

44
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTO DEL NITRITO SOBRE ALGUNAS RESPUESTAS
FISIOLOGICAS DE LA CARPA HERBIVORA
Ctenopharyngodon idella (PISCES,
CYPRINIDAE)**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
FABIAN CONTRERAS ARIZAGA

MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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.

INDICE

	No. pag.
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIALES Y METODOS	
Captura y mantenimiento.....	6
Aclimatación.....	6
Fase experimental	
a. Respuestas respiratorias.....	7
b. Tasa de ingestión.....	8
c. Tasa de crecimiento.....	8
d. Análisis estadístico.....	9
RESULTADOS	
a. Respuestas respiratorias.....	11
b. Tasa de ingestión.....	13
c. Tasa de crecimiento.....	14
d. Proporción de agua.....	15
DISCUSION.....	16
LITERATURA CITADA.....	21
TABLAS.....	26
FIGURAS.....	33

RESUMEN

El nitrito es un elemento intermediario en el proceso de nitrificación. En altas concentraciones, el nitrito puede ser tóxico para los organismos acuáticos debido a que oxida la hemoglobina a metahemoglobina, impidiendo el transporte de oxígeno a los tejidos. En este trabajo, se seleccionó como organismo de prueba a la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* por su importancia en la acuicultura nacional. Se estimó la alteración causada por la exposición crónica al nitrito mediante la evaluación de respuestas fisiológicas indicadoras de estrés, como el consumo y la tasa de extracción de oxígeno, la ingestión de alimento y el crecimiento de los peces.

Las alteraciones causadas por el nitrito se hicieron más evidentes en los organismos expuestos a las mayores concentraciones del contaminante. El consumo de oxígeno y la tasa de extracción de oxígeno se incrementaron en presencia de nitrito, sin embargo, éstas respuestas disminuyeron en las mayores concentraciones del contaminante. El incremento de las respuestas respiratorias de los peces pueden atribuirse a un mecanismo de compensación del organismo, que permite contrarrestar la disminución de la hemoglobina disponible, producto de la exposición al nitrito. Asimismo, la ingestión de alimento y el crecimiento de los organismos fueron menores en presencia del contaminante, lo cual puede indicar el daño causado por el tóxico sobre el metabolismo energético de los peces.

Aunque todas las respuestas fisiológicas indicadoras de estrés utilizadas fueron sensibles a la presencia del contaminante, se destaca la mayor sensibilidad de la tasa respiratoria y el crecimiento.

INTRODUCCION

Actualmente el desarrollo de la piscicultura en México, se basa fundamentalmente en el manejo de especies alóctonas como es el caso de las carpas. El cultivo de las carpas también llamado ciprincultura, tiene un papel muy importante en las actividades acuaculturales del país, ya que incluye el manejo de especies con gran importancia social y económica. El 78% de la superficie de los cuerpos de agua epicontinentales, reúnen las características limnológicas adecuadas para impulsar el cultivo de carpas. Una de las razones de la introducción de los ciprínidos a México, fue proporcionar proteínas de origen animal a las poblaciones rurales marginadas. En particular en la meseta central de México las carpas son bien aceptadas como alimento (Ramírez et al., 1987).

Entre las especies de ciprínidos que se cultivan en México, se encuentra la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* (Val. 1844), la cual ha sido introducida en muchos cuerpos de agua del país, entre otros, es posible localizarla en tres de las grandes cuencas hidrológicas de la meseta central, la del Lerma-Chapala-Santiago, la del Balsas y la del Pánuco (Arredondo y Juárez, 1988).

Es importante señalar que son pocas las especies de peces que se alimentan de macrófitas, como es el caso de la carpa herbívora. Dado que las macrófitas pueden invadir los cuerpos de agua por lo que disminuye el oxígeno disuelto disponible para los organismos, *C. idella* ha sido ampliamente distribuida en muchas regiones del mundo, para ser empleada como control biológico (Hickling, 1966).

Al igual que muchos organismos acuáticos, las carpas están

expuestas a los diversos contaminantes que se producen de manera natural o son depositados por los efluentes de aguas residuales en los cuerpos de agua habitados por dichos organismos.

Uno de los principales contaminantes presentes en los cuerpos de agua epicontinentales es el nitrito (NO_2^-); este anión se encuentra naturalmente en los ambientes dulceacuícolas y salobres ya que es un intermediario en el estado de oxidación del amonio a nitrato (Diab y Shilo, 1988).

En el proceso de nitrificación intervienen dos géneros de bacterias: *Nitrosomonas*, que convierten el amonio a nitrito y *Nitrobacter*, que transforman el nitrito a nitrato. Así, cualquier desequilibrio en las poblaciones de estas bacterias puede causar la acumulación de nitrito en el medio. Se ha reportado que altas concentraciones de nitrito están presentes en diversos efluentes de industrias productoras de metales, tejidos, celulosos y en aguas residuales (Anthonisen et al., 1976). Debido a la densidad de organismos, el nitrito también puede encontrarse en altas concentraciones en algunos sistemas de cultivo de recirculación así como en sistemas cerrados de laboratorio (Tommaso et al., 1979; Watenpaugh y Beitinger, 1988; Rijn y Rivera, 1990).

Los peces captan la mayor parte de los iones nitrito por medio de los mecanismos de transporte de las células de cloro, localizadas en las branquias. En los peces de agua dulce, dichas células intercambian iones amonio o hidrógeno del medio interno por un número similar de iones sodio del medio externo; asimismo, intercambian iones bicarbonato del medio interno, por un número equivalente de iones cloruro (Maetz, 1971). De esta manera el nitrito, debido a su carga negativa y al tamaño de la

molécula, puede ser bombeado hacia la sangre de los peces, ocupando el lugar del ion cloruro (Bath y Eddy, 1980).

En el torrente sanguíneo, el nitrito oxida el fierro a su estado férrico (Fe^{3+}), transformando la hemoglobina a metahemoglobina o ferrihemoglobina; así, esta molécula se caracteriza por la incapacidad de transportar oxígeno a los tejidos de manera reversible. La presencia de metahemoglobina se puede detectar por el color café oscuro de la sangre (Bowser *et al.*, 1983; Lewis y Morris, 1986).

Cuando los niveles de metahemoglobinemia son altos, los organismos mueren de hipoxia, debido a la falta de oxígeno en los tejidos (Hilmy *et al.*, 1987). Varios autores han reportado que el nitrito es capaz de producir inhibición en el crecimiento de algunos peces. Al respecto Bowser *et al.* (1983) y Colt *et al.* (1981) observaron que la tasa de crecimiento del bagre *Ictalurus punctatus* disminuyó significativamente en presencia de este contaminante.

Varios factores influyen en la toxicidad del nitrito, como el pH, la temperatura y las características químicas del agua; Watenpaugh *et al.*, (1985), reportan que la toxicidad del nitrito en *Ictalurus punctatus*, está inversamente relacionada con la temperatura y la acidez del agua; asimismo, demostraron que la exposición prolongada al nitrito disminuye significativamente la tolerancia a la temperatura de estos peces.

Entre los iones de mayor importancia se encuentra el ion cloruro. Algunos autores han demostrado que agregando cloruro al medio, la toxicidad del nitrito disminuye, debido a la competencia que se establece entre ambos iones por los

mecanismos de transporte del organismo (Perrone y Meade, 1977; Williams y Eddy, 1986).

Las alteraciones producidas por algunos factores ambientales o por la presencia de contaminantes en el medio, pueden ser evaluadas a través de las alteraciones del estado estable fisiológico de los organismos. Son varias las respuestas fisiológicas que se consideran como indicadoras de estrés; entre éstas se destacan las respuestas respiratorias y el crecimiento (Sprague, 1971; Jawale, 1985). Asimismo, es posible que algunos otros parámetros relacionados con el metabolismo energético, como la ingestión de alimento de los peces puedan ser considerados como indicadores de estrés.

En los cuerpos de agua donde habitan las carpas, el nitrito puede encontrarse en concentraciones elevadas, convirtiéndose en un contaminante endógeno, que puede incidir en el estado fisiológico de los organismos. En el presente trabajo se determinó el efecto producido por el nitrito en los juveniles de la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* a través de la evaluación de algunas respuestas fisiológicas indicadoras de estrés. Para tal fin se midió el efecto producido por diferentes concentraciones de nitrito sobre el consumo de oxígeno y la tasa de extracción de oxígeno; la tasa de ingestión de alimento y el crecimiento de los juveniles de la carpa herbívora.

MATERIALES Y METODOS

CAPTURA Y MANTENIMIENTO

Para la realización de este trabajo, se utilizaron 100 organismos juveniles (0.17-1.09 g \pm 0.01 g) de la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*. Los peces se colectaron en el Centro de Producción Piscícola de Tezontepec de Aldama, el cual se encuentra ubicado en el estado de Hidalgo, México, a los 20° 03' Lat. N, 99° 77' Long. W y 1690 m sobre el nivel del mar. Los organismos se colectaron en verano.

Los peces se transportaron al Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M., en bolsas de polietileno, con agua del medio natural saturadas con oxígeno.

Una vez en el laboratorio, los organismos se colocaron en acuarios rectangulares de 47 l de capacidad, con agua desclorada, filtrada por carbón activado. El fotoperíodo se fijó en 12 horas de luz y 12 horas de obscuridad; la aireación se mantuvo constante y la temperatura se fijó en 24°C con un calentador de inmersión graduable (Haguen). Los peces se alimentaron con Purina para truchas diariamente; dos horas después de haber suministrado el alimento, se realizó un recambio de un tercio de agua con el fin de retirar el alimento residual.

ACLIMATACION

Después de permanecer una semana en el laboratorio, se inició el período de aclimatación de los juveniles de *C. idella*. En esta fase la temperatura del agua se elevó de 24°C a 29°C, a una tasa de 1°C/día. Una vez alcanzados los 29 \pm 1°C, los organismos permanecieron a esta temperatura por una semana.

Durante esta etapa se mantuvieron las condiciones del período de mantenimiento de los peces. El período de aclimatación a la temperatura tuvo una duración de dos semanas. En seguida, los peces se dividieron en cinco grupos de 19 organismos cada uno y se colocaron en acuarios que contenían un volumen de 10 l de agua dulce artificial (ADA) moderadamente dura, la cual se preparó acorde al criterio de E.P.A. (U.S. E.P.A., 1989). Los peces permanecieron en ADA por 24 horas, antes de comenzar el período de exposición al contaminante. Se registró el peso húmedo (CPH) de las carpas en una balanza de plato (COHAUS \pm 0.01 g) al inicio y al término del período experimental, el cual duró dos semanas.

FASE EXPERIMENTAL

Los juveniles de *C. idella* se expusieron por 15 días a cuatro concentraciones subletales de nitrito a 96 horas las cuales se determinaron en un ensayo previo, dichas concentraciones fueron: 1.0, 1.8, 2.5 y 4.0 mg $N-NO_2^-/l$. El contaminante se aplicó a partir de una solución patrón de $NaNO_2$ (Merck, 99 % de pureza). Se consideró como testigo del experimento un grupo de 19 peces expuestos a ADA en ausencia de contaminante. La temperatura del agua se mantuvo en 29°C durante el desarrollo del experimento.

a. RESPUESTAS RESPIRATORIAS

Para conocer el efecto de las concentraciones subletales del nitrito sobre las respuestas respiratorias de la carpa herbívora, se midió el consumo de oxígeno y la tasa de extracción de oxígeno de los peces expuestos a las diferentes concentraciones de nitrito (0, 1.0, 1.8, 2.5 y 4.0 mg $N-NO_2^-/l$), para lo cual se emplearon respirometros cerrados (Fig. 1). Después de 15 días de exposición al contaminante, los peces se

colocaron en respirómetros individuales de 250 ml con agua de los acuarios de procedencia y con aireación constante. Después de 30 minutos, se tomó una muestra inicial de cada una de las cámaras respirométricas, se retiró la aireación y se sellaron con una lámina de plástico; al cabo de una hora se tomó una muestra final de agua de cada cámara. Se midió la concentración de oxígeno disuelto (mg/l) de las muestras de agua con un oxímetro (YSI-54 ARC, ± 0.05 mg Oz/l). Los valores del oxígeno consumido por los peces se corrigieron por los valores obtenidos en los respirómetros testigo, los cuales se encontraban sin organismo. Todas las mediciones del consumo de oxígeno se realizaron entre las 10:00 y las 14:00 horas.

El consumo de oxígeno de los peces se calculó a partir de la diferencia entre la concentración inicial y la concentración final de oxígeno de las muestras. Los valores de consumo de oxígeno (mg Oz/h) se relacionaron con el peso seco corporal, de acuerdo al modelo potencial (Schmidt-Nielsen, 1984). Los resultados del oxígeno consumido por los organismos se expresaron en mg Oz h⁻¹ g⁻¹ PS.

La tasa de extracción (TE) de oxígeno, medida de la eficiencia de captación de oxígeno por los peces, se calculó para cada condición experimental, empleando la siguiente fórmula:

$$TE (\%) = \frac{[O_2]_i - [O_2]_f}{[O_2]_i} \times 100$$

donde [O₂] se refiere a la concentración de oxígeno disuelto (mg Oz/l) de las muestras de agua, inicial (i) y final (f).

b. TASA DE INGESTION

Con el fin de conocer el efecto del nitrito sobre la ingestión de alimento de los juveniles de *C. idella*, se les proporcionó alimento balanceado al 8% de su peso corporal diariamente. El alimento residual se retiró después de 2 horas de haberse suministrado, mediante un sifón que en uno de sus extremos tenía una red de plancton con una abertura de malla de 500 μ . El alimento colectado en la red se secó en una estufa (BLUE MD a 60°C hasta peso constante y se pesó en una balanza analítica (Sauter ± 0.0001 g). Una vez retirado el alimento remanente se realizó un recambio de un tercio del volumen de agua de los acuarios. La ingestión diaria de alimento en cada grupo experimental se calculó por diferencia entre el peso seco del alimento suministrado y el peso seco del alimento residual. Los resultados obtenidos de la tasa de ingestión se expresaron en $\text{mg d}^{-1} \text{g}^{-1}$ PS.

c. CRECIMIENTO

La tasa de crecimiento de los peces de cada condición experimental, se midió por la diferencia entre el peso seco inicial y el peso seco final de los animales después de 15 días de exposición al contaminante y se expresó en $\text{mg d}^{-1} \text{g}^{-1}$ PS.

d. ANALISIS ESTADISTICO

El consumo de oxígeno (VO_2) se relacionó con el peso seco (PS) de los animales a través de la relación potencial $Y = aX^b$, donde Y es la respuesta fisiológica ($\text{mg O}_2/\text{h}$). X es el peso seco (PS, mg), a y b son constantes. Con el fin de calcular los parámetros del modelo, se efectuaron las regresiones logarítmicas empleando el programa de cómputo STATGRAPHICS (Statistical Graphics System, ver 2.1, 1985). Las diferencias

entre las pendientes de las rectas ($P < 0.05$), correspondientes a los diferentes tratamientos se evaluaron utilizando el análisis de covarianza (Zar, 1974).

El efecto de las concentraciones de nitrito sobre la tasa de extracción de oxígeno, la tasa de ingestión de alimento y el crecimiento de los juveniles de *C. idella* se determinó utilizando el análisis exploratorio de datos a través del diagrama de cajas en paralelo (Tuckey, 1977). Este análisis considera la mediana (M) como medida de tendencia central de los datos; un cuartil inferior (Hi) y un cuartil superior (Hs), dentro de los cuales queda comprendido el 50% de los datos; el 50% restante se encuentra distribuido entre las cotas inferior (Ci) y superior (Cs), acorde con las siguientes formulas:

$$Ci = Hi - (1.5 \Delta H)$$

$$Cs = Hs + (1.5 \Delta H)$$

donde ΔH es la diferencia entre los valores de Hs y Hi y 1.5 es una constante. El intervalo de confianza (IC) de la mediana (95 %) se calculó de la ecuación:

$$IC = M \pm 1.58 (\Delta H / \sqrt{n})$$

donde M es el valor de la mediana, ΔH es la amplitud de la caja (Hs-Hi) y \sqrt{n} es la raíz cuadrada del tamaño de la muestra. El valor 1.58 es una constante (Velleman y Hoaglin, 1981). Se consideraron diferencias significativas cuando los intervalos de confianza (95 %) no presentaron traslape.

RESULTADOS

El análisis físico-químico del agua utilizada durante los periodos de mantenimiento y aclimatación de los organismos, señala que, la alcalinidad fue de 136-139 mg CaCO_3/l , la dureza de 180-190 mg CaCO_3/l , el pH de 8.4-8.7, el oxígeno disuelto de 5.4-5.8 mg O_2/l y el cloruro de 80 a 115 mg Cl^-/l (Tabla 1).

Durante la fase experimental, las características del agua utilizada (agua dulce artificial) fueron las siguientes: la alcalinidad y dureza de 60 a 70 y de 80 a 100 mg CaCO_3/l respectivamente, el pH de 7.4 a 7.8, el oxígeno disuelto de 5.7 a 5.9 mg O_2/l y el cloruro de 6.0 a 6.5 mg Cl^-/l . La adición de las diferentes concentraciones de nitrito durante el periodo experimental no modificaron las características de la calidad del agua utilizada (Tabla 1).

En los periodos de mantenimiento y aclimatación a las condiciones del laboratorio, no se observó mortalidad de los juveniles de *C. idella*.

Al finalizar el periodo de aclimatación, los organismos fueron expuestos a las siguientes concentraciones de N-nitrito: 0, 1.0, 1.8, 2.5 y 4.0 mg/l. Durante la exposición al contaminante, la mortalidad observada en los peces del grupo testigo fue del 5.3 %; en tanto que en los grupos expuestos a 1.0, 1.8, 2.5 y 4.0 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{l}$ la mortalidad observada fue de 5.3, 15.8, 15.8 y 11.1 % respectivamente.

a. RESPUESTAS RESPIRATORIAS

Las regresiones entre el consumo de oxígeno (mg O_2/h) y el peso seco de los peces expuestos a las diferentes condiciones

experimentales resultaron significativas ($P < 0.05$). Los valores de las ordenadas al origen, representan el oxígeno consumido por unidad de peso corporal ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$). El oxígeno consumido de los organismos del grupo testigo fue de $2.02 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$. Sin embargo, los valores del consumo de oxígeno de los grupos expuestos a 1.0, 1.6, 2.5 y 4.0 $\text{mg N-NO}_2/\text{l}$, disminuyeron en 40, 39, 39 y 67 % respectivamente en relación a los peces que permanecieron sin contaminante (Tabla 2; Fig. 2).

Con respecto a la tasa de cambio del consumo de oxígeno en relación al peso seco corporal, la pendiente de la recta logarítmica del grupo testigo fue de 0.84. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) con respecto a la de los organismos expuestos a 1.0 $\text{mg N-NO}_2/\text{l}$, mientras que en los peces expuestos a 1.6, 2.5 y 4.0 $\text{mg N-NO}_2/\text{l}$, las pendientes de las regresiones disminuyeron significativamente ($P < 0.05$) respecto al valor observado en el grupo testigo (Tabla 2; Fig. 2).

El consumo de oxígeno de los peces del grupo testigo fue de $0.54 \text{ mg O}_2/\text{h}$; sin embargo en presencia de 1.0, 1.6, 2.5 y 4.0 $\text{mg N-NO}_2/\text{l}$ la tasa metabólica se incrementó 98.3, 180.6, 175.9 y 77 % respectivamente, en comparación con el grupo testigo ($P < 0.05$). Con respecto a los grupos experimentales, el consumo de oxígeno de los grupos de peces expuestos a 1.0, 1.6 y 4.0 $\text{mg N-NO}_2/\text{l}$ no presentaron diferencias significativas entre sí ($P > 0.05$), sin embargo, la tasa metabólica de los organismos expuestos a 2.5 $\text{mg N-NO}_2/\text{l}$ fue 40.6, y 55.2 % mayor a la observada por las carpas expuestas a 1.0 y 4.0 $\text{mg N-NO}_2/\text{l}$ respectivamente ($P < 0.05$) (Tabla 3; Fig. 3).

La eficiencia de extracción del gas presentó una tendencia

similar a la observada en el consumo de oxígeno (Tabla 4; Fig. 3); esto es, aumentó significativamente al elevarse los niveles de N-nitrito en el medio de 1.0 a 2.5 mg/l. Sin embargo, con un mayor aumento del contaminante, la tasa de extracción de oxígeno disminuyó hasta alcanzar valores semejantes a los de los peces del grupo testigo. Así, en los grupos expuestos a la menor y mayor concentración de N-nitrito no se observaron diferencias significativas respecto al grupo testigo ($P < 0.05$); en cambio, en los grupos de organismos expuestos a 1.6 y 2.5 mg N-NO₂/l los valores fueron 50 % mayores que en éste y 40.7 % que en el grupo expuesto a 4.0 mg N-NO₂/l.

b. TASA DE INGESTION

Con respecto al alimento ingerido durante las dos semanas de exposición al contaminante (Tabla 4; Fig. 4), el valor mediano obtenido para el grupo testigo fue de 190.5 mg d⁻¹ g⁻¹ PS. Los grupos de carpas expuestos a 1.0 y 1.6 mg N-NO₂/l no presentaron diferencias significativas en la cantidad de alimento ingerido en relación al grupo testigo ($P > 0.05$); en cambio, cuando los organismos se expusieron a concentraciones mayores de contaminante, se observó que la ingestión disminuyó al aumentar la concentración de nitrito en el medio. La ingestión de alimento de los peces expuestos a 2.5 y 4.0 mg N-NO₂/l fue de 23.8 y 15.9 % menor respectivamente, en relación a la ingestión obtenida en el grupo testigo ($P < 0.05$). Entre los grupos experimentales, también se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$); los peces expuestos a la menor concentración de contaminante ingirieron 30.5 y 23.3 % más alimento que los organismos expuestos a 2.5 y 4.0 mg N-NO₂/l. Los peces del grupo testigo ingirieron diariamente el 4.4 % de alimento respecto a su peso seco.

mientras que los organismos expuestos a 1.0, 1.6, 2.5 y 4.0 mg N-NO₂/l ingirieron 5.04, 4.71, 3.52 y 3.94 % de su peso húmedo corporal respectivamente.

c. CRECIMIENTO

Los valores de la tasa de crecimiento de los juveniles de *C. idella*, se reportan en unidades de mg d⁻¹ g⁻¹ PS. No se observaron diferencias significativas en el peso inicial de los diferentes grupos experimentales (P > 0.05). El crecimiento de las carpas del grupo testigo fue de 0.054 mg d⁻¹ g⁻¹ PS; mientras que en los grupos de carpas expuestas a las mayores concentraciones de nitrito, la tasa de crecimiento tendió a disminuir significativamente (P < 0.05). En los peces expuestos a 1.0, 1.6 y 2.5 mg N-NO₂/l, el crecimiento disminuyó en 9.26, 59.26 y 59.26 % respectivamente, en relación con los peces que permanecieron sin contaminante. Asimismo, en las carpas expuestas a la mayor concentración de nitrito (4.0 mg N-NO₂/l), la tasa de crecimiento tuvo un valor negativo, es. decir, los animales perdieron peso con respecto a su peso inicial. En cuanto a los grupos experimentales, el crecimiento de los organismos expuestos a 1.0 mg N-NO₂/l, fue de 55.10 % mayor a los peces expuestos a 1.6 mg N-NO₂/l; a su vez el crecimiento de éstos últimos y el de las carpas expuestas a 2.5 mg N-NO₂/l fue similar (Tabla 5; Fig. 5):

Durante las dos semanas que duró la fase experimental, en los peces del grupo testigo se incrementó la biomasa en un 80.8 % con respecto al peso inicial; mientras que las carpas expuestas a 1.0, 1.6 y 2.5 mg N-NO₂/l, presentaron un crecimiento del 74.1, 32.9 y 33.7 % respectivamente en relación a su peso inicial. Por su parte el grupo de carpas expuesto a 4.0 mg N-NO₂/l, perdieron el 36.5 % de su peso durante el periodo

de exposición al contaminante (Tabla 5, Fig. 5).

d. PROPORCION DE AGUA

En relación al porcentaje de agua corporal de los juveniles de *C. idella*, la proporción de agua corporal de los peces de los grupos experimentales fue similar a la observada en el grupo testigo, sin embargo, el porcentaje de agua de los peces expuestos a 1.0 mg N-NO₂/l, fue menor ($P > 0.05$) al porcentaje observado en las carpas expuestas a 1.6 mg N-NO₂/l; a su vez, la proporción de agua corporal de estos últimos (1.6 mg N-NO₂/l) fue menor ($P > 0.05$) a la observada en los peces expuesto a 4.0 mg N-NO₂/l (Tabla 5).

DISCUSION

Los peces, como todos los organismos, se encuentran en íntima relación con el medio que los rodea, de tal manera que cualquier modificación en el medio se refleja directamente en el estado fisiológico del organismo. Uno de los factores que alteran el medio acuático, es la presencia de contaminantes. El nitrito es un contaminante de origen natural que con frecuencia puede alcanzar elevadas concentraciones en los cuerpos de agua, alterando la sobrevivencia y la fisiología de los organismos.

Para determinar el efecto producido por la presencia de contaminantes sobre los organismos acuáticos, es importante cuantificar algunas respuestas fisiológicas indicadoras de estrés (Sprague, 1971). En este trabajo se utilizaron la respuesta respiratoria, la ingestión y el crecimiento de los peces como indicador de estrés producido por el nitrito.

Se seleccionó la respuesta respiratoria de los peces como indicador de las alteraciones producidas por el nitrito, debido a que el principal mecanismo de acción tóxica de éste, es la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina, lo cual reduce la capacidad de la sangre de transportar de oxígeno a los tejidos (Bowser et al., 1983). En consecuencia, en este trabajo se observó que el consumo de oxígeno de las carpas tendió a disminuir en presencia de nitrito.

Una de las alteraciones más evidentes producidas por el nitrito, es la condición de metahemoglobinemia con el subsecuente deterioro de las transferencias de gases entre la sangre y los tejidos, lo cual necesariamente se reflejará en el consumo de oxígeno de los animales. Así, en el bagre *Ictalurus punctatus* expuesto a 1.37 mg N-NO₂/l, la captación de oxígeno

disminuye (Watenpaugh y Beltinger, 1985); Bartlett *et al.* (1987) observaron una respuesta similar en las especies amazónicas *Semaprochilodus insignis* y en *Brycon melanopterus* inyectados intraperitonealmente con nitrito. Sin embargo en el presente trabajo, los juveniles de la carpa herbívora *C. idella* presentaron un patrón de respuesta inversa a la observada en las especies mencionadas, dependiente de las concentraciones de nitrito en el medio. Estos resultados contrastaron con los reportados por Espina *et al.* (1990) para la misma especie; cabe destacar que en este trabajo los especímenes se expusieron por 48 horas a la concentración letal media del nitrito (1.7 mg N-NO₂/l) en ausencia de cloruro y a una temperatura diferente (24°C). En este estudio el consumo de oxígeno observado en las carpas expuestas por dos semanas a 1.0, 1.6 y 2.5 mg N-NO₂/l fue casi dos y tres veces mayor al reportado por el grupo testigo respectivamente.

Por otra parte, la tasa de extracción de oxígeno es una respuesta que permite evaluar la eficiencia con la cual los peces captan el oxígeno disuelto en el medio. Se conoce que los organismos acuáticos presentan la capacidad de regular sus respuestas fisiológicas cuando son expuestos a un déficit de oxígeno, de tal manera que mediante la modificación de las respuestas respiratorias como la eficiencia de extracción de oxígeno y la frecuencia de batido opercular, así como la dilatación y constricción de los vasos sanguíneos, los peces son capaces de mantener su consumo de oxígeno constante (Prosser, 1973). Algunos autores señalan que en un medio con altas concentraciones de nitrito el porcentaje de metahemoglobina en la sangre se incrementa y con ello se reduce la capacidad de captación de oxígeno a través de los pigmentos respiratorios (Huey *et al.*, 1980, 1984; Eddy y Williams, 1987). Debido al mecanismo de acción tóxica del nitrito, podría

esperarse una inhibición de la respuesta respiratoria de los organismos en presencia del contaminante; sin embargo, contrario a lo esperado, ambas respuestas respiratorias (consumo de oxígeno y tasa de extracción del gas) se incrementaron en presencia de las menores concentraciones de nitrito. El aumento en las respuestas respiratorias de las carpas expuestas a bajas concentraciones de nitrito, puede representar una modificación en la respuesta de los animales que permita compensar la insuficiencia de oxígeno causada por el contaminante. En contraste, la disminución en la tasa de extracción del oxígeno aunada a la disminución de la tasa metabólica en presencia de altas concentraciones de nitrito, puede indicar un daño severo causado por el contaminante, el cual se manifiesta en la incapacidad de los peces para compensar la alteración producido por éste.

El consumo de oxígeno y la tasa de extracción del gas son respuestas que se relacionan directamente con el sistema circulatorio y respiratorio de los organismos, en este estudio el nitrito causó modificaciones similares en ambas. Es importante destacar que la disminución del consumo de oxígeno de *C. idella* observado por Dávalos (1992) se relaciona con una exposición de 24 y 48 horas a concentraciones altas de nitrito (CL 50-96 h); en contraste, en este estudio la concentración utilizada fue subletal en 96 horas y después de 15 días de exposición causó una mortalidad menor al 18 % de la población, en todos los casos.

Es posible que el incremento en la eficiencia de extracción del gas compense la probable disminución del consumo de oxígeno, manteniendo éste por arriba del observado en el grupo testigo. Sin embargo, cuando los organismos fueron expuestos a la mayor concentración del contaminante, el estrés causado por el

nitrito fue severo por lo cual la tasa de extracción disminuyó, haciéndose evidente el daño causado por el contaminante en la disminución del consumo de oxígeno de las carpas.

En este estudio se utilizó la ingestión de alimento como indicador de estrés, debido a que éste proceso se relaciona directamente con el metabolismo energético de los animales, ya que a partir de la ingestión del alimento se obtiene la energía utilizada en los procesos fisiológicos. Algunos autores señalan que la ingestión de alimento está relacionada de manera directa con la actividad metabólica de los organismos y se regula de acuerdo a las necesidades energéticas de éstos (Schmidt-Nielsen, 1984). Aunque el incremento en la cantidad del alimento ingerido de los peces expuestos a las menores concentraciones de nitrito, no fue significativamente diferente a la ingestión del grupo testigo, este valor fue mayor al observado en los organismos expuestos a las mayores concentraciones del contaminante. Esto último sugiere que el incremento en la ingestión puede atribuirse a una respuesta de los peces ante el desajuste metabólico causado por el nitrito. Asimismo, la ingestión de alimento de los juveniles de *C. idella*, tendió a disminuir en presencia de las mayores concentraciones de nitrito. Esta disminución de la tasa de ingestión, aunada a la disminución en la tasa del consumo y de extracción de oxígeno en las carpas expuestas a la mayor concentración de nitrito indica que el contaminante altera el metabolismo energético de los peces.

Por otra parte, el crecimiento es conocido como un indicador confiable de estrés producido por los contaminantes. La tasa de crecimiento de los juveniles de *C. idella* disminuyó notoriamente con la presencia de nitrito. El grupo de organismos expuestos a la mayor concentraciones del

contaminante presentó una pérdida de peso en relación a su peso inicial. Es probable que debido a la baja captación de oxígeno de los peces expuestos al contaminante, el desdoblamiento de los alimentos ingeridos disminuya, lo cual se puede manifestar en una menor proporción de energía destinada al crecimiento.

La tasa de crecimiento de los organismos es un parámetro importante en la producción piscícola. Asimismo, la modificación producida por el contaminante en el consumo de oxígeno, la tasa de extracción y la ingestión de alimento de los peces, aunado a la disminución del crecimiento, indican que, aún cuando las concentraciones de nitrito presentes en el medio, no causan mortalidad en la población, el contaminante modificó el estado fisiológico de los peces.

En este trabajo se midió el efecto producido por el nitrito en los juveniles de *C. idella*, a través de varias respuestas indicadoras de estrés. Los resultados obtenidos señalan que la ingestión de alimento de los peces presentó menor sensibilidad al efecto del contaminante en relación a los demás parámetros medidos; no obstante es importante destacar su importancia como indicador del daño producido por el contaminante en los organismos. En contraste el consumo de oxígeno y la tasa de crecimiento resultaron más sensibles al efecto del nitrito, y por lo tanto mejores indicadores del daño causado por éste en los juveniles de *C. idella*. Finalmente se destaca la importancia del consumo de oxígeno como un indicador del estrés producido por el contaminante debido a la alta sensibilidad de la respuesta y al mecanismo de acción tóxico que el nitrito presenta.

LITERATURA CITADA

- Anthonisen, A.C., R.C. Loeher, T.B.S. Parksam and D.E. Srinath. 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Poll. Control Fed.* 48: 835-852.
- Arredondo, J.F., y J.P. Juárez. 1986. *Manual para el cultivo de carpas*. Dirección general de acuicultura, Secretaría de Pesca, México. 121 pp.
- Bartlett, G.R., A.R. Schwante and L.V. Adalberto. 1987. Studies on the Influence of Nitrite on Methemoglobin Formation in Amazonian Fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* 86 C (2): 449-456.
- Bath, R.N., and F.B. Eddy. 1980. Transport of nitrite across fish gills. *J. Exp. Zool.* 214: 119-121.
- Bowser, P.P., W.W. Falls, J. Vanzandt, N. Collier and J.D. Phillips. 1983. Methemoglobinemia in channel catfish: Methods of Prevention. *Progr. Fish-Cult.* 45: (3): 154-158.
- Coll, J., R Ludwig, G. Tchobanoglous and J.J. Cech, Jr. 1981. The Effects of Nitrite on the Short-Term Growth and Survival of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 24: 111-122.
- Dávalos, A.P. 1982. Alteraciones producidas por la exposición aguda al nitrito en la Carpa Herbívora *Ctenopharyngodon idella* Vall (Pisces, Cyprinidae). Tesis de licenciatura en Biología. Fac. Ciencias. U.N.A.M. 39 pp.

- Diab, S. and M. Shilo. 1988. Effect of light on the Activity and Survival of *Nitrosomonas* sp and *Nitrobacter* sp Isolated from Fish Ponds. *Israeli J. Aquat. Biomidqeh.* 40 (2): 50-58.
- Eddy, F.B. and E.M. Williams. 1987. Nitrite and Freshwater Fish. *Chemistry and Ecology.* (3): 1-38.
- Espina, S., G. Alcaraz y P. Dávalos. 1990. Efecto del nitrito sobre la función respiratoria de la carpa herbívora *Ctenopharingodon idella*. XI Congreso Nacional de Zoología, Mérida, Yucatán, 28-31 de Octubre de 1990.
- Hickling, F.C. 1968. On the Feeding Process in the White Amur, *Ctenopharingodon idella*. *J. Zool.*, 148: 408-419.
- Hilmy, A.M., N.A. El-Domiaty and K. Wershana. 1987. Acute and Chronic Toxicity of Nitrite to *Clarias lazera*. *Comp. Biochem. Physiol.* 86 C (2): 247-253.
- Huey, D.W., B.A., Simco and D.W. Criswell. 1980. Nitrite-Induced Methemoglobin Formation in Channel Catfish. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 109: 558-562.
- Huey, D.W., T.L. Beltinger and M.C. Woolen. 1984. Nitrite-Induced Methemoglobin Formation and Recovery in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) at Tree Acclimation Temperatures. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 32: 674-681.
- Javel, M.D. 1985. Effect of pesticides on metabolic rate of freshwater fish *Rosbora doniconius*. *Environ. Ecol.*, 3 (4): 521-523.

- Lewis, W.M. and D.P. Morris. 1986. Toxicity of Nitrite to Fish: A Review. *Trans. Amer. Fish. Societ.* 115 (2): 183-195.
- Maetz, J. 1971. Fish Gills: Mechanisms of Salt Transfer in Freshwater and Sea Water. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 262: 209-249.
- Perrone, S.J. and T.L. Meade. 1977. Protective Effect of Chloride on Nitrite Toxicity to Coho Salmon (*Onchorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 486-492.
- Prosser, C.L. 1973. *Comparative Animal Physiology*. Saunders College Publishing. Philadelphia. 966 p.
- Ramírez H.R., E.M. García, M.A. Gutierrez, P.D. Tamayo y S.R. Escarcega. 1997. *Manual Biotecnológico Para el Cultivo y Reproducción de Ciprinidos en México*. Dirección General de Acuacultura. Secretaría de Pesca, México.
- Rijn, J. and G. Rivera. 1990. Aerobic and anaerobic biofiltration in aquaculture unit-nitrite accumulation as result of nitrification and denitrification. *Acuacult. Eng. g.* 217-234.
- Russo, R.C., C.E. Smith and R.V. Thurston. 1974. Acute Toxicity of Nitrite to Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.* 31: 1653-1655.
- Schmidt-Nielsen, K. 1984. *Fisiología Animal: Adaptación y Medio Ambiente*. Omega. Barcelona, 499 pp.

- 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.
- Tomasso, J.R., B.A. Simco and K.B. Davis. 1979. Chloride Inhibition of Nitrite-Induced Methemoglobinemia in Channel Catfish *Ictalurus punctatus*. *J. Fish. Res. Board Can.* 36: 1141-1144.
- Tuckey, W. J. 1977. *Exploratory Data Analysis*. Addison-Wesley Publ. Company. U.S.A.: 1-21.
- U.S. E.P.A. 1989. Environmental Protection Agency. *Short-term Methods for Estimating Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms*. 2nd Ed. Environmental Monitoring Systems Laboratory. Cincinnati. 249 pp.
- Velleman, P.F. and D.C. Hoaglin. 1981. *Exploratory Data Analysis*. Duxbury Press.
- Watenpaugh, D.E and T.L. Beltinger. 1985. Swimming Performance of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) after Nitrite Exposure. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 34: 754-760.
- Watenpaugh, D.E., T.L. Beltinger and D.W. Huey. 1985. Temperature Tolerance of Nitrite-Exposed Channel Catfish. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 114: 274-278.
- Watenpaugh, D.E., T.L. Beltinger. 1988. Resistance of Nitrite-Exposed Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*, to Hypoxia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 37:

802-807.

Williams, E.M. and F.B. Eddy. 1988. Chloride uptake in freshwater teleosts and its relationship to nitrite uptake and toxicity. *J. Comp. Physiol.* 156: 867-872.

Zar, H.J. 1974. *Biostatistical Analysis*. Englewood Cliffs N.J. 820 pp.

T A B L A S

Tabla 1. Características fisicoquímicas del agua utilizada durante los periodos de mantenimiento y aclimatación (agua filtrada por carbón activado, AFCA) y durante la fase experimental (agua dulce artificial, ADA).

	AFCA	ADA
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /l)	135-139	80-70
Dureza (mg CaCO ₃ /l)	180-190	80-100
pH	8.4-8.7	7.4-7.8
Oxígeno D. (mg O ₂ /l)	5.4-5.8	5.7-5.9
Cloruro (mg Cl ⁻ /l)	80-115	8.0-8.5

Tabla 2. Parámetros de las rectas de regresión del consumo de oxígeno en función del peso seco de los juveniles de *C. idella*, expuestos a diferentes concentraciones de nitrito (mg N-NO₂/l) por 15 días. R² = coeficiente de determinación; P = nivel de probabilidad (α = 0.05).

N-nitrito (mg/l)	a	b	R ²	P
0	2.02	0.84	0.995	0.000
1.0	1.22*	0.85	0.952	0.000
1.8	1.24*	0.36*	0.994	0.000
2.5	1.24*	0.38*	0.940	0.000
4.0	0.87*	0.49*	0.999	0.000

* Diferencias significativas (P < 0.05) en relación al grupo testigo.

Tabla 3. Elementos del diagrama de cajas en paralelo correspondientes al consumo de oxígeno (mg Oz/h) de los juveniles de *C. idella*, espuecos por 15 días a diferentes concentraciones de nitrito

	N-nitrito (mg/l)				
	0	1.0	1.5	2.5	4.0
M	0.54	1.08	1.51	1.49	0.96
H1	0.41	0.95	1.01	1.41	0.85
Hs	0.88	1.21	1.65	1.67	1.05
ΔH	0.47	0.28	0.64	0.28	0.20
Cl	0.30	0.58	0.05	1.02	0.58
Cs	1.59	1.60	2.01	2.04	1.35
IC	(0.29- 0.79)	(0.91- 1.22)	(1.17- 1.85)	(1.35- 1.63)	(0.66- 1.08)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla 4. Elementos del diagrama de cajas en paralelo correspondientes a la tasa de extracción de oxígeno (%) de los juveniles de *C. idella*, expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones de nitrito (mg N-NO₂/l).

	N-nitrito (mg/l)				
	0	1.0	1.6	2.5	4.0
M	24.50	33.40	49.12	49.20	29.10
H1	21.43	28.19	29.71	46.92	24.75
Hs	27.66	40.62	50.33	53.76	32.56
ΔH	6.23	12.43	20.62	6.94	7.81
C1	12.06	9.54	28.24	36.65	13.06
Cs	37.00	50.26	66.77	64.02	44.27
IC	(22.18- 26.82)	(26.46- 40.34)	(38.26- 59.98)	(45.60- 52.80)	(25.10- 33.00)

Tabla 5. Elementos del diagrama de cajas en paralelo correspondientes a la tasa de ingestión de alimento $\text{Cmg d}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$ en relación al peso seco de *C. idella*, expuestas durante 15 días a diferentes concentraciones de nitrito $\text{Cmg N-NO}_2^{-}/\text{l}$.

	N-nitrito (mg/l)				
	0	1.0	1.6	2.5	4.0
M	190.5	208.9	182.8	145.2	180.2
Hi	163.3	193.9	170.3	126.8	148.4
Hs	209.2	267.8	217.6	167.2	169.3
AH	45.9	73.9	47.3	40.4	20.9
Cl	94.5	830.1	99.3	55.2	117.0
Cs	278.0	378.6	288.5	227.8	200.6
IC	(189.5- 211.5)	(176.6- 241.2)	(182.1- 203.5)	(127.5- 162.9)	(151.1- 169.3)

Tabla 6. Peso seco inicial (PSi, mg), peso seco final (PSf, mg), crecimiento por día (C mg d^{-1}) y crecimiento por día por gramo de peso seco de organismo ($\text{C mg d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$) de los juveniles de *C. idella* expuestas a diferentes concentraciones de nitrito ($\text{mg N-NO}_2^-/\text{l}$).

N-nitrito mg/l	PSi (mg)	PSf (mg)	C (mg d^{-1})	C ($\text{mg d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$)
0	85.4	154.4	4.6	0.054
1.0	72.9	126.9	3.6	0.049
1.6	78.7	104.6	1.7	0.022
2.5	61.5	109.0	1.8	0.022
4.0	79.1	50.2	-1.9	-0.024

Tabla 7 .Peso húmedo (mg), peso seco (mg) y porcentaje de agua de los juveniles de *C. idella*, expuestas a diferentes concentraciones de nitrito por 15 días. Se señalan valores medianos y su intervalo de confianza (M \pm IC; 95 % confianza).

N-nitrito (mg/l)	n	PH (mg)	PS (mg)	% de agua
0	18	1092.7	154.4	85.87 (84.61-87.13)
1.0	18	903.2	126.9	85.95 (84.98-86.56)
1.6	16	888.2	104.6	84.71 (84.45-84.93)
2.5	16	893.8	109.7	84.29 (82.79-85.81)
4.0	17	367.2	50.2	86.33 (85.85-86.87)

FIGURAS

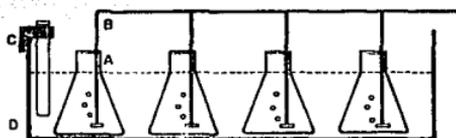


Fig.1- Respirómetro. A- cámaras respirométricas; B- distribución de aire; C- calentador de inmersión ; D- acuario contenedor.

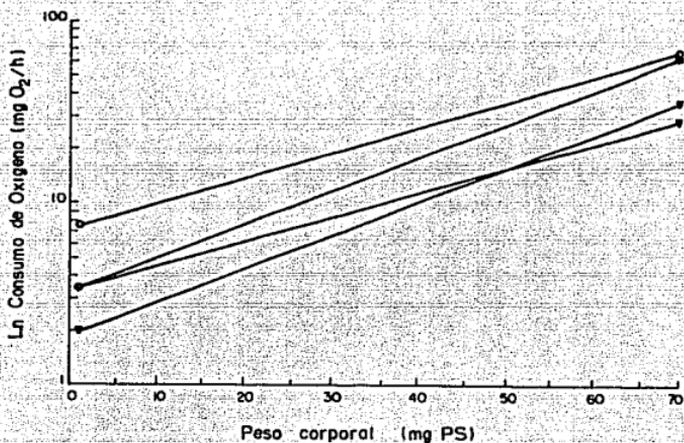


Fig. 2.- Relación del consumo de oxígeno (mg O₂ h) y el peso seco (mg PS) de los juveniles de *C. idella* expuestos por 15 días a diferentes concentraciones de nitrito (mg N-NO₂/l).

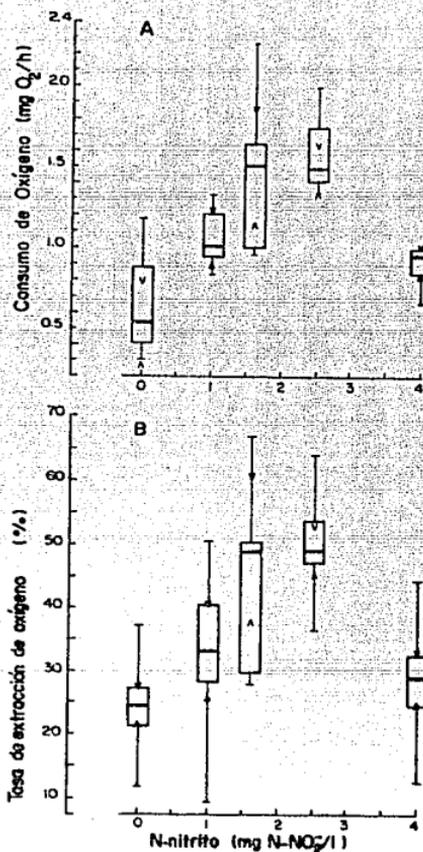


Fig.3- Diagrama de cajas en paralelo del consumo de oxígeno (mg O₂/h)(A) y de la tasa de extracción de oxígeno (%)(B) de los juveniles de *C. idella* expuestos por 15 días a diferentes concentraciones de nitrito (mg N-NO₂/l).

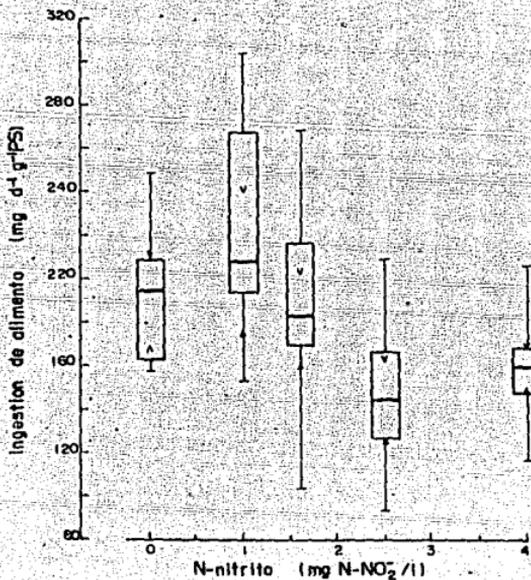


Fig. 4.- Diagrama de cajas en paralelo de la tasa de ingestión de alimento ($\text{mg d}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$) de los juveniles de *C. idella* expuestos por 15 días a diferentes concentraciones de nitrito $\text{mg N-NO}_2/\text{l}$.

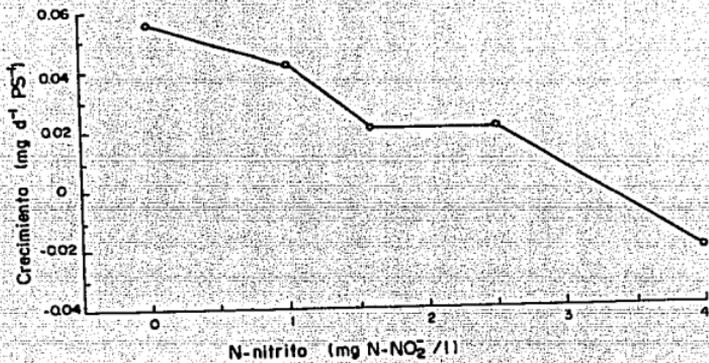


Fig.5- Crecimiento ($\text{mg d}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$) de los juveniles de *C. idella* expuestos durante 15 días a diferentes concentraciones de nitrito ($\text{mg N-NO}_2/\text{l}$).