

**CRIANZA ARTIFICIAL DEL CARACOL DE AGUA  
DULCE *Physa venustula* Gould PARA ESTUDIOS  
ECOTOXICOLÓGICOS DE PLAGUICIDAS<sup>1</sup>**

**Artificial rearing of the freshwater snail *Physa venustula* Gould  
for ecotoxicological studies of pesticides**

**José Iannacone O.<sup>2</sup>, Cecilia Caballero R.<sup>2</sup> y Lorena Alvariano F.<sup>2</sup>**

**A B S T R A C T**

Standard artificial breeding of the freshwater snail *Physa venustula* for ecotoxicological evaluation of pesticides was realized. The bioassays were standardized with a breeding protocol of four batches of *P. venustula* fed with a solution of Cereal Leaves™ plus fishmeal and *Chlorella vulgaris* in our laboratory. The oviposition had a downward trend through the time. The eggs were hatched between 7 and 14 d under experimental conditions. The average of eggs per capsule was  $12.04 \pm 10.66$  (range = 1 to 45) and the average fecundity percentage was 65.22%. The snails which produced more egg mass had a lower average number of eggs. The Cereal Leaves™ proved to be a more complete diet for the freshwater snail *P. venustula* compared to the microalgae *Chlorella vulgaris*. The morphologic characteristics of the eggs and the behavior of the immature forms are described. The rotifer *Philodina acutiformis* was a biological contaminant that did not permit the normal growth of the eggs in the cultures. The protocol of ecotoxicological assay using *P. venustula* has the following advantages: wide distribution in the neotropic, reliability, repeatability, high sensitivity in comparison with other snails and short duration of the assay.

**Key words:** *Physa*, artificial breeding, snail, laboratory conditions.

**R E S U M E N**

Se realizó una crianza artificial estandarizada del caracol de agua dulce *Physa venustula* Gould para estudios ecotoxicológicos de plaguicidas. Los bioensayos se estandarizaron con el protocolo de crianza con cuatro camadas de *P. venustula*, alimentadas con una solución de Cereal Leaves® y hojuelas de pescado y *Chlorella vulgaris* en nuestro laboratorio. La oviposición siguió un patrón descendente a través del tiempo. La eclosión de los huevos fue de 7 a 14 d bajo condiciones experimentales. El promedio de huevos por cápsula fue de  $12,04 \pm 10,66$  (rango = 1 a 45) y el porcentaje promedio de fecundidad fue de 65,22%. En los caracoles que produjeron más masas, éstas contuvieron menor número promedio de huevos. El alimento Cereal Leaves® demostró ser una dieta más completa para el caracol dulceacuícola *P. venustula* comparado con la microalga *Chlorella vulgaris*. Se describen las características morfológicas de los huevos y el comportamiento de las formas juveniles. El rotífero *Philodina acutiformis* se comportó como un agente biológico contaminante que no permitió el desarrollo normal de los huevos en los cultivos. El protocolo de ensayo ecotoxicológico empleando *P. venustula* presenta las siguientes ventajas: amplia distribución en el neotrópico, confiabilidad, repetibilidad, alta sensibilidad en comparación a otros caracoles y corta duración del ensayo.

**Palabras clave:** *Physa*, crianza artificial, caracol, condiciones de laboratorio.

<sup>1</sup>Recepción de originales: 4 de julio de 2001.

<sup>2</sup>Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Laboratorio de Ecofisiología, Calle San Marcos 383, Pueblo Libre, Lima 21, Lima-Perú. E-mail: joselorena@terra.com

## INTRODUCCIÓN

La mayoría de los bioensayos ecotoxicológicos más usados requieren cultivos continuos para el mantenimiento de los organismos vivos para obtener un número de animales saludables en las pruebas de toxicidad (Centeno *et al.*, 1995; Lauth *et al.*, 1995; Trottier *et al.*, 1997). Además, la carencia de estandarización de las condiciones físico-químicas de los cultivos de estos organismos biológicos, es la mayor fuente de variación de los resultados en un mismo laboratorio, así como entre laboratorios ecotoxicológicos (Centeno *et al.*, 1995; Wong y Dixon, 1995).

En Perú, en los últimos cinco años, para la evaluación del efecto de plaguicidas y otros tóxicos ambientales en invertebrados no destinatarios de la biota dulceacuícola, se han empleado el cladóceros *Moina macrocopa* (Iannacone y Alvaríño, 1999a); el insecto *Chironomus calligraphus* (Iannacone y Alvaríño, 1998, 1999a), el nematodo *Panagrellus redivivus* (Iannacone y Gutiérrez, 1999) y el caracol de agua dulce *Physa venustula* (Iannacone y Alvaríño, 1999b). Este último, *P. venustula*, es un caracol bentónico propio de la región Neotropical, representado en aguas lénticas dulceacuícolas (Vivar *et al.*, 1996, 1998; Iannacone y Alvaríño, 1999b). Iannacone y Alvaríño (1999b) indicaron que los juveniles de *P. venustula* son fácilmente manipulables en el laboratorio; además el costo de sus cultivos y su concordancia ecológica lo favorecen frente a otros bioensayos estandarizados (Laamrani *et al.*, 2000).

Sin embargo, aspectos cuantitativos y descriptivos de la biología reproductiva de *P. venustula* como la descripción de sus huevos, comportamiento de sus formas inmaduras, ritmo de oviposición, el porcentaje de fecundidad en condiciones de crianza artificial se desconocen.

De esta forma, el objetivo específico fue la determinación de algunos aspectos de la biología reproductiva de *P. venustula* en condiciones de crianza en el laboratorio para su empleo en ensayos ecotoxicológicos por plaguicidas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Cría estandarizada de *Physa venustula*

La identificación y la colección de los caracoles dulceacuícolas *P. venustula* fue descrita por Iannacone *et al.* (2001). Para llevar a cabo los ensayos de ecotoxicidad fue necesario realizar la crianza de *P. venustula*, para la obtención de los juveniles de 0-72 h. Se realizó la crianza de cuatro camadas, compuestas de 30, 82, 131 y de 50 individuos. La primera camada fue alimentada con el alga *Chlorella vulgaris* y las tres últimas con una solución compuesta de Cereal Leaves® (Sigma) más hojuelas de pescado (Tetramin®). A partir de las formas adultas se aislaron individualmente las masas de huevos. Se colocó un individuo adulto en un envase de plástico de 90 mL, conteniendo 15 mL de agua destilada y 0,2 mL de una solución madre compuesta de 0,5 g de "Cereal Leaves®" (Sigma) y 10 g de hojuelas de pescado. Para la preparación de la solución madre se pulverizaron las hojuelas de pescado en un mortero y se hizo una mezcla homogénea con Cereal Leaves®, se suspendió en 150 mL de agua destilada, para posteriormente filtrarlo con una malla planctónica de 45 m y finalmente se adicionaron 100 mL de agua destilada. Esta solución madre se mantuvo en refrigeración a 6 °C. La frecuencia de alimentación fue una vez al día; 0,2 mL de la solución madre para los individuos adultos y 0,1 mL para la obtención de los juveniles. Estas formas juveniles se obtuvieron de las masas de huevos aisladas a partir de los cultivos de los individuos adultos. Durante toda la etapa de crianza estos especímenes fueron transferidos cada dos días a medios frescos. La temperatura de los medios de cría fueron de 23 ± 2 °C.

Además se describieron las características morfológicas de los huevos, el comportamiento de las formas inmaduras, así como algunos problemas de contaminación biológica en el cultivo artificial de *P. venustula*.

### Parámetros físico-químicos del agua

El pH y la conductividad del agua fueron medidos mediante un potenciómetro (Hanna 8417®, Exxon Chemical, Alemania). La determinación de dureza y alcalinidad se realizó empleando los protocolos estandarizados propuestos por la APHA (1989). El oxígeno disuelto se obtuvo por saturación del agua empleada en las crianzas individuales.

### Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía con el propósito de analizar las diferencias entre el promedio de huevos y el número de masas de huevos producidos por camadas de *P. venustula*; así como el promedio de huevos y los días continuos de oviposición de *P. venustula*. El estadístico Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) se utilizó para determinar la existencia de diferencias en la proporción de huevos fecundados por camada alimentados con *C. vulgaris* y Cereal Leaves. Se determinó el grado de significancia, para que en los casos necesarios fuera contrastado *a posteriori* con la prueba de Tukey HSD. Además, se llevó a cabo una correlación de Pearson entre el

número de masas, el número total y el promedio de huevos de *P. venustula*. El nivel de significancia fue de  $\alpha = 0,05$  (Zar, 1996).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Algunos aspectos de la biología reproductiva de *P. venustula* en condiciones de crianza en el laboratorio

Debido a que la biología reproductiva de *P. venustula* no se conoce bajo condiciones de laboratorio, describimos algunas características de los huevos y de las formas inmaduras de esta especie. Las masas de huevos recientes se adhirieron a las paredes y a la base del vaso, su consistencia fue viscosa y pegajosa, tenían la forma de una C, con los extremos redondeados, presentando una hendidura en el centro. La forma de los huevos era elíptica-redondeada y eran transparentes. El número de huevos por cápsula fue de 1 a 45 huevos, siendo el promedio  $12,04 \pm 10,66$  (Cuadro 1), durante el seguimiento realizado por 34 días. El promedio de huevos por masa fue bajo debido a que la postura de la primera semana fue abundante (promedio = 16,21 huevos) y el resto de las semanas disminuyó no-

**Cuadro 1. Producción total de masas de huevos de cuatro camadas del caracol dulceacuícola *Physa venustula***

**Table 1. Total production of egg mass in four batches of the freshwater snail *Physa venustula***

Nº caracoles	Nº masas de huevos	%	Nº total de huevos	Promedio (DS) <sup>1</sup>	Rango
116	0	39,59	—	—	—
62	1	21,16	904	14,58 (11,8) a*	1 – 45
52	2	17,75	1.204	11,58 (11,99) ab	1 – 45
31	3	10,58	858	9,23 (8,01) ab	2 – 37
16	4	5,46	406	6,34 (11,89) bc	1 – 40
9	5	3,07	272	6,04 (8,69) bc	2 – 36
3	6	1,02	91	5,06 (7,25) cd	3 – 28
2	7	0,68	74	5,29 (7,09) cd	4 – 23
2	11	0,68	79	3,59 (4,48) d	4 – 19
293	—	100,00	3.888	—	—

<sup>1</sup>DS = desviación estándar.

\*Letras iguales según la prueba de Tukey indican que no existen diferencias significativas entre el promedio de huevos, según el ANDEVA.

toriamente con un promedio entre 5,44 y 7,20 huevos por cápsula (Cuadro 2). Según Lobato (1986) el promedio de huevos por cápsula para *Physa marmorata* fue de 18,05, valor relativamente alto, debido a que cesó la producción de huevos al séptimo día de iniciada la crianza, y el número de huevos varió de 10 a 29 por cápsula. Ambas especies de *Physa* presentaron altos promedios de huevos por cápsula, lo suficiente como para mantener cultivos viables. La disminución de la postura de huevos para *P. venustula* fue paulatina por dos factores: el primero fue que la producción de huevos siguió un ritmo descendente a través del tiempo, y el segundo debido a la mortalidad de los organismos adultos. El caracol *Lymnaea columella* a 24,7°C produjo un promedio de 28 huevos por masa (Pereira y Magalhaes, 2000).

Desde la postura hasta el segundo día el núcleo del huevo fue de color amarillo, conforme fue madurando el núcleo empezó a subdividirse y cambió a un color blanco. Transcurridos varios días se observó la forma inmadura del caracol; *P. venustula* no presentó forma larvaria tal como lo señalaron Lobato (1986) y Barnes y Ruppert (1997).

En el interior de los huevos los pequeños caracoles mostraron movimientos del pie, área cefálica y de concha, pero también se observaron períodos de inmovilidad; todas sus estructuras eran extremadamente sensibles y frágiles. Al momento de la eclosión en los caracoles dulceacuícolas pulmonados sale un caracol juvenil diminuto, ya completo, con todas sus estructuras claramente identificadas.

**Cuadro 2. Producción total diaria de masas de huevos del caracol dulceacuícola *Physa venustula***  
**Table 2. Total daily egg mass production of the freshwater snail *Physa venustula***

Día	Nº masas de huevos	%	Nº total de huevos	Promedio (DS) <sup>1</sup>	Rango
1	36	10,19	885	24,58 (9,09) a*	5 – 45
2	33	10,19	566	17,15 (11,24) ab	1 – 44
3	34	10,49	671	19,74 (12,53) ab	3 – 45
4	37	11,42	410	11,08 (6,76) bc	1 – 26
7	39	12,04	370	9,49 (7,94) bc	1 – 35
9	54	16,67	413	7,65 (6,51) bc	1 – 36
10	1	0,31	8	8,00 (0) bc	8
11	6	1,85	25	4,17 (0,98) cd	3 – 5
14	31	9,57	216	6,97 (6,05) cd	2 – 25
16	5	1,54	18	3,60 (0,89) cd	3 – 5
17	2	0,62	8	4,00 (0) cd	4
21	22	6,79	143	6,50 (4,17) cd	3 – 16
22	2	0,62	9	4,50 (0,71) cd	4 – 5
24	2	0,62	8	4,00 (1,41) cd	3 – 5
27	2	0,62	14	7,00 (1,41) cd	6 – 8
28	12	3,70	75	6,25 (3,78) cd	3 – 17
30	2	0,62	9	4,50 (0,71) cd	4 – 5
34	1	0,31	6	6,00 (0) cd	6
35	6	1,85	34	5,67 (4,22) cd	1 – 13
<b>Total</b>	<b>324</b>	<b>100,00</b>	<b>3.888</b>	–	–

<sup>1</sup>DS = desviación estándar.

\*Letras iguales según la prueba de Tukey indican que no existen diferencias significativas entre el promedio de huevos, según el ANDEVA.

El tiempo mínimo que tomó la eclosión del huevo fue de 7 a 14 d bajo condiciones experimentales; antes que ésta se complete, se desarrolla completamente la forma inmadura que ocupa todo el espacio del huevo. Además, se observó que la forma inmadura empuja las paredes del huevo con ligeros golpes del área cefálica o masa céfalopodal, desgarrándolas. La forma inmadura mostró movimientos coordinados al salir del huevo. De una masa de huevos no todos se desarrollaron en forma homogénea. En algunos la formación del estado inmaduro fue más lento y en otros no se desarrolló, existiendo huevos no viables dentro de la misma cápsula.

Un problema que se observó durante la crianza de *P. venustula* fue la presencia del rotífero *Philodina acutiformis*, que se comportó como un agente contaminante, que no permitió el desarrollo normal de los huevos en los cultivos. Este rotífero se encuentra en grandes cantidades en las aguas residuales domésticas de Carapongo (observación personal) y es transportado a los cultivos adherido a las conchas de los caracoles. A pesar de competir por el alimento, este rotífero parece no afectar al caracol adulto, pero puede afectar la masa de huevos en desarrollo. *P. acutiformis* logra ingresar a la masa de huevos perforando poco a poco su membrana, enseguida ocupa la superficie de éstos, evitando así que se desarrollen totalmente. La función de la masa gelatinosa que envuelve a los huevos es protección contra todo tipo de contaminante exterior o estrés ambiental (Lobato, 1986, 1987; Barnes y Ruppert, 1997); para nuestro caso la protección ofrecida por la masa gelatinosa fue parcial, ya que el rotífero *P. acutiformis* logró perforarla afectando a los huevos.

La producción de las masas de huevos por el caracol dulceacuícola *P. venustula* siguió un patrón descendente con relación al promedio de huevos (Cuadro 1) y con relación a la producción total diaria de huevos (Cuadro 2); *P. venustula* colocó de 1 a 11 masas de huevos por caracol, observándose un mayor porcentaje de caracoles con 1 y 2 masas de huevos, pero estas masas

contenían mayor cantidad de huevos. En los caracoles que produjeron más masas, éstas contuvieron menor cantidad total de huevos ( $r = -0,804$ ;  $n = 8$ ;  $P = 0,016$ ) y menor promedio de huevos ( $r = -0,863$ ;  $n = 8$ ;  $P = 0,006$ ), a pesar que el número de posturas fue mayor. La postura de las masas de huevos de las cuatro camadas del caracol dulceacuícola *P. venustula* fue abundante, sobre todo durante los primeros días de crianza (del primer al noveno día), los días siguientes disminuyó considerablemente la postura bajo condiciones de laboratorio. El análisis estadístico para la producción diaria de masas de huevos mostró que hubo diferencias significativas entre los días de crianza ( $F = 10,727$ ,  $p = 0,03$ ) (Cuadro 2).

En total 293 caracoles pusieron 329 masas con 3.888 huevos; el porcentaje de fecundidad de la primera camada alimentada con el alga *Chlorella vulgaris* fue baja, comparada con dos camadas que fueron alimentadas con Cereal Leaves, con la excepción de la tercera camada ( $\chi^2 = 31,46$ ; grados de libertad = 3;  $P = 0,002$ ) (Cuadro 3). El porcentaje de fecundidad obtenido para el caracol *P. venustula* fue 65,22% sin considerar la primera camada alimentada con el alga *C. vulgaris* y el porcentaje de fecundidad para las cuatro camadas fue 60,59% (Cuadro 3). Las camadas alimentadas con el extracto acuoso Cereal Leaves presentaron un ligero incremento en el número de masas de huevos, en la frecuencia de la ovipostura y en la longevidad de las formas adultas, expresado por el porcentaje de fecundidad de estas camadas (Cuadro 3). Cereal Leaves constituyó una dieta muy apropiada y completa para el caracol dulceacuícola *P. venustula*; además, demostró ser una dieta apropiada porque contenía alta cantidad de sales evidenciado por el valor de la conductividad (Knight y Waller, 1992).

Se han empleado diversas dietas alternativas bajo condiciones de laboratorio en otros caracoles de agua dulce como *L. columella*, el cual fue cultivado artificialmente bajo dos clases de dietas: lechuga fresca y pellets para roedores + 10% de  $\text{CaCO}_3$  + lechuga fresca, no observándose

**Cuadro 3. Porcentaje de fecundidad de cuatro camadas del caracol *Physa venustula* alimentadas con el alga *Chlorella vulgaris* y Cereal Leaves®**

**Table 3. Fecundity percentage of four batches of the freshwater snail *Physa venustula* fed with the algae *Chlorella vulgaris* and Cereal Leaves™**

Camada	Nº caracoles	Nº masas de huevos	Nº total de huevos	% fecundidad	Alimento
Primera	30	20	281	46,67	<i>Chlorella vulgaris</i>
Segunda	82	105	1.329	78,05	Cereal Leaves
Tercera	131	138	1.433	49,62	Cereal Leaves
Cuarta	50	66	842	68,00	Cereal Leaves
<b>Total</b>	<b>293,00</b>	<b>329</b>	<b>3.885</b>	–	–
Promedio de Cereal Leaves	87,67	101,33	1.201,67	65,22	Cereal Leaves
Promedio	73,25	82,25	971,25	60,59	–

diferencias significativas en el número de huevos producidos por masa en ambas dietas (Pereira y Magalhaes, 2000); en cambio, *Lymnaea viridis* fue alimentado con algas verde azules, obteniendo un rápido crecimiento del número de huevos (Lee *et al.*, 1994). Además, *Lymnaea truncatula* mostró una fecundidad de los huevos entre 59,2 – 68,5% (Dreyfuss *et al.*, 1999).

Los parámetros físico-químicos del medio de crianza y del agua destilada empleada se mencionan en el Cuadro 4. El oxígeno disuelto del agua empleada en las crianzas individuales y en los ensayos ecotoxicológicos fue > 8 mg L<sup>-1</sup>.

La estandarización de la crianza artificial de los caracoles dulceacuícolas del género *Physa* como *P. acuta* y *P. girina*, ha permitido su empleo adecuado en bioensayos ecotoxicológicos (El-Gindy *et al.*, 1992; Nebeker y Schuytema, 1998; Roses *et al.*, 1999).

#### **Protocolo de bioensayo de *Physa venustula* propuesto para la evaluación de riesgos ambientales por agroquímicos**

Las principales características del bioensayo ecotoxicológico realizado con el caracol dulceacuícola *P. venustula*, para evaluar plaguicidas, se observan en el Cuadro 5. La realización de los bioensayos estandarizados involucra tres etapas importantes: a) los cultivos estandarizados de los individuos adultos para la obtención de las masas de huevos; b) el cultivo e incubación de las masas de huevos para la obtención de las formas inmaduras que serán empleados en los bioensayos; y c) la realización del bioensayo con 240 organismos bajo condiciones de laboratorio con una temperatura de 23 ± 2 °C y a pH neutro, aplicando el diseño en bloque completamente aleatorizado (Iannacone *et al.*, 2001). El análisis estadístico para las repeticiones para cada uno de los ensayos indicó que hay una buena

**Cuadro 4. Parámetros fisicoquímicos del medio de crianza y del agua destilada.**

**Table 4. Physicochemical parameters of the rearing medium and the distilled water.**

Muestra	pH	Conductividad mmho cm <sup>-1</sup>	Dureza (CO <sub>3</sub> Ca) mg L <sup>-1</sup>	Alcalinidad (CO <sub>3</sub> Ca) mg L <sup>-1</sup>
Medio de crianza	5,01	249	34	50
Agua destilada	4,49	8,03	2,03	8

**Cuadro 5. Condiciones y criterios de aceptabilidad de la prueba de toxicidad aguda con *Physa venustula***  
**Table 5. Conditions and criteria of acceptability of the acute toxicity test with *Physa venustula***

Tipo de bioensayo	: Estático
Tiempo de exposición	: 24, 48 y 96 h
Temperatura	: 23 ± 2°C
Calidad de luz	: Iluminación ambiente
Fotoperíodo	: 12 h luz, 12 h oscuridad
Tamaño envase	: 90 mL
Volumen de solución	: 15 mL
Edad de organismos	: Juveniles < 72 h
Nº repeticiones por concentración	: 4
Nº de concentraciones más control	: 6
Nº de organismos por concentración	: 40
Régimen de alimentación	: Se requiere alimentación
Aireación	: Sobre 8 mg L <sup>-1</sup>
Agua de control y dilución	: Agua destilada ajustada a pH 7
Tiempo de observación en la placa de recuento:	15 segundos de observación bajo el microscopio estereoscópico.
Respuesta letal	: Mortalidad (ausencia de movimiento en la placa de recuento).
Respuesta subletal	: Desadherencia (suspendido en el medio, no se desliza sobre las paredes del frasco); Desprendimiento cefálico (porción cefálica desprendida).
Criterio de aceptabilidad	: Sobre 80% de supervivencia en los controles.

repetibilidad, y para los tratamientos indicó que son diferentes entre ellos, demostrando la validez estadística del trabajo.

Dado el amplio empleo del género *Physa* en ensayos ecotoxicológicos, presentamos y proponemos el caracol dulceacuícola *P. venustula* para la evaluación de riesgos ambientales por plaguicidas de suelo, ya que ofrece ventajas que otros organismos no presentan como organismo bioindicador, entre ellas tenemos amplia distribución, diversidad, alta sensibilidad, bajo costo, fácil crianza, fácil manipulación, movilidad limitada, fáciles colección e identificación. La evaluación del riesgo juega un papel crucial en el planeamiento estratégico y ayuda a la sociedad en su determinación de las prioridades ambientales; a través de los ensayos ecotoxicológicos se obtienen valores finales como la concentración letal media (CL<sub>50</sub>), y a partir de estos valores se puede determinar el nivel de riesgo o posibles efectos potenciales de los plaguicidas en orga-

nismos no destinatarios del ecosistema acuático (Solomon *et al.*, 1996).

El potencial de los invertebrados como organismos bioindicadores en ensayos de toxicidad está ampliamente demostrado; la ventaja principal en investigación ecotoxicológica es la de mostrar los efectos del tóxico a nivel individual y sus consecuencias posteriores para niveles superiores de organización biológica (población y comunidad). Persoone y Janssen (1993) señalaron que 18 grupos taxonómicos de invertebrados son empleados en ensayos de toxicidad, entre ellos se menciona al *Phylum Mollusca*. De los 18 grupos de invertebrados, sólo los ensayos con cladóceros, como las especies de *Daphnia*, están muy bien estandarizados y ampliamente difundidos. Persoone and Janssen (1993) mencionaron que 10% de los ensayos ecotoxicológicos emplean moluscos, ya sea marinos o dulceacuícolas, como organismos bioindicadores. Las especies dulceacuícolas aceptadas por la American Society for

Testing Materials como organismos bioindicadores para ensayos de toxicidad son los gasterópodos *Physa integra*, *Physa heterostropha* y *Ammicola limosa*.

Iannacone y Alvaríño (1999b) demostraron que el ensayo ecotoxicológico realizado con el caracol dulceacuícola *P. venustula* presenta alta sensibilidad relativa y eficiencia en la detección de la toxicidad de metales pesados; en nuestro caso también se demuestra que *P. venustula* es altamente sensible y eficiente para detectar la toxicidad de plaguicidas. El ensayo con *P. venustula* puede ser considerado dentro de una batería multitrófica para evaluar el impacto ambiental de residuos tóxicos en los ecosistemas dulceacuícolas de una manera global y más acertada (Iannacone *et al.*, 2002). El ensayo con *P. venustula* presenta las ventajas que mencionan Elder y Collins (1991) para ensayos con moluscos, principalmente sensibilidad y repetibilidad para moluscos gasterópodos y bivalvos como organismos bioindicadores de perturbación medio ambiental.

Comparando el ensayo estandarizado con *Daphnia* y el ensayo con *P. venustula*, el primero es un microcrustáceo ampliamente distribuido y presente en muchos hábitat (Thiebaud *et al.*, 1994). *Daphnia* es un organismo ecológicamente importante ya que son consumidores primarios y constituyen una fuente de alimento para muchas especies de peces y *P. venustula* es componente del bentos dulceacuícola, agente competidor en el control biológico de otros gasterópodos hospederos de trematodos y bioindicador de la calidad del agua (Iannacone y Alvaríño, 1999b). El ensayo con *Daphnia* presenta alta sensibilidad a un amplio rango de contaminantes acuáticos, *P. venustula* presenta alta sensibilidad a metales (Iannacone y Alvaríño, 1999b) y a plaguicidas. Los valores de la  $CL_{50}$  para especies de *Daphnia* como *D. magna* y *D. pulex* son cercanos a los valores de la  $CL_{50}$  para *P. venustula* con los plaguicidas evaluados. La crianza de *Daphnia* y *P. venustula* no requiere técnicas elaboradas, son realizables y reproducibles bajo condiciones de

laboratorio. La población abundante del microcrustáceo *Daphnia* y del molusco dulceacuícola *P. venustula* facilitan el muestreo e identificación.

Elder y Collins (1991) mencionaron que la limitada movilidad para moluscos dulceacuícolas y el sedentarismo para el caso de moluscos marinos son características importantes de los moluscos, convirtiéndolos en organismos bioindicadores ideales para proporcionar datos del nivel de contaminación en un área determinada. El empleo de respuestas cuantificables como la  $CL_{50}$  o la concentración efectiva media ( $CE_{50}$ ) de plaguicidas de suelo en *P. venustula* permite el análisis de la evaluación del riesgo ecológico de los plaguicidas, en los diversos ecosistemas y de esta forma tomar decisiones dirigidas a la protección ambiental (Iannacone *et al.*, 2001).

## CONCLUSIONES

1. La oviposición del caracol dulceacuícola *P. venustula* siguió un ritmo descendente a través del tiempo; durante la primera semana la oviposición fue alta mientras que durante las siguientes semanas disminuyó considerablemente. El promedio de huevos por postura fue  $12,04 \pm 10,66$ .
2. El porcentaje de fecundidad de los huevos de caracoles alimentados con Cereal Leaves® fue 65,22%. El alimento Cereal Leaves demostró ser una dieta más completa que la dieta con la microalga *Chlorella vulgaris*.
3. El rotífero *Philodina acutiformis* se comportó como un agente biológico contaminante que no permitió el desarrollo normal de los huevos en los cultivos.
4. La realización de los bioensayos estandarizados empleando al caracol dulceacuícola *P. venustula*, involucró tres etapas importantes: a) los cultivos estandarizados de los individuos adultos para la obtención de las masas de huevos; b) el cultivo e incubación de las



masas de huevos para la obtención de las formas inmaduras que serán empleados en los bioensayos; y c) la realización del bioensayo con 240 organismos bajo condiciones de laboratorio con una temperatura de  $23 \pm 2$  °C y a pH neutro aplicando el diseño en bloque completamente aleatorizado.

## AGRADECIMIENTOS

A los Sres. Manuel Huamán y José Fuertes por su colaboración en el desarrollo de esta investigación.

## LITERATURA CITADA

- APHA. 1989. Standard methods for examination of water and wastewater. 720 p. 17<sup>th</sup> ed. American Public Health Association (APHA), Washington, D.C., USA.
- Barnes, R., and E. Ruppert. 1997. Zoología de invertebrados. 1714 p. Mc Graw Hill Interamericana, México D.F., México.
- Centeno, M.D.F., G. Persoone, and M.P. Goyvaerts. 1995. Cyst-based toxicity tests. IX. The potential of *Thamnocephalus platyurus* as test species in comparison with *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca). Environ. Toxicol. Water Qual. 10:275-282.
- Dreyfuss, G., D. Rondelaud, and C. Varelle-Morel. 1999. Oviposition of *Lymnaea truncatula* infected by *Fasciola hepatica* under experimental conditions. Parasitol. Res. 85:589-593.
- Elder, J., and J. Collins. 1991. Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface-water systems. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 122:37-79.
- El-Gindy, H.I., A.M. Abd El Azeem, and M.A. Mahdi. 1992. Some biological effects of Bayluscide on *Physa acuta* and *Helisoma duryi*. J. Egypt. Soc. Parasitol. 22:729-738.
- Iannacone, J., y L. Alvaríño. 1998. Ecotoxicidad aguda del insecticida organofosforado temephos sobre *Chironomus calligraphus* Goeldi (Diptera: Chironomidae). Acta Entomol. Chilena. 22: 53-55.
- Iannacone, J., y L. Alvaríño. 1999a. Empleo de la lombriz roja del agua dulce *Chironomus calligraphus* y la pulga de agua *Moina macrocopa* para evaluar lindano y clorpirifos. Universidad Nacional Federico Villarreal, Perú. Hipótesis 6:56-61.
- Iannacone, J., y L. Alvaríño. 1999b. Ecotoxicidad aguda de metales pesados empleando juveniles del caracol de agua dulce *Physa venustula* Gould (Mollusca). Gayana 63:101-110.
- Iannacone, J., y A. Gutiérrez. 1999. Ecotoxicidad de los agroquímicos lindano y clorpirifos sobre el nematodo *Panagrellus*, la microalga *Chlorella* y el ensayo con *Allium*. Agric. Téc. (Chile) 59:85-95.
- Iannacone, J., C. Caballero, y L. Alvaríño, L. 2002. Empleo del caracol de agua dulce *Physa venustula* Gould como herramienta ecotoxicológica para la evaluación de riesgos ambientales de plaguicidas. Agric. Téc. (Chile) 62:212-225.
- Knight, J., and W. Waller. 1992. Influence of the addition of Cerophyll® on the *Selenastrum capricornutum* diet of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. Environ. Toxicol. Chem. 11: 521-534.
- Laamrani, H., K. Khallaayoune, E. Boelee, M.M. Laghroubi, H. Madsen, and L. Gryseels. 2000. Evaluation of environmental methods to control snails in an irrigation system in Central Morocco. Trop. Med. Int. Health 5:545-552.
- Lauth, J.R., S.D. Dyer, S.E. Belanger, and D.S. Cherry. 1995. A novel flow-through method for toxicity assessments using *Ceriodaphnia dubia*. Environ. Toxicol. Water Qual. 11:335-343.