cadmium on the respiratory function of the grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Water, Air, and Soil Pollution* 119: 1-10.
- HEATH, A.G. 1987. *Water Pollution and Fish Physiology*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 245 p.
- HEATH, A.G. 1990. Summary and Perspectives. In: S. M. Adams (Ed.), *Biological Indicators of Stress in Fish*. American Fisheries Symposium 8. Bethesda, Maryland. pp. 183-191.
- HOAGLIN, D., F. MOSTELLER & J. TUKEY. 1991. *Fundamentals of exploratory analysis of variance*. John Wiley and Sons Inc., New York. 527 p.
- HODSON, P.V., U. BORGMANN & H. SCHEAR. 1979. Toxicity of copper to aquatic biota. In: J.O. Nriagu (Ed.), *Copper in the Environment*, Part II: Heath Effect. Wiley-Interscience, New York. pp. 307-372.
- HOOLE, D., D. BUCKE, P. BURGESS & I. WELLBY. 2001. *Diseases of Carp and other Cyprinids Fishes*. Fishing News Books. A Division of Blackwell Science Ltd., Oxford. 264 p.
- JIMÉNEZ, C.A., C. MALDONADO & S. ESPINA. 2000. Estrés producido por el sulfato de cobre en juveniles de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*): tratamiento terapéutico. Resúmenes. Congreso Nacional de Zoología. Zacatecas, Zacatecas. 56 p.
- JOBLING, M. 1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman and Hall, Fish and Fisheries Series 13, New York. 309 p.
- KINKELIN, P., C. MICHEL & P. GHITTINO. 1985. *Tratado de las Enfermedades de los Peces*. Editorial Acribia, Zaragoza. 329 p.
- KURI-NIVÓN, E. 1979. *Determinación del factor de condición múltiple (KM)*. Manual Técnico de Acuicultura. Departamento de Pesca, México. 21 p.
- LÁZARO-CHÁVEZ, E. 1985. *Sustancias, Desinfectantes y Drogas de Utilidad en las Piscifactorías*. AGT-Editor, México. 90 p.
- LELAND, H.V. & J.S. KUWABARA. 1985. Heavy metals. In: G.M. Rand and S.R. Petrocelli (Eds.). *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications*. Hemisphere Publishing Corporation, New York. pp. 374-415.
- LING, K.H., Y.M. SIN & T.J. LAM. 1993. Effect of copper sulfate on ichthyophthiriasis (white spot disease) in goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture* 118: 23-35.
- LLOYD, R. 1992. *Pollution and Freshwater Fish*. Fishing News Books. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford. 176 p.
- LYDY, M.J. & T.E. WISSING. 1988. Effect of sublethal concentrations of copper on the critical thermal maxima (CTMax) of the fantail (*Etheostoma flabellare*) and johnny (*E. nigrum*) darters. *Aquatic Toxicology* 12: 311-322.
- NEWMAN, M.C. & C.H. JAGOE. 1996. *Ecotoxicology*. A Hierarchical Treatment. CRP Press Inc. Boca Raton, Florida. 411 p.
- PELGROM, S.M.G.J., L.P.M. LAMERS, J.A.M. GARRITSEN, B.M. PELS, R.A.C. LOCK, P.M.H.
- BALM & S.E. WENDELAAR BONGA. 1994. Interactions between copper and cadmium during single and combined exposure in juvenile tilapia *Oreochromis mossambicus*: Influence of feeding condition on hole body metal accumulation and the effect of the metals on tissue water and ion content. *Aquatic Toxicology* 30: 117-135.
- PERSCHBACHER, P.W. & W.A. WURTS. 1997. Effects of calcium and magnesium hardness on acute copper toxicity to juvenile channel catfish *Ictalurus punctatus*. World Aquaculture '97. The Annual International Conference and Exposition of the World Aquaculture Society. Seattle, Washington, USA. Abstract: 556.
- SÁNCHEZ, M.C. 1994. *Cultivo de Peces de Ornato*. Editorial Sepes - Ciro, México. 29 p.
- SCHRECK, C.B. 1990. Physiological, behavioral, and performance indicators of stress. In: S. M. Adams (Ed.). *Biological Indicators of Stress in Fish*. American Fisheries Symposium 8. Bethesda, Maryland. pp. 29-37.
- SPRAGUE, J.B. 1985. Factors that modify toxicity. In: G.M. Rand and S.R. Petrocelli (Eds.). *Fundamentals in Aquatic Toxicology: Methods and Applications*. Hemisphere Publishing Corporations. New York. pp. 124-163.
- TREVES-BROWN, K.M. 2000. *Applied Pharmacology*. Kluger Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 309 p.
- VÁZQUEZ, V.T. 2003. *Determinación del estrés producido por el tratamiento terapéutico con sulfato de cobre en Carassius auratus* (Pisces: Cyprinidae). Informe Final de Servicio Social. Licenciatura en Biología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Depto. El Hombre y su Ambiente, Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco. 39 p.
- WAIWOOD, K.G. & F.W.H. BEAMISH. 1978. The effect of copper, hardness and pH on growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Fish Biology* 13: 591-598.
- WEDEMEYER, G.A. & D.J. MCLEAY. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: A.D. Pickering (Ed.). *Stress and Fish*. Academic Press, London. pp. 247-275.
- WEDEMEYER, G.A. 1996. *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. Chapman and Hall, New York. 232 p.
- WEDEMEYER, G.A. 1997. Effect of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter and C.B. Schreck (Eds.) *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 35-71.

Recibido: 10 de febrero de 2004.

Aceptado: 10 de diciembre de 2004.