

EFFECTO AGUDO DEL OXICLORURO DE COBRE Y DEL BUTACLOR SOBRE EL “CAMARÓN DE RÍO” *Cryphiops caementarius* (MOLINA 1782)

ACUTE EFFECT OF COPPER OXYCHLORIDE AND BUTACHLOR ON THE “FRESHWATER SHRIMP” *Cryphiops caementarius* (MOLINA 1782)

Christian Paredes¹ y Roberta Anaya²

Resumen

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto agudo de dos agroquímicos como son el oxiclорuro de cobre y el butaclor sobre el camarón de río. Se emplearon ejemplares juveniles de camarón de río *Cryphiops caementarius* (Molina 1782) expuestos durante 96 h a dos agroquímicos de amplio uso en la agricultura, como son el 2-cloro 2,6 dietil fenil N butoximetil acetamida o butaclor (3.18, 6.25, 12.5, 25, 50 mg/l) y $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ u oxiclорuro de cobre (132.81, 265.63, 531.25, 1,062.50, 2,125.0 mg/l), y sus controles negativos, respectivamente. Además, se incluyó una sustancia de referencia como control positivo, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ o Dicromato de potasio (0.03, 0.3, 3, 30, 300 mg/l). El dicromato de potasio mostró un rango de CL_{50} de 0.3 – 3 mg/l. No se hallaron en el análisis de varianza de una vía, diferencias significativas entre concentraciones; y se estimaron las concentraciones letales media de los agroquímicos evaluados. En el caso de butaclor, a las 96 h se obtuvo un rango de CL_{50} de 3.18 – 6.25 mg/l, mientras que para el oxiclорuro de cobre, un CL_{50} de 2,607.72 mg/l. Entre los dos agroquímicos estudiados, el butaclor es mucho más tóxico que el oxiclорuro de cobre.

Palabras clave: *Cryphiops*, butaclor, oxiclорuro de cobre, dicromato de potasio, bioacumulación.

Abstract

The aim of this study was to determine the acute effect of two agrochemicals such as copper oxychloride and butachlor on river shrimps. Juvenile freshwater shrimps *Cryphiops caementarius* (Molina 1782) were exposed for 96 h to two widely used agrochemicals, such as 2-chloro-2,6 diethyl phenil acetamide or N butoxymetil butachlor (3.18, 6.25, 12.5, 25, 50 mg/l) and $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ or copper oxychloride (132.81, 265.63, 531.25, 1,062.50, 2,125.00 mg/l), and their negative controls, respectively. In addition, a reference substance as a positive control, such as potassium dichromate or $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (0.03, 0.3, 3, 30, 300 mg/l) was included. Potassium dichromate LC_{50} showed a range of 0.3 to 3 mg/l. We did not find significant differences between the average concentrations in the one way analysis of variance. Butachlor 96 hours LC_{50} was estimated to be in the range of 3.18 – 6.25 mg/l; for copper oxychloride, the LC_{50} calculated was 2,607.72 mg/l. In the two chemicals that were studied, butachlor is much more toxic than copper oxychloride.

Key words: *Cryphiops*, butachlor, copper oxychloride, potassium dichromate, bioaccumulation.

Introducción.

El empleo de agroquímicos diversos en la actividad agrícola aún no ha superado la problemática del tratamiento de los mismos antes de ser vertidos a los ríos, que suelen ser los receptores intermediarios de dicha actividad. Distintas sustancias (fertilizantes, pesticidas, extractos vegetales, entre otros), terminan finalmente siendo vertidos directa e indirectamente en los cuerpos de agua epicontinentales, ríos y lagos, superficiales y subterráneos, los que a su vez acaban llevando estas aguas al receptor final, conformado por las aguas litorales de los mares.

La producción de uno de los recursos de mayor importancia en la acuicultura como lo es el camarón de río se ve constantemente amenazada y afectada

muchas veces por la presencia de dichos agroquímicos influyendo directamente en su desarrollo biológico. Una de las maneras de conocer estos efectos es evaluándolos controladamente en el laboratorio y determinado qué niveles de dichas sustancias se vuelven tóxicas para este recurso de tan relevante importancia económica.

Así, la ecotoxicología contribuirá con la gestión ambiental del recurso desde un punto de vista técnico, incorporando esta herramienta científica, que permitirá la vigilancia y el control del uso de estos pesticidas para evitar que una actividad económica, como la agricultura, influya negativamente en otra, como la pesca y la acuicultura.

El 2-cloro 2, 6 dietil N butoxymetil acetamida es un herbicida empleado principalmente en los cultivos de arroz, maíz, algodón, vegetales y maní. Niveles tóxicos pueden generar efectos que van desde dificultad respiratoria, bioacumulación y otros efectos neurológicos al inhibir la acetilcolinesterasa (Tilak *et al.*, 2007; Didigwu *et al.*, 2012).

El oxiclорuro de cobre ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$) es un compuesto inorgánico que es empleado como fungicida de acción sistémica o de contacto que inhibe la proliferación de hongos fitopatógenos originados en el suelo o trasladados por el aire a partes aéreas de las plantas. El cobre contenido en el compuesto puede ser acumulado en suelos y aguas. El cobre es un metal tóxico a concentraciones altas para muchas especies de invertebrados marinos, de agua dulce, y terrestres (Gladstone, 2002).

El objetivo del estudio fue determinar el efecto agudo del oxiclорuro de cobre y del butaclor en el camarón de río. Ambos agroquímicos se encuentran entre los principales plaguicidas importados a nuestro país desde el 2004, según el proyecto PNI-COP (2006) (CONAM, DIGESA, SENASA 2006).

Materiales y métodos.

Se siguió el protocolo propuesto por la U.S. EPA (2002). Se emplearon ejemplares juveniles de camarón de río *Cryphiops caementarius* (Molina 1782) colectados de la localidad de Cañete (diciembre 2013) que se mantuvieron aclimatados por un mes en acuarios, alimentados con pellets de alimento balanceado para crustáceos, hasta 48 horas antes del inicio del bioensayo. Estos presentaron una biomasa aproximada de 0.55 ± 0.123 mg y tallas entre 4 a 5 cm y fueron sometidos a un diseño experimental DBCA (Diseño en bloques completamente aleatorizado) 5 x 5 expuestos por 96 h a dos agroquímicos de amplio uso en la agricultura, como son el butaclor (3.18, 6.25, 12.5, 25, 50 mg/l) y el oxiclорuro de cobre (132.81, 265.63, 531.25, 1,062.50, 2,125.00 mg/l), y sus controles negativos, respectivamente. Además, se incluyó una sustancia de referencia como control positivo, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ o Dicromato de potasio (0.03, 0.3, 3, 30, 300 mg/l). Para las diluciones se empleó agua potable declorinada y aireada, siendo el bioensayo agudo del tipo estático. En la Tabla 1 se muestran las condiciones de la prueba que incluye el criterio de aceptabilidad del bioensayo.

Se reportaron los camarones muertos y se realizaron análisis de varianzas (ANDEVA) de una vía con el propósito de detectar las diferencias entre las concentraciones de las soluciones problema, entre las repeticiones y entre los tiempos de exposición relevantes. Los grados de significancia fueron finalmente evaluados con una prueba Tukey HSD. El nivel de significancia fue de 0.05 (Zar, 1996). Todos

los cálculos estadísticos fueron analizados por el paquete SPSS ver. 14. Se determinó además el CL_{50} , empleando el paquete estadístico Probit, proporcionado por la U.S. EPA.

Tabla 1. Resumen de condiciones de la prueba con camarones de río.

Agitación	No
Aireación	Constante
Agua de dilución	Agua potable declorinada y aireada
Número de organismos por unidad de prueba	1 organismo
Número de réplicas por concentraciones	5 réplicas
Número de organismos por concentración	5 individuos
Alimentación	No requiere alimentación
Concentraciones de prueba	5, un control negativo y un control positivo
Respuesta	Muerte (inmovilización total por 15 s)
Criterio de aceptabilidad de la prueba	>90 % sobrevivientes en controles negativos

A continuación, en la Tabla 2, se muestran los promedios registrados de las condiciones fisicoquímicas básicas a las que fueron sometidos los camarones en el bioensayo.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos básicos.

	Butaclor	Oxicloruro de cobre	Dicromato de potasio
Temperatura	23.4 ± 0.07 °C	23.4 ± 0.11 °C	23.3 ± 0.15 °C
Oxígeno Disuelto	8.29 ± 0.093 mg/l	8.19 ± 0.144 mg/l	7.84 ± 0.728 mg/l
pH	6.0 ± 1.00	6.5 ± 0.26	6.7 ± 0.13

Resultados.

Los resultados del análisis de varianza y la Concentración Letal Media (CL_{50}), estimada con el programa Probit (U.S. EPA) en mg/l, se muestran en la Tabla 3. En el análisis de varianza de una vía no se encontró diferencia significativa entre concentraciones o los tratamientos analizados y se estimó la concentración letal media de los agroquímicos evaluados, donde para el caso de butaclor a las 96 h se obtuvo un rango de CL_{50} de 3.18 – 6.25 mg/l, para el oxiclорuro de cobre un CL_{50} de 2,607.72 mg/l. El dicromato de potasio mostró un rango de CL_{50} de 0.3 – 3 mg/l.

Tabla 3. Promedios y desviaciones estándar de los agroquímicos y la sustancia de referencia empleada a las 96 h en *Cryphiops caementarius* y CL₅₀

mg/l	Butaclor	mg/l	Oxicloruro de cobre	mg/l	Dicromato de Potasio
0.00	0.5a ± 0.91	0,00	0.0a ± 0.00	0.00	0.0a ± 0.00
3.18	0.5a ± 0.91	132.81	0.0a ± 0.00	0.03	0.0a ± 0.00
6.25	1.6a ± 0.00	265.63	0.5a ± 0.91	0.30	0.0a ± 0.00
12.50	1.6a ± 0.00	531.25	0.0a ± 0.00	3.00	0.1a ± 0.00
25.00	1.6a ± 0.00	1,062.50	0.5a ± 0.91	30.00	0.1a ± 0.00
50.00	1.6a ± 0.00	2,125.00	1.0a ± 0.91	300.00	0.1a ± 0.00
CL₅₀	3.18 – 6.25 mg/l	CL₅₀	2,607.72 mg/l	CL₅₀	0.3 – 3 mg/l

Discusión.

En la base de datos de pesticidas de la Universidad de Hertfordshire se menciona que el butaclor en pruebas con el crustáceo *Americamysis bahia* reportó una CL₅₀ a las 96 h de < 0.19 mg/l (<http://medind.nic.in/ica/t07/i3/icat07i3p135.pdf>, consultado 21 feb. 2015). Tilak (2007) reporta una CL₅₀ a las 48 h de 0.546 mg/l en el pez machete *Channa punctata* (Bloch). Yin *et al.* (2008), Liu *et al.* (2011) y Geng *et al.* (2005), trabajaron con distintas especies de anfibios expuestos a butaclor en distintas presentaciones y determinaron CL₅₀ a las 96 h en rangos entre 0.53 – 1.52 mg/l. Por otro lado, Nasser *et al.* (2007), determinaron el efecto del herbicida butaclor como inductor de hepatitis tóxica en humanos. En el presente estudio se estimó la concentración letal media de los agroquímicos evaluados, donde para el caso de butaclor a las 96 h se obtuvo un rango de CL₅₀ de 3.18 – 6.25 mg/l. A pesar de que no se han reportado estudios con camarones de río y considerando el pariente más cercano de crustáceo, podríamos decir que el camarón de río de Cañete, *Cryphiops caementarius*, es relativamente más tolerante que *Americamysis bahia* y que es recomendable evaluar a futuro con pruebas crónicas los efectos de concentraciones menores y evaluar otros efectos en el tiempo.

Para el oxicloruro de cobre, la Universidad de Hertfordshire menciona que en pruebas con el microcrustáceo *Daphnia magna* se reportó una CL₅₀ a las 48 h de 0.29 mg/l. Cyrino *et al.* (2004) realizó estudios con *Daphnia similis* donde reporta un CL₅₀ a las 48 h de 0.065 mg/l. También, concluye que niveles altos de cobre biodisponible afectan dramáticamente los ecosistemas acuáticos y por ende a una variedad de especies no destinatarias. Estudios de Ferreira *et al.* (2004) reportan CL₅₀ en la *Rana catesbeiana* a las 48 h de 4.3 mg/l, mientras que Herkovits *et al.* (2000) realizaron pruebas de 96 horas con embriones de *Bufo arenarum*, obteniendo una CL₁₀₀ de 0.24 mg/l. Finalmente, Johnson & Finley (1980) y Lombardi *et al.* (2000), realizaron estudios de CL₅₀ con otros organismos acuáticos como la gamba *Macrobrachium rosenbergii* (0.05 mg/l), los peces *Salmo gairdneri*

(0.14 mg/l), *Pimephales promelas* (0.84 mg/l), *Lepomis macrochirus* (0.89 mg/l) y *Carassius auratus* (1.38 mg/l). Muchos productos comerciales coinciden en su peligrosidad de moderada a alta, sin embargo, en nuestro estudio el valor registrado de la CL₅₀ a las 96 h para el oxicloruro de cobre fue de 2,607.72 mg/l, es más de 5 000 veces lo registrado para el pariente más cercano como lo es la gamba, mientras que dicho valor supera en 600 veces el de *R. catesbiana*, un anfibio. Esto sugiere que la especie ha encontrado una estrategia fisiológica que le permite tolerar dichos niveles.

Y para descartar la posibilidad de que la especie de camarón de río de Cañete, *Cryphiops caementarius*, se haya vuelto tolerante a cualquier agente tóxico, es que se empleó una sustancia de referencia muy empleada en organismos acuáticos como lo es el dicromato de potasio y los valores registrados de CL₅₀, nos indican que la especie se halla dentro de los rangos aceptables de sensibilidad para las pruebas ecotoxicológicas tradicionales. Incluso, según Marín *et al.* (2002), el anfípodo *Gammarus aequicauda*, siendo un crustáceo menor, expuesto al dicromato de potasio, tiene un CL₅₀ de 9.52 ± 4.7 mg/l, mostrando que el camarón de río es más sensible que ese anfípodo a la sustancia de referencia tradicionalmente empleada.

Finalmente, los datos obtenidos sugieren la necesidad de ampliar los estudios con otras pruebas de otras formas de cobre y/o llevarlos a niveles de análisis crónico para establecer posibles efectos distintos a la mortalidad que pudieran estar generando cambios en su comportamiento, fisiología o en su reproducción.

Conclusiones.

Individuos juveniles del camarón de río frente a 96 horas de exposición a butaclor muestran una CL₅₀ en el siguiente rango (3.18 - 6.25 mg/l) y frente al oxicloruro de cobre, una CL₅₀ de 2,607.72 mg/l. En otras palabras, entre los dos agroquímicos estudiados, el butaclor es mucho más tóxico que el oxicloruro de cobre.

El camarón de río expuesto a la sustancia de referencia, dicromato de potasio, mostró un rango de CL₅₀ entre 0.3 – 3 mg/l.

Agradecimientos.

Un agradecimiento a la tesista bachiller en Biología, Diana Sotelo de la Universidad Ricardo Palma, a los bachilleres en Biología, Ricardo Dioses e Iris Coral, de la Universidad Nacional Federico Villarreal, y al Ing. Manuel Mendoza, del Instituto del Mar del Perú, por su apoyo durante la evaluación de las pruebas ecotoxicológicas.

Literatura citada.

- CONAM, DIGESA, SENASA. 2006. "Plan Nacional de Implementación del Convenio de Estocolmo sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes en el Perú (PNI-COP)". Proyecto GEF/PNUMA N° GFL-2328 - 2761 - 4747. 58 pp.
- Cyrino de O.E., Matos L.R., Roma P. F.J. 2004. Estudio comparativo sobre la susceptibilidad de las especies de agua dulce a los pesticidas a base de cobre. *Chemosphere* 56 (2004) 369-374. 6 pp.
- Didigwu N.C., Ibiom A.U., Florence O., Obasi O.U., Chima O.R., Arua A.I., Udu-Ibiom O. 2012. Acute toxicity of the chloroacetanilide herbicide butachlor and its effects on the behavior of the freshwater fish *Tilapia zillii*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 12(5), pp. 499-503 January 2013.
- Ferreira C.M., Lombardi J.V., Machado-Neto J.G., Bueno-Guimaraes H.M., Soares S.R.C., Saldíviva P.H.N. 2004. Efectos de oxiclورو de cobre en renacuajos *Rana catesbiana*: Aspectos toxicológicos y bioacumulativas. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (2004) 73:465-470.
- Geng B.R., Yao D., Xue Q.Q. 2005. Acute toxicity of the pesticide dichlorvos and the herbicide butachlor to tadpoles of four anuran species. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75(2), 343-349.
- Gladstone S. 2002. Informe de consultoría preparado para PROARCA/SIGMA. Contaminación por plaguicidas en las Cuencas Hidrográficas que desembocan en el Golfo Fonseca y oportunidades para su prevención y mitigación. USAID.
- Herkovits J., Perez-Coll C., Domínguez P.O. 2000. Toxicidad del cobre en los embriones de *Bufo arenarum*: valores umbrales de letalidad. In: VI Encuentro de Ecotoxicología y Desarrollo Sustentable: Perspectivas para el Siglo XXI y III Reunión de SETAC Latino-americana. SETAC-América Latina, San Carlos SP, p 102.
- Johnson W.W., Finley M.T. 1980. Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates. Res. Publ. 137. Fish Wildlife Service, Washington, DC.
- Liu W., Wang C., Wang T., Fellers G.M., Lai B., Kam Y., 2011. Impacts of the herbicide butachlor on the larvae of a paddy field breeding frog (*Fejervarya limnocharis*) in subtropical Taiwan. *Ecotoxicology*, 20(2), 377-384
- Lombardi J.V., Machado-Neto J.G., Brossi-García A.L., Marques H.L.A., Kubo E. 2000. Acute toxicity of the fungicide copper Oxchloride to the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* De Man. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 65:383-390.
- Marín G.C.L., Vita R. Marín A. 2002. Sensitivity of Mediterranean amphipods and sea urchins to reference toxicants. *Ciencias Marinas*, vol. 28, núm. 4, diciembre, 2002, pp. 407-417, Universidad Autónoma de Baja California. México.
- Nasser E., Hosseini P., Bashashati M. 2007. Butachlor induced acute toxic hepatitis. *Indian J. Gastroenterol.*; 26:135-136
- Probit Program Version 1.5. 1993. Ecological Monitoring Research Division. Environmental Monitoring Systems Laboratory. U. S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio 45268.
- Sánchez G., Vera G. 2001. Manual Introductorio de Ecotoxicología Acuática. 48 pp. Informe del Instituto del Mar del Perú (161):40 pp.
- Tilak K.S., Veeraiah K., Bhaskara P., Butchiram M.S. 2007. Toxicity studies of butachlor to the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *Journal of Environmental Biology*. April 2007, 28(2) 485-487 (2007)
- US.EPA. 2002. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Environmental Monitoring and Support Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency Office of Water (4303T) 1200. Pennsylvania Avenue, NW Washington, DC 20460. EPA-821-R-02-012.
- Yin X.H., Li S.N., Zhang L., Zhu G.N., Zhuang H.S. 2008. Evaluation of DNA damage in Chinese toad (*Bufo bufo gargarizans*) after in vivo exposure to sublethal concentrations of four herbicides using the Comet assay, *Ecotoxicology*, 17(4), 280-286.
- Zar J.H. 1996. Análisis bioestadístico. Prentice-Hall. 3 ed. New Jersey, USA. 718 pp.

¹ Instituto del Mar del Perú, Esquina Gamarra y General Valle s/n Chucuito, Callao, Lima-Perú, cparedes@imarpe.gob.pe.

² Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Portal Independencia N° 57 Ayacucho-Perú, banaya13@hotmail.com.