



Orinoquia

ISSN: 0121-3709

orinoquia@hotmail.com

Universidad de Los Llanos

Colombia

Velasco-Santamaría, Y.M.; Gómez-Manrique, W.; Calderón-Bernal, J.M.
Toxicidad aguda del sulfato de cobre (CuSO_4) en alevinos de cachama blanca (*Piaractus
brachypomus*) bajo condiciones de aguas blandas
Orinoquia, vol. 10, núm. 1, 2006, pp. 64-70
Universidad de Los Llanos
Meta, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89610108>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ARTÍCULO ORIGINAL

Toxicidad aguda del sulfato de cobre (CuSO_4) en alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) bajo condiciones de aguas blandas

Acute copper sulphate (CuSO_4) toxicity in cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) fingerlings under soft water conditions

VELASCO-SANTAMARÍA, Y.M.¹, GÓMEZ-MANRIQUE, W.², CALDERÓN-BERNAL, J.M.²

¹Médico Veterinaria; ²Estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX, Universidad de los Llanos, A.A 110, Villavicencio, Meta - Colombia. ymvelasco@yahoo.com

Recibido en febrero 20 de 2006 • Aprobado en marzo 28 de 2006

RESUMEN

Para determinar de manera preliminar la toxicidad aguda del CuSO_4 en alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), 110 individuos fueron expuestos a siete concentraciones, así: 0 (control), 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 o 4.0 ppm, utilizando acuarios en un sistema semi-estático. La dureza del agua en términos de CaCO_3 se mantuvo constante en 20 ppm durante todo el período experimental. Individuos expuestos a 2.0 y 4.0 ppm manifestaron cuadros de hiperexcitación, alternados con letargia y pérdida del eje de nado, con una mortalidad de 100% a las 24 y 6 h, respectivamente. En los individuos expuestos a 1.0 y 1.5 ppm, la mortalidad acumulada a las 24 h de exposición fue de 55 y 90%, respectivamente. Así mismo, estos grupos presentaron aumento moderado en la producción de moco a nivel branquial, acompañado de manifestaciones clínicas de disnea. En los individuos expuestos a 4.0 ppm

se observó microscópicamente hiperplasia epitelial interlamelar junto con fusión y congestión lamelar severa. Por otro lado, en individuos expuestos a 0.5 ppm se observó hiperplasia epitelial interlamelar e interfilamental, así como infiltrado de células inflamatorias, principalmente granulocitos. La concentración letal 50 (CL_{50}) al cabo de 48 h de exposición fue de 0.94 ppm (0.82 - 1.08, IC 95%). Estos resultados preliminares permiten inferir que bajo las concentraciones y condiciones del presente ensayo (dureza total de aproximadamente 20 ppm), los alevinos de cachama blanca son relativamente susceptibles a los efectos tóxicos del sulfato de cobre.

Palabras clave: cachama blanca, concentración letal 50 (CL_{50}), dureza, *Piaractus brachypomus*, sulfato de cobre, toxicidad aguda.

ABSTRACT

To preliminarily determine acute CuSO_4 toxicity in cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) fingerlings, 110 individuals were exposed to seven different concentrations: 0 (control), 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 and 4.00 ppm using semi-static system aquariums. Water hardness in reference to CaCO_3 was constantly maintained at 20 ppm during the

experiment. Individuals exposed to 2.00 and 4.00 ppm manifested hyperexcitement stages alternating with lethargy and swimming-axis loss, with 100% mortality at 24 and 6 h respectively. Individuals exposed to 1.00 and 1.50 ppm for 24 h showed cumulative mortality of 55 and 90% respectively. Likewise, these groups presented a moderate increase in mucus

production at branchial level accompanied by clinical disnea. Interlamellar hyperplasia and severe lamellar fusion, as well as gill congestion, were observed microscopically in those exposed to 4.00 ppm. On the other hand, interlamellar and interfilamental hyperplasia and inflammatory cell infiltration, principally granulocytes, were observed in fingerlings exposed to 0.50 ppm. Lethal concentration 50 (CL₅₀) at 48h of exposure was 0.94 ppm (0.82-1.08, IC 95%).

These preliminary results allow inferring that cachama blanca fingerlings are relatively susceptible to the toxic effects of CuSO₄ at the concentrations and conditions described for the present study.

Key words: acute toxicity, cachama blanca, copper sulphate, hardness, lethal concentration 50 (LC₅₀), *Piaractus brachypomus*.

INTRODUCCIÓN

La cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) es un carácido nativo de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas, ampliamente cultivado en los Llanos Orientales de Colombia (Hernández et al., 1992). En estas regiones el agua es clasificada como blanda, debido a la baja disponibilidad de cationes, principalmente Ca²⁺, lo que favorece una mayor toxicidad por metales pesados (Matsuo et al., 2005).

Existe una estrecha asociación entre la intensificación de la producción animal y el uso de insumos agropecuarios, lo que ha generado un alto riesgo sobre el medio ambiente. Así mismo, el desarrollo industrial ha causado un incremento en la emisión de metales pesados, siendo los ambientes acuáticos continuamente contaminados con dichos pesticidas (Lawlor y Tipping, 2003).

En casi todas las especies, el cobre (Cu) es un cofactor indispensable en numerosos procesos enzimáticos. Sin embargo, se ha considerado un contaminante importante de los cuerpos de agua, clasificándose como extremadamente tóxico (Heath, 1991), representando un riesgo potencial para la vida acuática (Mazon et al., 2002). El sulfato de cobre (CuSO₄) es un algicida aprobado por la EPA (U.S. - Environmental Protection Agency) para uso en acuicultura (Schnick et al., 1986). Aunque no está aprobado por la FDA (U.S. - Food and Drug Administration) como agente terapéutico, es usado masivamente para el control de parásitos protozoarios en especies acuáticas (Straus, 2003), así como para disminuir la proliferación de fitoplancton en aguas eutróficas (Mazon et al., 2002).

La efectividad terapéutica del CuSO₄ se reduce a medida que la alcalinidad y la dureza total se incrementan. Por su parte, la toxicidad del cobre aumenta cuando disminuye el pH (Straus, 2003; Çogun y Kargin, 2004), la materia orgánica, la alcalinidad y la dureza (Tucker y Robinson, 1990; Straus, 2003; Matsuo et al., 2005).

En consecuencia, Tucker y Robinson (1990) recomendaron limitar su uso en aguas con alcalinidades inferiores a 50 ppm.

La toxicidad del cobre ha sido estudiada en algunas especies de peces, tales como tilapia azul (*Oreochromis aureus*) (Straus, 2003), curimbatá (*Prochilodus scrofa*) (Cerqueira y Fernandes, 2002; Mazon et al., 2002), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Marr, 1998; Wilson y Taylor, 1993; McGeer et al., 2000), cachama negra (*Colossoma macropomum*) (Matsuo et al., 2005), juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) (Lozano, 2000), entre otros.

Puesto que las branquias están en contacto directo con el medio externo, cambios químicos y físicos en el ambiente acuático las convierten en el principal órgano blanco de la mayoría de los contaminantes acuáticos (Mallatt, 1985). El efecto tóxico agudo o crónico del cobre sobre la morfología branquial, ha sido estudiado en algunas especies marinas (Sola et al., 1995; Rajbanshi y Gupta, 1988; Benedetti et al., 1989; Laurén y McDonald, 1987) y de agua dulce (Dang et al., 2000; Mazon et al., 2002; Cerqueira y Fernandes, 2002). En general, los efectos tóxicos agudos provocan alteraciones de tipo respiratorio e ionoregulatorio y bajo exposiciones crónicas, se observan alteraciones en el sistema neurológico y endocrino, así como cambios celulares, bioquímicos y fisiológicos (Handy, 2003).

Aunque en algunas especies de peces nativos se han realizado bioensayos de toxicidad bajo condiciones de laboratorio (Lozano, 2000), en alevinos de cachama blanca no se conocen reportes acerca de la toxicidad del cobre en aguas con bajos niveles de dureza. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la toxicidad aguda del cobre asociado a CuSO₄ bajo condiciones experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Bioensayos del Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos (IALL). Para este fin fueron utilizados 110 alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) clínicamente sanos con peso corporal de 1.75 ± 0.2 g y longitud total de 4.62 ± 0.4 cm, obtenidos de un mismo desove por medio de reproducción inducida a partir de ejemplares criados y mantenidos en cautiverio. Los ejemplares fueron medidos con un ictiómetro y pesados en una balanza digital (Ohaus, Scout Pro), previa tranquilización con 2-fenoxietanol (200 ppm, Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA).

Durante la fase de aclimatación, los peces fueron mantenidos en acuarios de vidrio con capacidad útil de 73 L y alimentados ad libitum una vez al día. Se empleó un sistema semi-estático con recambio diario de agua del 50% y con aireación constante. Los ejemplares se distribuyeron aleatoriamente en los acuarios, ubicando 10 o 20 peces por tratamiento, sometiénolos a un periodo mínimo de aclimatación de 8 días. Cada individuo fue considerado como una repetición.

Durante la fase de experimentación los peces no fueron alimentados. Así mismo, se realizó recambio diario del 50% de agua, manteniendo constantes las concentraciones de Cu en cada acuario, por medio de la adición de la mitad de la dosis correspondiente. Como fuente de Cu se empleó sulfato de cobre comercial (CuSO_4), utilizando siete concentraciones diferentes: 0 (control), 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 o 4.0 ppm de Cu durante 48 h de exposición. Los parámetros de cali-

dad de agua fueron monitoreados con una sonda multiparamétrica (Yellow Spring Instrument, Modelo 556) manteniéndose en los siguientes rangos: pH: 6.8 ± 0.2 ; temperatura: $24.9 \pm 0.3^\circ \text{C}$; O_2 disuelto: 5.8 ± 0.04 ppm y saturación de O_2 : 69.9 ± 0.7 %. La dureza total fue determinada por medio de un equipo para análisis de aguas (Aquamerck, Merck), manteniéndose constante en 20 ppm de CaCO_3 .

Por medio de observación directa, fue registrado durante las 48 h de exposición el comportamiento de los peces, con especial énfasis en el eje de nado (presente o ausente), patrón de nado (errático, normal), ubicación dentro de la columna de agua y la actitud de los peces (excitado, normal y (o) deprimido).

La mortalidad en cada uno de los tratamientos fue registrada diariamente con el fin de determinar la concentración letal 50 (CL_{50} 48-h), por medio del método Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton et al., 1977), utilizando el Software Phar Lap Inc. versión 4.1L (1986-92).

Para determinar los efectos del Cu a nivel branquial, una vez finalizada la fase experimental, se seleccionó aleatoriamente un pez de cada tratamiento, los cuales se sacrificaron por medio de corte medular. Posteriormente, se extrajo el segundo arco branquial derecho y se fijó en formalina bufferada al 10%, para posterior corte y coloración con hematoxilina - eosina. Las observaciones histopatológicas se realizaron en un microscopio óptico convencional (Axiostar, Carl Zeiss).

RESULTADOS

Durante las primeras cinco horas de exposición, los peces expuestos a 2.0 y 4.0 ppm de Cu, manifestaron cuadros de hiperexcitación, alternados con letargia y pérdida del eje de nado, con tendencia a ubicarse en el tercio superior de la columna de agua. Se observó letargia y pérdida del eje de nado en los peces expuestos a 1.5 ppm, aproximadamente a las 10 h de exposición.

La mortalidad fue de 100% a las 6 y 24 h para 4.0 y 2.0 ppm, respectivamente. Durante la fase experimental, no se presentó mortalidad en los individuos del grupo control (0 ppm) y expuestos a 0.25 o 0.5 ppm (Figura 1). La CL_{50} 48-h de Cu asociado a CuSO_4 fue de 0.94 ppm (0.82 - 1.08, IC 95%).

La Figura 2 muestra los filamentos y lámelas normales de alevinos del grupo control. En los individuos expuestos a 0.5 ppm de Cu, microscópicamente se observó fusión filamental y lamelar, hiperplasia epitelial interlamelar e interfilamental e infiltrado de células inflamatorias, principalmente granulocitos (Figura 3 y 4). Así mismo, en las branquias de los individuos expuestos a 4.0 ppm se observó congestión severa de lámelas y filamentos, necrosis y desprendimiento de epitelio lamelar, así como fusión lamelar severa (Figura 5). Por otro lado, en los peces expuestos a concentraciones superiores a 1.0 ppm se presentó aumento moderado en la producción de moco a nivel branquial, acompañado de manifestaciones clínicas de disnea.

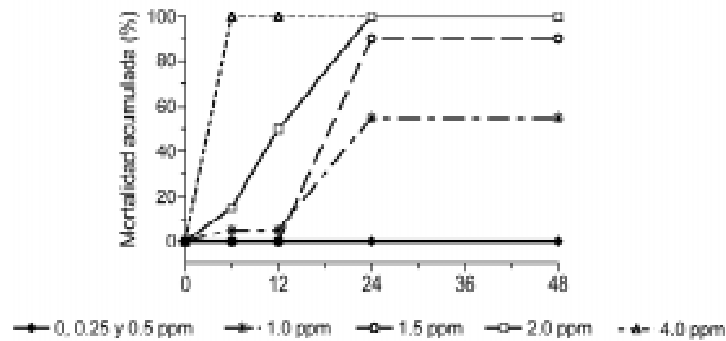


Figura 1. Mortalidad acumulada de alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachipomus*) expuestos durante 48 h a cobre (Cu) asociado al sulfato de cobre (CuSO_4).

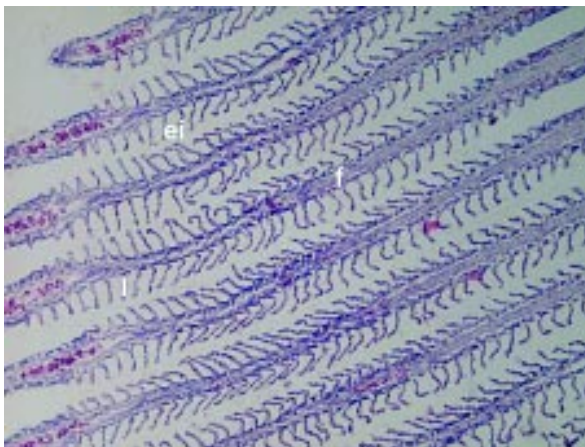


Figura 2. Lámelas y filamentos branquiales de alevinos de cachama blanca (*P. brachipomus*) no expuestos a sulfato de cobre (grupo control). l, lámelas; f, filamentos; il, espacio interlamelar. (10x).

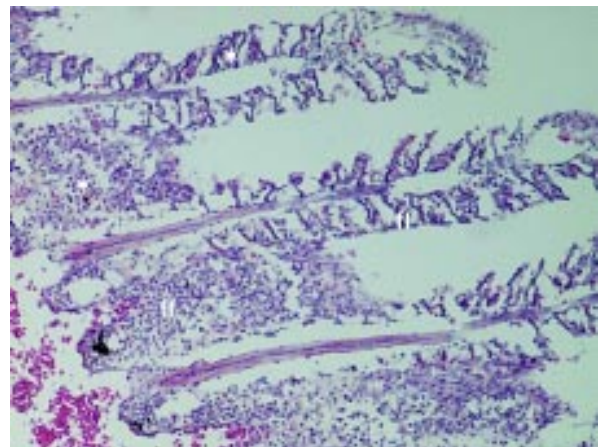


Figura 3. Filamentos branquiales de alevinos de cachama blanca (*P. brachipomus*) expuestos durante 48 h a 0.5 ppm de cobre. Nótese la fusión filamental (ff), fusión lamelar (fl), hiperplasia epitelial interlamelar e interfilamental e infiltrado celular inflamatorio (★). 10x.

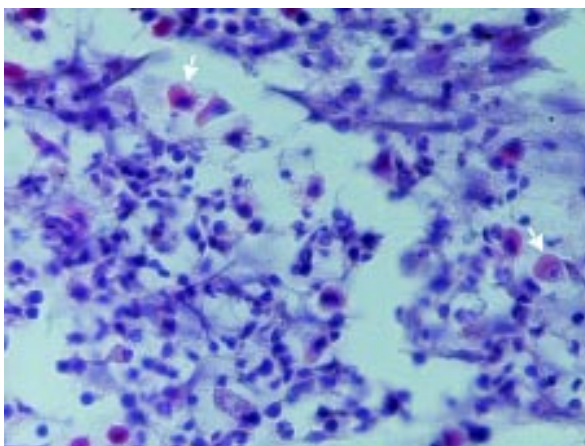


Figura 4. Espacio interfilamental de branquias de alevinos de cachama blanca (*P. brachipomus*) expuestos durante 48 h a 0.5 ppm de cobre. Las flechas indican la presencia de células inflamatorias granulocíticas. Nótese la hiperplasia epitelial interfilamental. 100x.

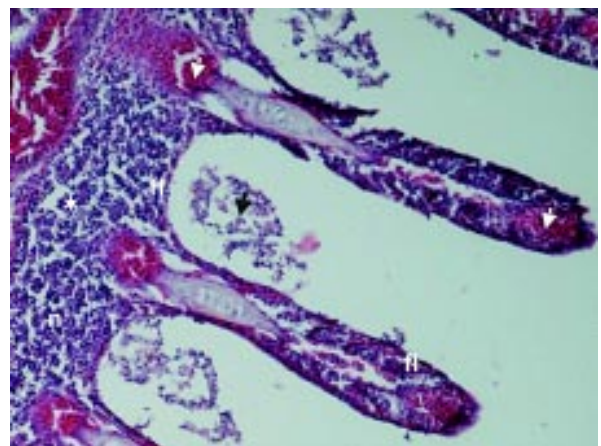


Figura 5. Filamentos branquiales de alevinos de cachama blanca (*P. brachipomus*) expuestos a 4.0 ppm de cobre. Nótese la fusión filamental (ff), fusión lamelar (fl), necrosis de células pavimentosas (n), hiperplasia epitelial interfilamental e infiltrado celular inflamatorio (★). Las flechas blancas indican congestión de lámelas y filamentos. La flecha negra indica desprendimiento y necrosis de epitelio lamelar. 20x.

DISCUSIÓN

El CuSO_4 es un compuesto de bajo costo, usado principalmente para el tratamiento de ectoparásitos y enfermedades bacterianas, así como fungicida y herbicida (Reddy *et al.*, 2006). Noga (1996) recomienda que para evitar efectos tóxicos, la dosis de CuSO_4 debe ser inferior a 0.75 ppm en aguas con alcalinidades por debajo de 100 ppm; no obstante, es frecuente su uso en especies de agua dulce a una concentración de 0.5 a 1.0 ppm de CuSO_4 (Boyd, 1990), sin que se determine previamente la dureza y alcalinidad del agua.

En alevinos y juveniles de *Oreochromis aureus* expuestos a concentraciones superiores a 0.18 ppm de Cu, se presentaron convulsiones, letargia y pérdida del eje de nado previo a la muerte (Straus, 2003), similar a lo encontrado en el presente estudio.

Existe una estrecha asociación entre el grado de dureza y alcalinidad del agua con respecto a la toxicidad del Cu. Straus (2003) observó que en *Oreochromis aureus* la CL_{50} es mayor en aguas con bajos niveles de dureza, reportando una CL_{50} 96-h de 0.2 y 0.7 ppm de Cu, en aguas blandas con 7.0 y 28.2 ppm de CaCO_3 , respectivamente. De Vera y Pocsidio (1998) reportan que en juveniles de *Oreochromis mossambicus* en aguas con 93 ppm de CaCO_3 , la CL_{50} 96-h es de 1.7 ppm. Por otro lado, en individuos de cachama negra (*Colossoma macropomum*) mantenidos en aguas blandas, se determinó que la CL_{50} 96-h fue de 0.74 ppm de Cu (Oliveira, 2003). Los resultados anteriores son similares con lo determinado en el presente estudio, en el cual la CL_{50} 48-h fue de 0.94 ppm, con niveles de CaCO_3 cercanos a 20 ppm. Estos reportes corroboran que la sobrevivencia de peces expuestos a Cu depende principalmente de su concentración y de la dureza y alcalinidad del agua. A este respecto, Playle *et al.* (1993) demostraron el efecto del Ca^{2+} sobre la absorción de Cu en *Pimephales promelas* y concluyen que este ión compite con el Cu, por los sitios de unión a nivel branquial, disminuyendo su absorción.

Marr *et al.* (1998) determinaron que la CL_{50} de Cu en *Onchorhynchus mykiss* a las 48 y 96 h de exposición, fue de 23 y 18 ppb, respectivamente, con una dureza constante de 25.1 ppm de CaCO_3 . Al igual que en otros estudios, Marr *et al.* (1998) observaron una relación dosis - respuesta entre la concentración de Cu y la mortalidad.

Mazon *et al.* (2002) reportan que en juveniles de *Prochilodus scrofa*, la mortalidad fue de 85, 70 y 55%

en peces expuestos durante 96 h a 20, 25 y 29 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Cu, respectivamente; concentraciones inferiores a las estudiadas en el presente estudio. Adicionalmente, observaron una mayor acumulación de Cu en el tejido branquial de los peces expuestos a las concentraciones mas altas, asociándose este hallazgo con cambios severos en el tejido epitelial, tales como: hiperplasia del epitelio de las lámelas y filamentos, disminución del espacio interlamelar, fusión lamelar, hiperplasia e hipertrofia de las células pavimentosas y de cloro, junto con degeneración celular (Cerqueira y Fernandes, 2002; Mazon *et al.*, 2002). Algunos de los anteriores resultados son similares a lo observado en los cortes histológicos de las branquias de alevinos de cachama blanca expuestos a Cu. Aunque en el presente estudio no se determinó la acumulación de Cu en branquias y otros tejidos, Dang *et al.* (1999) reportan que cortos períodos de exposición permiten una mayor bioacumulación de Cu que las exposiciones prolongadas (superiores a 96 h). Varios autores reportan que existe una correlación positiva entre la concentración de Cu en agua y la acumulación en branquias (Monteiro *et al.*, 2005), con el incremento de lesiones a nivel branquial (Mazon *et al.*, 2002). Adicionalmente, concluyen que la severidad del daño branquial depende de la sensibilidad de la especie y del tiempo de exposición.

La hiperplasia y fusión lamelar, observada en el presente estudio, ha sido reportada como una respuesta no específica a agentes irritantes (Mallatt, 1985; Mazon *et al.*, 2002), siendo un mecanismo compensatorio para disminuir la difusión del tóxico hacia la circulación sanguínea; no obstante, estas alteraciones histopatológicas también reducen la superficie lamelar respiratoria, provocando condiciones hipóxicas. Mazon *et al.* (2002) reportan que en *P. scrofa* expuestos a 29 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Cu, se presentó un alto porcentaje de células de cloro apoptóticas y necróticas, lo que contribuyó a la disfunción en el balance iónico regulatorio y en el equilibrio ácido-base. En concordancia, McGeer *et al.* (2000), encontraron que alevinos de trucha arco iris expuestos de forma crónica a Cu, presentaron una pérdida temporal de Na^+ y Ca^{2+} a nivel muscular. De igual modo, Monteiro *et al.* (2005) reportan que en adultos de *Oreochromis niloticus* se presenta una disminución en los niveles de Na^+ y Cl^- plasmático, como consecuencia del efecto inhibitorio del cobre sobre la actividad Na^+/K^+ ATPasa. Finalmente, se puede deducir que la mortalidad en los peces expuestos a las altas concentraciones de Cu observada en el presente estudio,

es provocada por la inhibición de la Na^+/K^+ ATPasa branquial por parte del Cu, generando edema del epitelio lamelar, consecuente acumulación de solutos en las células epiteliales y por ende, flujo osmótico de agua hacia la célula. Este disturbio ocasiona la pérdida del control ionoregulatorio, eflujo de electrolitos sanguíneos, colapso cardiovascular y consecuentemente la muerte (Handy, 2003).

Los resultados del presente estudio constituyen un reporte preliminar de la toxicidad del CuSO_4 en alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachipomus*), mantenidos en aguas blandas. Según los hallazgos observados, se recomienda que el uso de CuSO_4 como terapéutico, deba ser realizado con previa determinación de la alcalinidad y la dureza, para evitar que se produzcan respuestas adversas en la salud de los peces.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a Laurent E. Cruz Pinzón, Jordán F. Martínez Pinilla, Camilo A. Cortéz Castillo y Gabriel J. Domínguez Bernate, estudiantes de Toxicología Veterinaria de la Universidad de los Llanos, por su colaboración en el desarrollo de la fase experimental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENEDETTI, I., ALBANO, A.G., MOLA, L. 1989. Histomorphological changes in some organs of the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* Le Sueur, following short and long-term exposure to copper. J. Fish Biol. 34: 273-280.
- BOYD, C.E. 1990. In: Water quality in ponds for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University. Birmingham Publishing Co, Alabama. 482 pp.
- CERQUEIRA, C.C.C., FERNANDES, M.N. 2002. Gill Tissue Recovery after Copper Exposure and Blood Parameter Responses in the Tropical Fish *Prochilodus scrofa*. Ecotoxicol. Environ. Safety Environ. Res. B 52: 83-91.
- ÇOĞUN, H.Y., KARGIN, F. 2004. Effects of pH on the mortality and accumulation of copper in tissues of *Oreochromis niloticus*. Chemosphere 55: 277-282.
- DANG, Z., LOCK, R.A.C., FLIK, G., WENDELAAR, B.S.E. 1999. The metallothionein response in gills of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper in fresh water. Am. J. Physiol. 277 R: 320-331.
- DANG, Z., LOCK, R.A.C., FLIK, G., WENDELAAR, B.S.E. 2000. Na^+/K^+ -ATPase immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper. J. Exp. Biol. 203: 370-387.
- DE VERA, M.P., POCSIDIO, G.N. 1998. Potential protective effect of calcium carbonate as liming agent against copper toxicity in the African tilapia *Oreochromis mossambicus*. Sci. Total Environ. 214: 193-202.
- HAMILTON, M.A., RUSSO, R.C., THURSTON, R.V. 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Environ. Sci. Technol. 11(7): 714-719.
- HANDY, R.D. 2003. Review: Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity: two sides of the same toxicological process?. Comp. Biochem. Physiol. A 135: 25-38.
- HEATH, A.G. 1991. Effect of waterborne copper on physiological responses of bluegill (*Lepomis macrochirus*) to acute hypoxic stress and subsequent recovery. Comp. Biochem. Physiol. C 100: 559-564.
- HERNÁNDEZ, A., MUÑOZ, D., FERRAZ DE LIMA, J., DE FEX, R., VÁSQUEZ, W. 1992. Estado actual del cultivo de *Colossoma* y *Piaractus* en Brasil, Colombia, Panamá, Perú y Venezuela. Boletín Red Acuicultura 6: 3-27.
- LAURÉN, D.J., McDONALD, D.G. 1987. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: Physiology. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44: 99-104.
- LAWLOR, A.J., TIPPING, E. 2003. Metals in bulk deposition and surface waters at two upland locations in northern England. Environ. Pollut. 121: 153-167.
- LOZANO, Á.M.C. 2000. Determinación de parámetros hematológicos y toxicológicos en juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachipomus*) expuestos a diferentes concentraciones de sulfato de cobre. Tesis de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 122 pp.

- MALLATT, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 630-648.
- MARR, J.C.A., HANSEN, J.A., MEYER, J.S., CACELA, D., PODRABSKY, T., LIPTON, J., BERGMAN, H.L. 1998. Toxicity of cobalt and copper to rainbow trout: application of a mechanistic model for predicting survival. *Aquat. Toxicol.* 43: 225-238.
- MATSUO A.Y.O., WOOD, C.M., VAL, A.L. 2005. Effects of copper and cadmium on ion transport and gill metal binding in the Amazonian teleost tambaqui (*Colossoma macropomum*) in extremely soft water. *Aquat. Toxicol.* 74: 351-364.
- MAZON, A.F., CERQUEIRA, C.C.C., FERNANDES, M.N. 2002. Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical freshwater Fish *Prochilodus scrofa*. *Environ. Res. A* 88: 52-63.
- McGEER, J.C., SZEDEDINSZKY, CH., GORDON MCDONALD, D., WOOD, C.M. 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: Iono-regulatory disturbance and metabolic costs. *Aquat. Toxicol.* 50: 231-243.
- MONTEIRO, S.M., MANCERA, J.M., FONTÁINHAS-FERNANDES, A., SOUSA, M. 2005. Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 141: 375-383.
- NOGA E.J. 1996. In: *Fish Disease, diagnosis and treatment*. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, Missouri. 367 pp.
- OLIVEIRA, C.P.F., 2003. Efeito do cobre e chumbo, metais pesados presentes na água de formação derivada da extração do petróleo da província petrolífera do Urucu - AM, sobre o tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Tesis de Maestría, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas (INPA/UFAM). Manaus, Amazonas, Brasil. 70 pp.
- PLAYLE, R.C., DIXON, D.G., BURNISON, K. 1993. Copper and cadmium binding to fish gills: estimates of metal-gill stability constants and modelling of metal accumulation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 2678-2687.
- RAJBANSHI, V. K., GUPTA, A. K. 1988. Alterations in the architecture of gill surface produced by water-borne copper in *Hepteteroneusters fossilis* (Bloch). *Acta Hydrochem. Hydrobiol.* 16: 325-332.
- REDDY, R., PILLAI, B.R., ADHIKARI, S. 2006. Bioaccumulation of copper in post-larvae and juveniles of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) exposed to sub-lethal levels of copper sulfate. *Aquaculture* 252: 356-360.
- SOLA, F., ISAIA, J., MANSONI, A. 1995. Effects of copper on gill structure and transport function in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Appl. Toxicol.* 15: 391-398.
- STRAUS, D.L. 2003. The acute toxicity of copper to blue tilapia in dilutions of settled pond water. *Aquaculture* 219: 233-240.
- TUCKER, C.S., ROBINSON, E.H., 1990. In: *Channel Catfish Farming Handbook*. Van Nostrand-Reinhold, New York, NY, USA.
- WILSON, R. W., TAYLOR, E. W. 1993. The physiological responses of freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, during acutely lethal copper exposure. *J. Comp. Physiol. B* 163: 38-47.