

41
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"ALTERACIONES PRODUCIDAS POR LA EXPOSICION AGUDA AL NITRITO EN LA CARPA HERBIVORA, Ctenopharyngodon idella VAL (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:
PABLO DAVALOS ABREGO

MEXICO, D. F.

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

I N D I C E

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Materiales y Métodos.....	7
Resultados.....	13
Discusión.....	18
Literatura citada.....	22
Tablas.....	27
Figuras.....	34

RESUMEN

El nitrito se produce como un compuesto intermediario en la oxidación del amonio a nitrato. Aunque normalmente en medios acuáticos las concentraciones de nitrito son bajas, existen circunstancias que pueden provocar su aumento, resultando tóxico para los organismos acuáticos.

Debido a la importancia que tiene la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*, en nuestro país, resulta necesario conocer las condiciones locales en que se desarrolla.

En este trabajo se determinó la toxicidad del nitrito en *C. idella* en exposiciones agudas y se evaluó el efecto del cloruro como inhibidor de ésta, teniendo como indicadores de las alteraciones producidas por la exposición al nitrito, la sobrevivencia y la respuesta respiratoria de los peces.

Se obtuvo la CL_{50} - 96 h en 1.71 mg N-NO₂⁻/L, en 24°C y utilizando agua destilada como diluyente del contaminante. Este valor resultó menor que el calculado para otras especies de ciprinidos por otros autores; esto se atribuye a que la concentración iónica utilizada en los experimentos fue baja.

Se comprobó el efecto antagónico del cloruro respecto a la toxicidad del nitrito al disminuir hasta en un 30% la mortalidad de los peces expuestos a un medio con la combinación de ambos iones.

También se observó que las tasas de captación de oxígeno y de extracción del gas disminuyen significativamente al exponer a las carpas al nitrito; sin embargo éstas tasas se normalizaron cuando se agregó cloruro al medio.

INTRODUCCION

El nitrito es un intermediario en la oxidación del amonio a nitrato. La nitrificación del amonio es realizada por bacterias de los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, que promueven la oxidación del amonio a nitrito y a nitrato, respectivamente. En aguas oxigenadas el nitrito se encuentra normalmente en concentraciones menores de 0.005 mg/L. Sin embargo, si ocurren desequilibrios en la dinámica poblacional de las bacterias, el nitrito puede alcanzar concentraciones letales o limitantes (Diab y Shilo, 1988). Estas circunstancias pueden presentarse en sistemas de cultivo recirculante, en sistemas cerrados de laboratorio, en aguas residuales y en sistemas naturales en donde la biomasa es particularmente alta (Tomasso *et al.*, 1979; Watenpaugh y Beltinger, 1986).

Los peces pueden almacenar iones por medio de la dieta y muchos también son capaces de acumular iones a través de mecanismos de transporte asociados con las células del cloro. En peces dulceacuícolas las células lamelares, localizadas en el epitelio branquial, intercambian iones amonio o hidrógeno (internos) por un número igual de iones sodio (externos) e intercambian iones bicarbonato (internos) por un número equivalente de iones cloruro del medio (Maetz, 1971). De esta manera, el nitrito puede ser bombeado hacia el interior de los peces reemplazando al ión cloruro (Bath y Eddy, 1980). Algunos autores (Colt y Tchobanoglous, 1976; Wedemeyer y Yasutake, 1978), discuten la posibilidad que el nitrito penetre por difusión en forma de ácido nitroso y que en el interior del pez se disocie formando nitrito, aunque según Lewis y Morris (1986) ésta hipótesis es cuestionable.

En la sangre el nitrito actúa como agente oxidante de la hemoglobina, por lo que el fierro cambia al estado ferrico (Fe^{3+}). La hemoglobina oxidada se denomina metahemoglobina y es una forma incapaz de transportar oxígeno (Bowser *et al.*, 1983; Freeman *et al.*, 1983). Cuando aumenta la proporción de metahemoglobina en la sangre y por lo tanto se reduce la capacidad de entregar oxígeno a los tejidos, se produce la muerte del organismo por hipoxia. Un síntoma visible de altas concentraciones de metahemoglobina es la coloración café en la sangre de las branquias (Bowser *et al.*, 1983; Lewis y Morris, 1986; Hilmy *et al.*, 1987)

Varios factores influyen en la toxicidad del nitrito, como el pH, la temperatura y la composición iónica del agua, especialmente la presencia del ión cloruro (Huey *et al.*, 1982). El nitrito y el cloruro compiten por los mecanismos de transporte a través de la branquia. Tomando en cuenta esta característica, Perrone y Meade (1977) demostraron que agregando cloruro al medio se puede inhibir la competencia del nitrito por penetrar al interior del pez y por lo tanto disminuir la toxicidad del contaminante.

El cloruro no es el único ión que contrarresta el efecto tóxico del nitrito. El bicarbonato es efectivo, pero en menor grado que el cloruro; su importancia radica en que constituye una alta fracción de los aniones totales en aguas dulces. Se han estudiado aniones divalentes y trivalentes, como el sulfato, fosfato y borato, pero su efecto protector es mínimo en comparación al cloruro. También existen datos sobre el efecto de los cationes naturales en aguas dulces como el calcio (Wedemeyer y Yasutake, 1978), pero en general han sido poco estudiados.

Watenpaugh *et al.* (1985), mencionan que la toxicidad aguda del nitrito en los peces se relaciona inversamente con

la temperatura y con la acidez del agua. Sin embargo, otros autores señalan que sólo valores extremos de pH (menor de 5 ó mayor de 10) tendrían algún efecto sobre la toxicidad, aunque estos valores no se observan en condiciones naturales (Bath y Eddy, 1980; Lewis y Morris, 1986).

Por otra parte, Watenpaugh *et al.* (1985) demostraron que la exposición prolongada al nitrito disminuye significativamente la tolerancia térmica de los organismos.

Las variaciones en la talla y en la condición física pueden influir en la capacidad de los peces para tolerar altos niveles de metahemoglobinemia y consecuentemente, altos niveles de nitrito ambiental (Russo *et al.*, 1974; Perrone y Meade, 1977).

Por otra parte, bajos niveles de oxígeno pueden afectar la toxicidad del nitrito debido a que como se mencionó anteriormente, el nitrito reduce la capacidad de la sangre para transportar oxígeno. Por lo tanto, la reducción del oxígeno en el medio puede alterar aún más la condición fisiológica del pez (Lewis y Morris, 1986).

El mayor porcentaje de metahemoglobina se alcanza dentro de las primeras 24 h de exposición de los peces al contaminante; después de este lapso la formación y reducción de metahemoglobina alcanza el equilibrio, debido a la acción del sistema de la metahemoglobina-reductasa (Bowser *et al.*, 1983; Freeman *et al.*, 1983).

Generalmente, se requiere una exposición de 24 h para que la acumulación de nitrito en el pez sea máxima. Así, una CL₅₀ significativa (concentración letal para la mitad de los organismos experimentales en un tiempo específico) de exposiciones agudas se da probablemente en este lapso; una

mortalidad significativa puede resultar de exposiciones cortas si la concentración es alta. La CL₅₀ declina después de 24 horas, aunque los lapsos utilizados generalmente en ensayos de toxicidad agudos son de 24 a 96 h como en el caso de muchos contaminantes, debido a que la CL₅₀-96 h proporciona la estimación más adecuada de la tolerancia de los peces bajo condiciones específicas; sin embargo, la concentración de nitrito a la cual no se produce mortalidad en los peces es la misma a 96 h que a 8 días (Lewis y Morris, 1986).

La acumulación del nitrito es una de las alteraciones más críticas de la calidad de agua en sistemas de cultivo. Aunque ésta puede ser un fenómeno efímero, se debe tomar en cuenta debido a los efectos nocivos que produce en los peces (Hilmy et al., 1987).

Lewis y Morris (1986) realizaron estimaciones de la toxicidad del nitrito sobre algunas especies de ciprinidos y obtuvieron la CL₅₀ - 96 h en *Pimephales promelas*, *Phoxinus laevis*, *Semotilus atromaculatus* y *Cyprinus carpio* con valores de 2.99, 28.0, 41.0 y 32.0 mg N-NO₂⁻/L respectivamente. Sin embargo, en la literatura existe únicamente el reporte de un ensayo sobre la toxicidad del nitrito realizado por Hongtai y Degao (1989) en la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*, señalando una CL₅₀ - 96 h de 4.62 mg N-NO₂⁻/L a 30°C.

Por lo tanto, es de interés evaluar el efecto del nitrito, en exposiciones agudas, en la sobrevivencia y sobre algunas respuestas fisiológicas de esta especie, específicamente sobre la respuesta respiratoria debido a que por la acción misma del nitrito, puede ser considerada como un buen indicador del estrés producido por el contaminante aunque éste se encuentre en concentraciones subletales. Al respecto, Jawale (1985) utilizó el consumo de oxígeno como

una medida indirecta de las alteraciones metabólicas que indican una condición de estrés fisiológico, producido por la acción de un pesticida.

La carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*, es una especie alóctona procedente de China; fue introducida en México, junto con otras especies de carpas, a principios de los años sesentas con el objeto de repoblar cuerpos de agua naturales como ríos y lagos. Actualmente, en nuestro país, el 60% de la actividad piscícola de agua dulce se apoya en estas especies (Aguilera *et al.*, 1988). Considerando lo anterior, es necesario realizar investigaciones que contribuyan a evaluar la adaptación de las especies foráneas a las condiciones locales en que se desarrollen (Arredondo, 1987).

Por lo anteriormente expuesto, los objetivos específicos del presente estudio fueron los siguientes:

- a) Determinar la CL₅₀ - 96 h del nitrito ($N-NO_2^-$) en los juveniles de la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*.
- b) Medir el estrés producido por la toxicidad del nitrito sobre los organismos a través de la respuesta respiratoria.
- c) Evaluar el efecto del cloruro sobre la toxicidad del nitrito y la respuesta respiratoria de la carpa herbívora expuesta al contaminante.

MATERIALES Y METODOS

Los juveniles de la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*, utilizados en este trabajo (de longitud total de 37.41 ± 1.08 mm y 0.46 ± 0.04 g de peso húmedo, en promedio) fueron proporcionados por el Centro de Reproducción Piscícola. Este centro se encuentra localizado en el municipio de Tezontepec de Aldama, Estado de Hidalgo, con coordenadas geográficas de $20^{\circ} 03'$ latitud norte; $99^{\circ} 17'$ longitud oeste y 1610 m.s.n.m. (Arredondo, 1987).

El traslado de los animales, del Centro de Reproducción al Laboratorio, se realizó en bolsas de polietileno con agua de los estanques, insufladas con oxígeno.

MANTENIMIENTO

En el Laboratorio, los peces se distribuyeron en acuarios de 60 L a una densidad de un organismo por litro de agua, manteniendo una aireación suave y constante. Durante cuatro días se recambió una cuarta parte del volumen total de cada acuario hasta reemplazarlo completamente por agua filtrada por carbón activado (AFCA) y reposada por 48 h, con el fin de disminuir la concentración de cloruro. Las características del agua fueron: pH 7 (potenciómetro Whatman, ± 0.2), 6.8 mg O_2/L (oxímetro YSI mod 54 ARC ± 0.1 mg O_2/L), 44 mg HCO_3^-/L de alcalinidad y 125 mg Cl^-/L (APHA, 1985). La temperatura de los acuarios se mantuvo en $24 \pm 1^{\circ}C$ con calentadores de inmersión regulables (Hagen). Esta temperatura correspondió a la de los estanques de procedencia de los animales en la época en que se efectuó la recolecta y

se mantuvo durante todo el tiempo que duró el trabajo, al igual que el fotoperiodo que se fijó en 12 h luz/12 h oscuridad. Con el fin de conservar la calidad del agua se recambió diariamente un tercio del volumen de cada acuario. Se suministró alimento balanceado comercial y alfalfa (75:25) una vez al día, durante las dos horas previas al recambio de agua. Los peces se mantuvieron en estas condiciones por 10 días.

FASE EXPERIMENTAL

I. Bioensayos agudos.

La concentración letal media (CL 50) de nitrito en los juveniles de *C. idella* se determinó mediante bioensayos de tipo estático, sin recambio de agua (Buikema *et al.*, 1982), con aireación suave y constante y temperatura de $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Tanto los ensayos preliminares como los definitivos se realizaron en acuarios de vidrio.

El nitrito se administró en forma de sal sódica (NaNO_2 , Merck; 99%). Se preparó una solución patrón de nitrito ($0.29 \text{ M NaNO}_2 = 20 \text{ mg/ml}$) a partir de la cual se prepararon las concentraciones utilizadas en todos los experimentos efectuados.

El suministro de alimento se suspendió el día anterior al inicio de los experimentos. Los peces se colocaron a una densidad de un organismo por 1.2 L de agua en cada condición.

Se efectuaron dos bioensayos preliminares para determinar el intervalo de concentraciones de nitrito más adecuadas para el ensayo definitivo. El primer bioensayo se

hizo con AFCA reposada por 24 h, como medio de dilución del contaminante. Se utilizaron las siguientes concentraciones nominales: 0.0, 4.06, 8.12, 16.23, 32.46, 40.58 y 50.72 mg $N-NO_2^-/L$. En el segundo ensayo se probaron concentraciones de 81.10 a 197.77mg $N-NO_2^-/L$; sin embargo, como los peces aparentemente se encontraban en buenas condiciones, se realizó un ensayo preliminar utilizando agua destilada (AD), con 0.0, 10, 20 y 30 mg $N-NO_2^-/L$. Desde el momento en que se agregó el contaminante se hicieron observaciones a los 15, 30, 45 y 90 min y en seguida a las 3, 6, 12, 24 y 48 horas.

Con base en los resultados obtenidos en los experimentos anteriores se efectuó el ensayo definitivo para determinar la concentración letal media de nitrito a las 96 h ($CL_{50} - 96 h$), en el cual se utilizaron las siguientes concentraciones: 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 y 8.0 mg $N-NO_2^-/L$.

En seguida, se realizaron los experimentos tendientes a comprobar el efecto del cloruro respecto a la toxicidad del nitrito, para lo cual se prepararon nueve diferentes combinaciones de nitrito-cloruro resultantes de tres concentraciones nominales de nitrito : 2.0, 2.7 y 4.4 mg $N-NO_2^-/L$ y tres de cloruro: 5.0, 6.0 y 8.5 mg Cl^-/L . En ambos experimentos se utilizó AD para la dilución del contaminante. Se reporta la mortalidad de los organismos después de 96 h de exposición.

II. Respuesta respiratoria

El consumo de oxígeno se midió en carpas expuestas durante 24 y 48 al nitrito en presencia y ausencia de cloruro, en AFCA y en AD (4.0 mg Cl^-/L). La concentración de nitrito utilizada fué 1.71 mg $N-NO_2^-/L$ y las de cloruro 4.0, 5.0, 6.0 y 8.5 mg Cl^-/L .

La tasa se midió en respirómetros cerrados. Como

cámaras respirométricas se emplearon matraces Erlenmeyer de 250 ml, con suministro de aire constante. La temperatura se mantuvo en 24 ± 1 °C por medio de un baño termorregulado.

Se colocó un organismo en cada respirómetro, una hora antes de iniciar el experimento, con el fin de reducir el estrés producido por la manipulación. Se tomó una muestra inicial del agua del respirómetro y se midió la concentración de oxígeno. Después de tomada dicha muestra los respirómetros se cerraron y se suspendió el suministro de aire. Al cabo de una hora se tomó una segunda muestra. El oxígeno consumido por cada pez se obtuvo por diferencia entre las concentraciones de ambas muestras determinadas mediante un oxímetro (YSI mod 54 ARC, ± 0.1 mg O₂/L). Los valores obtenidos se corrigieron por los obtenidos en los respirómetros testigos, sin animales.

La tasa de extracción de oxígeno (TE) se calculó, para cada condición experimental, empleando la fórmula:

$$TE (\%) = \frac{[O_2]_1 - [O_2]_2}{[O_2]_1} * 100$$

donde [O₂] es la concentración de oxígeno y los subíndices se refieren a las muestras tomadas al inicio (1) y al término (2) del periodo experimental (1 h).

ANALISIS ESTADISTICO

Para calcular la CL 50 de nitrito, se empleó el programa de cómputo DORES (Ramírez, 1989), el cual permitió seleccionar el modelo de mejor ajuste de los datos.

Con el fin de analizar el efecto del nitrito en

presencia de cloruro, se llevó a cabo la regresión entre la tasa de mortalidad (Y) y la razón iónica, $N-NO_2^- : Cl^- : CX$. Como los valores de ambas variables no tienen distribución normal (Zar 1974), se efectuó la transformación angular de los datos:

$$Y' = \arcseno \sqrt{Y}$$

donde Y' es la tasa de mortalidad transformada, arcseno es la función trigonométrica y \sqrt{Y} es el valor cuadrático del porcentaje de esta tasa expresado en forma centesimal. De igual manera se transformó la variable independiente (X). La relación entre ambas variables se obtuvo del ajuste por mínimos cuadrados de la expresión lineal:

$$Y'_i = a + bX'_i + e_i \quad (i = 1, 2, 3, \dots, n)$$

donde Y' y X' son las variables dependientes e independientes transformadas; \underline{a} y \underline{b} son parámetros correspondientes a la intersección ($X'=0$) y a la pendiente de la recta, respectivamente; e_i corresponde a los residuos o error del modelo (Montgomery y Peck 1987). Por residuos se entiende la diferencia existente entre los valores observados (Y) y esperados (\hat{Y}), obtenidos utilizando el modelo. La bondad del ajuste se obtuvo de los estimadores de los parámetros de la ecuación y del análisis de residuos. En estos análisis se empleó el programa de cómputo STATGRAPHICS, versión 2.1 (Stat. Graph. Co., 1985-1986).

La relación entre los componentes de la respuesta respiratoria (consumo de oxígeno y tasa de extracción de oxígeno) y la concentración de nitrito en presencia y ausencia de cloruro en el medio, así como la de los controles en AFCA y AD, se visualizó a través del diagrama de cajas en paralelo (Tuckey, 1977). Se calcularon los elementos que caracterizan la caja, esto es, la mediana (M), los límites

superior (Hs) e inferior (Hi) y las cotas superior (Cs) e inferior (Ci) acorde con las ecuaciones:

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

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

donde ΔH es la diferencia entre Hs y Hi, es decir, la amplitud de la caja; 1.5 es una constante (Velleman y Hoaglin, 1985).

La mediana (M) es la medida de tendencia central utilizada; el intervalo de confianza (95%) de este valor (IC) se calculó de la expresión:

$$IC = M \pm 1.58 \frac{\Delta H}{\sqrt{n}}$$

donde M es el valor de la mediana; ΔH , la amplitud de la caja y \sqrt{n} es el valor cuadrático del número de casos de la muestra; como anteriormente, 1.58 es una constante (Velleman y Hoaglin, 1985).

La existencia de diferencias significativas, a un nivel de confianza del 95 %, entre las condiciones experimentales se estableció por medio de la comparación de los intervalos de confianza (IC) de la mediana de cada distribución. Cuando no se observó traslape de los IC, las diferencias se consideraron significativas.

RESULTADOS

Durante las fases de mantenimiento y aclimatación de los juveniles de *C. idella* a las condiciones del laboratorio ($24 \pm 1^{\circ}\text{C}$) se obtuvo un 100 % de sobrevivencia.

En los bioensayos preliminares efectuados con agua filtrada por carbón activado (AFCA), no se registró mortalidad aunque las concentraciones de nitrito fueron altas (198 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$) en comparación con las utilizadas para otros ciprinidos, las cuales se encuentran en un intervalo de 52 a 63 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$ (Lewis y Morris, 1986).

En el ensayo definitivo se empleó agua destilada (AD) para aislar el probable efecto antagonico del cloruro sobre la toxicidad del nitrito (Perrone y Meade, 1977).

Los resultados de la toxicidad del nitrito sobre los peces muestran que la mortalidad se incrementó al aumentar concentración de nitrito y también por el tiempo de exposición al contaminante (Tabla I; Fig. 1). Cuando las carpas se expusieron a la mayor concentración de nitrito (8 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$), a las 48 h había muerto el 85.7% de los animales y a las 96 h no sobrevivió ninguno. En 4.0 mg/L del contaminante, a las 48 h la sobrevivencia fue del 57.1%; a las 72 h del 21.1% y a las 96 h sólo sobrevivió el 7.1% de la muestra. Cuando la concentración de nitrógeno-nitrito, en el medio, fue de 2.0 mg/L, el 78.6% de los peces sobrevivieron hasta las 72 h y sólo el 35.7% a las 96 horas. En las menores concentraciones ensayadas, sobrevivió el 85.7% en 1 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$ a las 96 h y el 100% en 0.5 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$. En las carpas expuestas por 96 h al agua destilada, solamente, la

sobrevivencia fue del 100%. Estos resultados se procesaron con el programa de cómputo DORES (Ramírez, 1989), con el cual se demostró que el modelo de mejor ajuste fue el Logit ($Y = \ln(P/(1-P)) / X$). Con este análisis, la concentración letal resultante para la mitad de los organismos expuestos al nitrito (Tabla II) en 96 h (CL50 - 96 h), fue de 1.71 ± 0.22 mg $N-NO_2^-/L$ ($P < 0.01$).

Los resultados de los experimentos en los cuales se midió el efecto del cloruro sobre la toxicidad del nitrito mostraron que en presencia del ión, la mortalidad de los peces experimentó una importante reducción (Tabla III, Fig. 2), independientemente de la concentración de nitrito; sin embargo, la acción protectora del cloruro resultó ser más eficiente en concentraciones de nitrito altas. De esta manera, con una concentración de 2.0 mg/L de nitrógeno-nitrito en el medio, la mortalidad se redujo del 20% al 10 % cuando el cloruro aumentó de 5.0 a 6.5 mg Cl^-/L . Con 2.7 mg $N-NO_2^-/L$ y la menor concentración de cloruro (5 mg Cl^-/L) la mortalidad fue del 38.38% y se redujo a 22.42% al agregar al medio 6.5 mg Cl^-/L . En los organismos expuestos a 4.4 mg $N-NO_2^-/L$, la mortalidad disminuyó del 89.25% en 5 mg Cl^-/L , al 59.18% cuando se agregó 6.5 mg Cl^-/L al medio (Fig 2).

Con el fin de predecir la influencia del cloruro sobre la toxicidad del nitrito se efectuó un análisis de regresión simple entre la tasa de mortalidad de los organismos (\hat{M}) como variable dependiente (Y) y la razón iónica $NO_2^-:Cl^-$ (R) como variable independiente (X) (Tabla III). El mejor ajuste de los datos correspondió al modelo lineal, obtenido a partir de la transformación angular de los datos (Steel y Torrie, 1988). Los valores de la pendiente y de la intersección en Y fueron de 1.814 y -50.835, respectivamente. Así, el modelo obtenido (Fig. 3) quedó

conformado de la siguiente manera:

$$\hat{Y}' = -50.835 + 1.814 X'$$

donde Y' es el valor esperado de la mortalidad y X' es la razón iónica mencionada. El apóstrofe indica que los valores se codificaron empleando la transformación angular (Steel y Torrie, 1990). Los estimadores del modelo se presentan en la Tabla IV.

Con respecto a la tasa de consumo de oxígeno (Tabla V; Fig. 4) de *C. idella* expuesta a la CL 50 - 96 h de nitrito (1.71 mg $N-NO_2^-/L$) por 24 h, presentó valores significativamente menores ($p < 0.05$) en los peces que se encontraban con 4.0 mg/L de cloruro en el medio respecto a los controles de AD (4.0 mg Cl^-/L) y de el AFCA (con 125 mg Cl^-/L , sin nitrito) y los del grupo que se colocó en 8.5 mg Cl^-/L .

También se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en las carpas que se colocaron a una concentración de cloruro de 8.0 mg/L con los que permanecieron en AFCA y AD.

Aunque no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los peces expuestos a 1.71 mg $N-NO_2^-/L$ con 4.0, 5.0 y 8.0 mg Cl^-/L (0.40, 0.42 y 0.80 mg O_2/h , respectivamente), en la tasa de consumo de oxígeno se observó una tendencia a aumentar hasta valores similares a los controles, cuando la concentración de cloruro en el medio se incrementaba.

A las 48 h de exposición de las carpas a las condiciones antes mencionadas, la tasa de consumo de oxígeno fue similar en ambos grupos testigos ($p > 0.05$). En las carpas

expuestas a la combinación de nitrito y cloruro, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos cuyo medio contenía 4 y 6.5 mg Cl^-/L ; entre los grupos con 5 y 6.0 mg Cl^-/L y 5 y 6.5 mg Cl^-/L , con una tasa de consumo de oxígeno menor en los organismos que permanecieron en 5.0 mg Cl^-/L . También se observó la misma tendencia, a aumentar la tasa de consumo de oxígeno, que la que se presentó en los peces expuestos por 24 h al nitrito, a medida que aumentaba la concentración de cloruro en el medio.

En lo concerniente a la tasa de extracción de oxígeno (Tabla VI, Fig. 5), a las 24 h de exposición de los organismos a las condiciones experimentales, se observó que ésta tiende a aumentar cuando se incrementaba la concentración de cloruro en el medio. En las carpas que estuvieron en 4.0 mg Cl^-/L se obtuvo una tasa de extracción de 6.35 %/h, siendo significativamente ($p < 0.05$) menor que la observada en el grupo expuesto al AD (10.1 %/h), al AFCA (11.6 %/h) y a la de los peces expuestos a 6.5 mg/L de cloruro (12.5 %/h). No se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los peces expuestos a 5.0, 6.0 y 6.5 mg/L de cloruro (6.77, 9.52 y 12.50 %/h respectivamente); asimismo, no se observaron diferencias entre los controles de AD y de AFCA ($p > 0.05$).

En el periodo de 48 h de exposición, el patrón de comportamiento de la tasa de extracción de oxígeno fue similar al observado a las 24 horas. En 4.0 mg Cl^-/L (8.64 %) no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) con los controles de AD y AFCA (10.1 y 11.6 %). La tasa de extracción disminuyó significativamente en 5.0 mg Cl^-/L (5.56 %) respecto de los controles de AD Y AFCA. En los peces expuestos a 6.0 y 6.5 mg/L de cloruro se registró un aumento en la tasas de extracción (9.67 y 12.90 %), aunque no fueron significativamente diferentes a los observados en los

controles en AD y AFCA ($p > 0.05$).

En general se observó que el comportamiento de las tasas de consumo de oxígeno y de extracción del gas de las carpas presentaron las mismas tendencias, aumentando a medida que se incrementaba la concentración de cloruro en el medio, en presencia de $1.71 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L}$.

DISCUSION

El nitrito puede alcanzar altas concentraciones en el medio, lo cual altera la sobrevivencia y el desarrollo de los organismos acuáticos. Se conoce que la toxicidad del nitrito depende de la calidad del agua, principalmente de la presencia del ión cloruro en el medio; sin embargo, el efecto tóxico del nitrito varía considerablemente entre las especies bajo condiciones similares de calidad del agua (Palachek y Tomasso, 1984; Williams y Eddy, 1986).

En los primeros ensayos realizados, utilizando agua filtrada por carbón activado con 125 mg Cl^-/L se observó que a pesar de utilizar concentraciones de nitrito elevadas no se registró mortalidad en los peces. Sin embargo, utilizando agua destilada como medio de dilución, se obtuvo un 50% de mortalidad de la muestra experimental con 1.7 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$ (CL_{50} - 96 h). La diferencia de la toxicidad en los diferentes medios de dilución del contaminante se atribuye a la distinta concentración iónica del medio, lo cual ha sido ampliamente demostrado (Perrone y Meade, 1977; Wedemeyer y Yasutake, 1978; Tomasso *et al.*, 1979; Bowser *et al.*, 1983).

Lewis y Morris (1986) estandarizaron la concentración de cloruro y caracterizaron a los salmónidos como una familia sensible al efecto tóxico del nitrito, por una parte, y por otra los ciprinidos como muy tolerantes y a los centrárquidos como particularmente resistentes. La concentración letal media (96 h) de nitrito que reportan con 20 mg/L de cloruro en el medio, para algunos ciprinidos son: para *Pimephales promelas*, 41 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$; para *Cyprinus carpio* de 52 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$ y para *Semotilus atromaculatus* de 83 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$. La CL_{50} - 96 h obtenida para *C. idella* en este trabajo fue 1.71 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$, concentración que resulta muy por debajo de la

reportada para las diferentes especies de ciprinidos. Esto se debe principalmente a las diferencias en las condiciones experimentales y la calidad del agua utilizada.

El efecto protector del cloruro con respecto a la toxicidad del nitrito fue evidente en los experimentos en los cuales los juveniles de *C. idella* se expusieron a la combinación de ambos iones. Es decir, cuando la razón resultante de la combinación nitrito-cloruro fue alta, la mortalidad de los organismos disminuyó; asimismo, la tasa de mortalidad obtenida mantuvo una relación proporcional a la razón molar $\text{NO}_2^- - \text{Cl}^-$.

La disminución de la toxicidad del nitrito en presencia de altas concentraciones de cloruro se atribuye al mecanismo de transporte de cloro que se lleva a cabo en las células del cloro, que se encuentran localizadas en el epitelio branquial (Maetz, 1971). De esta manera el nitrito y el cloruro penetran a través de la misma vía, no obstante, el mecanismo de entrada presenta una menor afinidad por el nitrito (Bath y Eddy, 1980; Krous et al., 1982; Gaino et al., 1984; Williams y Eddy, 1986). Al respecto, Perrone y Meade (1977) demostraron que la tolerancia de *O. kisutch* se incrementó cuando la concentración de cloruro en el medio era alta. Resultados similares han sido obtenidos por otros autores (Wedemeyer y Yasutake, 1978; Bath y Eddy, 1980; Bowser et al., 1983) para diferentes especies de peces.

En la sangre, el nitrito oxida la hemoglobina impidiendo el transporte de oxígeno a los tejidos (Bowser et al., 1983; Freeman et al., 1983). La anoxia producida por la acción del nitrito puede conducir a la muerte del organismo.

Los peces captan el oxígeno del medio a través de las

branquias en un sistema de contracorriente de la circulación sanguínea y el flujo de agua (Schmidt-Nielsen, 1984). Un pez con elevados niveles de metahemoglobina no puede captar el oxígeno del medio. Por esta razón se podría esperar que la tasa de consumo de oxígeno resulte menor en los organismos expuestos al contaminante.

Respecto a lo anterior, en el presente estudio se observó que el nitrito disminuye la respuesta respiratoria de los peces. Se conoce que mediante la combinación de respuestas respiratorias (frecuencia del batido opercular) y circulatorias (vasodilatación-vasoconstricción) los peces pueden mantener relativamente constante el consumo de oxígeno (Prosser, 1973). Sin embargo, en un pez en estado de metahemoglobinemia estos mecanismos no contrarrestan el efecto tóxico del nitrito, ya que funcionan para dar un aporte mayor de oxígeno a la sangre, pero ésta no puede captarlo. Esto se hizo evidente al observar que las tasas de captación y de extracción de oxígeno presentan la misma tendencia a disminuir en presencia de nitrito.

Al agregar cloruro al medio se inhibe la entrada del nitrito al organismo, con lo cual se impide la formación de metahemoglobina (Williams y Eddy, 1986). En este trabajo las tasas de captación y extracción de oxígeno de las carpas, que se colocaron en un medio con nitrito y concentraciones mayores de 6 mg/L de cloruro, presentaron valores similares a los controles (no se observaron diferencias significativas), lo cual refleja la inhibición de la toxicidad del nitrito por la adición de cloruro al medio.

En conclusión, la presencia de nitrito en el medio altera el estado estable fisiológico de los juveniles de la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*, lo cual se puso en evidencia a través de la sobrevivencia y las modificaciones

ocurridas en la tasa de consumo de oxígeno y en la eficiencia de extracción del oxígeno disponible en el medio. Esto guarda relación con el nivel de metahemoglobina en sangre, aunque no se cuantificaron dichos niveles.

Los resultados del presente estudio permitieron conocer algunas de las alteraciones producidas por la exposición aguda al nitrito en la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*; sin embargo, los experimentos se realizaron bajo condiciones controladas de laboratorio. Esto es, la temperatura se mantuvo en 24°C y se utilizó agua destilada como medio de dilución con el fin de aislar y observar el efecto del nitrito y el cloruro. Debido a esto, estos resultados no son extrapolables a las condiciones naturales, ya que existen muchos factores que conforman al medio ambiente que deben de ser considerados.

LITERATURA CITADA

- AGUILERA, P. H., E. ZARZA, y R. SANCHEZ, 1988. *La Carpa y su Cultivo*. Secretaria de Pesca. FONDEPESCA. México, 46 p.
- A. P. H. A., 1985. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Ed. Franson, M. A. H. United States of America, 1268 p.
- ARREDONDO, J. L., 1987. *Policultivo Experimental de Ciprinidos Asiaticos en Mexico*. Tesis Doctoral. Inst. Cienc. Mar y Limnol. U.N.A.M. 129 p.
- BATH, R. N., and F. B. EDDY, 1980. Transport of nitrite across fish gills. *The Journal of Experimental Zoology*, 214: 119-121.
- BOWSER, P. R., W. W. FALLS, J. VanZANDT, N. COLLIER and J. D. PHILLIPS, 1983. Methemoglobinemia in channel catfish: methods of prevention. *Prog. Fish-Cult.*, 45 (3): 154-158.
- BUIKEMA, A. L., B R. NIEDERLEHNER and J. CAIRNS Jr., 1982. Biological monitoring part IV - Toxicity testing. *Water res.*, 16: 239-262.
- COLT, J., and G. TCHOBANOGLIOUS, 1978. Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish. *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 8: 209-224.
- 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. Baniqqed*, 40 (2): 50-56.

- FREEMAN, L., T. L. BEITINGER and D. W. HUEY, 1983. Methemoglobin reductase activity in phylogenetically diverse piscine species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 75B (1): 27-30.
- GAINO, E., A. ARILLO and P. MENSI, 1984. Involvement of the gill chloride cells of trout under acute nitrite intoxication. *Comp. Biochem. Physiol.*, 77A (4): 611-617.
- HILMY, A. M., N. A. EL-DOMIATY and K. WERSHANA, 1987. Acute and chronic toxicity of nitrite to *Clarias lazera*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86C (2): 247-253.
- WANG, H. and D. HU, 1989. Toxicity of nitrite to grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in ponds and its way of prevention. *J. Fish. China/Shuichan Xuebao.*, 13 (3): 207-214.
- HUEY, D. W., M. C. WOOTEN, L. A. FREEMAN and T. L. BEITINGER, 1982. Effect of pH and chloride on nitrite-induced lethality in bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 28: 3-6.
- HUEY, D. W., T. L. BEITINGER and M. C. WOOTEN, 1984. Nitrite-induced methemoglobin formation and recovery in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) at three acclimation temperatures. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 32: 874-881.
- MAETZ, J., 1971. Fish Gills: Mechanisms of salt transfer in freshwater and sea water. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 262: 209-249.
- MICHAEL, M. I., A. M. HILMY, N. A. EL-DOMIATY and K. WERSHANA, 1987. Serum transaminases activity and histopathological changes in *Clarias lazera* chronically exposed to nitrite. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86C (2): 255-262.

- JAWALE, M.D., 1985. Effect of pesticides on metabolic rate of freshwater fish *Rasbora daniconius*. *Environ. Ecol.*, 3 (4): 521-523.
- KROUS, S.T., V.S. BLAZER and T.L. MEADE, 1982. Effect of acclimation time on nitrite movement across the gill epithelia of rainbow trout: the role of "Chloride Cells". *Prog. Fish-Cult.*, 44 (3): 126-130.
- LEWIS, W.M., and D.P. MORRIS, 1986. Toxicity of nitrite to fish: a review. *Transactions of the American Fisheries Society*, 115 (2): 183-195.
- MENSI, P., A. ARILLO, C. MARGIOCCO and G. SCHENONE, 1982. Lysosomal Damage under Nitrite Intoxication in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* RICH.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 73C (1): 161-165.
- PALACHEK, R.M., and J.R. TOMASSO, 1984. Toxicity of nitrite to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), tilapia (*Tilapia aurea*), and largemouth bass (*Micropterus salmoides*): evidence for a nitrite exclusion mechanism. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 1739-1744.
- 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.
- RAMIREZ, A., 1989. DORES. *Ensayos Biologicos y pruebas de toxicidad*. Curso Regional INDERENA/PAC/PNUMA/FAO/COI. Cartagena, Colombia.
- 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: 1853-1855.

- SCHMIDT-NIELSEN, K., 1984. *Fisiología Animal: Adaptación y Medio Ambiente*. Omega. Barcelona, 499 p.

- SCHWEDLER, T. E., and C. S. TUCKER. 1983. Empirical relationship between percent methemoglobin in channel catfish and dissolved nitrite and chloride in ponds. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 112: 117-119.

- SMITH, C. E., and W. G. WILLIAMS. 1974. Experimental nitrite toxicity in rainbow trout and chinook salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, (2): 389-390.

- STATGRAPHICS, 1985. *Statistical Graphics System, Version 2.1*. Statistical Graphics Corporation.

- STEEL, R. G. D., y J. H. TORRIE. 1990. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. McGraw-Hill. México, 622 p.

- THURSTON, R. V., R. C. RUSSO and C. E. SMITH, 1978. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 107 (2): 361-368.

- 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.

- TOMASSO, J. R., and G. J. CARMICHAEL, 1986. Acute toxicity of ammonia, nitrite, and nitrate to the Guadalupe bass, *Micropterus treculi*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 36: 866-870.

- TUCKEY, W. J., 1977. *Exploratory Data Analysis*.

Addison-Wesley Publ. Company. U. S. A., : 1-21.

- VELLEMAN , P. F. and D. C. HOAGLIN, 1981. *Exploratory Data Analysis*. Duxbury Press.

- WATENPAUGH, D. E., and T. L. BEITINGER, 1985. Temperature tolerance of nitrite-exposed channel catfish. *Transactions of the American Fisheries Society*, 114: 274-278.

- WATENPAUGH, D. E., and L. BEITINGER, 1986. Resistance of nitrite-exposed channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to hypoxia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 37: 802-807.

- WEDEMEYER, G. A., and W. T. YASUTAKE, 1978. Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 35: 822-827.

- WILLIAMS, E. M., and F. B. EDDY, 1986. Chloride uptake in freshwater teleosts and its relationship to nitrite uptake and toxicity. *J. Comp. Physiol. B*, 156: 867-872.

- ZAR, J. H., 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey, 820 p.

T A B L A S

Tabla I. Supervivencia (%) de juveniles de *C. idella* expuestos a diferentes concentraciones de nitrito (mg N-NO₂⁻/L).

Tiempo de exposición (h)	Concentración, de nitrógeno-nitrito					
	0.0	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
24	100	100	100	100	100	100
48	100	100	100	92.9	57.1	14.3
72	100	100	100	78.6	21.1	14.3
96	100	100	85.7	35.7	7.1	0.0
120	100	85.7	28.6	28.6	0.0	0.0

Tabla II. Valores de la CL 50 de nitrógeno-nitrito para los juveniles de *C. idella* a diferentes tiempos de exposición.

Tiempo (h)	CL 50 (mg/L)	Error Estandar	χ^2	gl
48	4.45	0.57	0.016*	1
72	3.04	0.55	1.630*	1
96	1.71	0.22	0.059*	1
120	1.50	0.22	0.001*	1

* : significativo ($p < 0.05$)

Tabla III. Relación entre la mortalidad (M, %) y la razón nitrito : cloruro (R) en *C. idella*.

$N-NO_2^-$	Cl^-	R	M	R'	M'	\hat{M}
2.0	5.0	0.41	0	39.23	0.00	20.02
2.7	5.0	0.56	80	47.29	63.43	38.38
4.4	5.0	0.85	100	69.73	90.00	89.25
2.0	5.5	0.35	10	35.06	18.43	12.29
2.7	5.5	0.45	70	42.13	56.79	26.20
4.4	5.5	0.76	40	58.69	39.23	66.83
2.0	6.5	0.31	20	33.83	26.56	10.32
2.7	6.5	0.43	20	40.39	26.56	22.42
4.4	6.5	0.69	10	55.55	18.43	59.18

\hat{M} = Valor esperado de la Tasa de Mortalidad (%).

R' y M' corresponden a la transformación angular de ambas variables.

Tabla IV. Parámetros y estimadores de la regresión lineal entre la tasa de mortalidad (Y') y la razón iónica nitrito : cloruro (X').

PARAMETROS Y ESTIMADORES	Y	Y
INTERSECCION, A	-50.619	-50.835
PENDIENTE, B	1.810	1.814
ES (A)	29.890	0.176
ES (B)	0.620	0.004
T (A)	-1.694	-288.656
T (B)	2.916	499.845
P (A)	0.186	0.000
P (B)	0.043	0.000
REG. TOTAL		
F	8.506	250 × 10 ⁸
P	0.043	0.000
r ²	0.680	0.999
oest.	19.325	0.119
D. W.	—	2.023
gl	5	8

Tabla V. Elementos del diagrama de cajas en paralelo (EL) de la tasa de consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2/\text{h}$) de *C. idella* expuesta al nitrito ($1.71 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L}$) y a diferentes concentraciones de cloruro ($\text{mg Cl}^-/\text{L}$) durante 24 y 48 horas.

EL	A		B		C		D		E	F
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	48h	48h
M	0.40	0.49	0.42	0.35	0.60	0.60	0.80	0.80	0.70	0.65
Hs	0.40	0.54	0.58	0.44	0.90	0.80	1.10	0.90	0.80	0.80
Hi	0.35	0.35	0.35	0.28	0.50	0.60	0.60	0.70	0.52	0.48
ΔH	0.05	0.19	0.23	0.16	0.40	0.20	0.50	0.20	0.28	0.32
Cs	0.70	0.61	0.73	0.58	1.00	1.00	1.40	1.20	1.22	1.00
Cl	0.30	0.26	0.21	0.20	0.20	0.50	0.40	0.60	0.10	0.20
IC	(0.37, 0.43)	(0.37, 0.61)	(0.28, 0.56)	(0.24, 0.46)	(0.30, 0.81)	(0.50, 0.70)	(0.55, 1.05)	(0.70, 0.90)	(0.80, 0.80)	(0.57, 0.75)

A = 4.0, B = 5.0, C = 6.0, D = 6.5 $\text{mg Cl}^-/\text{L}$.

CONTROLES: E = AGUA DESTILADA; F = AGUA FILTRADA POR CARBON ACTIVADO.
125 $\text{mg Cl}^-/\text{L}$

Tabla VI. Elementos del diagrama de cajas en paralelo (EL) de la tasa de extracción de oxígeno (%/h) de *C. idella* expuesta al nitrito (1.71 mg N-NO⁻/L) y a diferentes concentraciones de cloruro (mg Cl⁻/L) durante 24 y 48 horas.

EL	A		B		C		D		E	F
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	48h	48h
M	8.35	8.64	6.77	5.56	9.52	9.67	12.50	12.00	10.10	11.60
Hs	6.70	9.23	10.79	6.77	14.29	12.90	17.74	14.29	12.80	12.70
HI	4.84	6.15	5.08	4.31	8.07	9.52	9.52	11.29	7.40	8.40
ΔH	1.04	3.08	5.71	2.46	6.43	3.38	8.22	3.00	5.40	4.30
Cs	12.00	10.90	11.10	11.30	15.80	16.20	19.00	15.80	18.00	17.40
Cl	4.70	4.50	3.20	4.50	6.20	7.80	6.50	9.50	2.00	5.50
IC	(5.10, 7.51)	(6.66, 10.62)	(3.30, 10.18)	(3.82, 7.29)	(6.18, 12.86)	(7.89, 11.45)	(8.39, 16.60)	(11.4, 14.4)	(8.50, 11.6)	(10.0, 13.1)

A = 4.0, B = 5.0, C = 6.0, D = 6.5 mg Cl⁻/L.

CONTROLES: E = AGUA DESTILADA; F = AGUA FILTRADA POR CARBON ACTIVADO, 125 mg Cl⁻/L.

FIGURAS

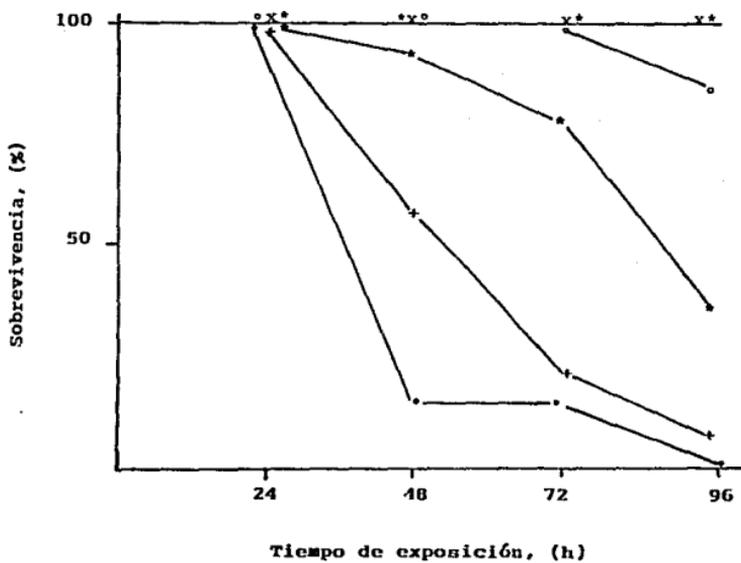


Fig. 1. Sobrevivencia (%) de *C. idella* expuesta a diferentes concentraciones de nitrito (mg N-NO₂/L). x=0.0; * = 0.5; ° = 1.0; * = 2.0; + = 4.0; ° = 8.0

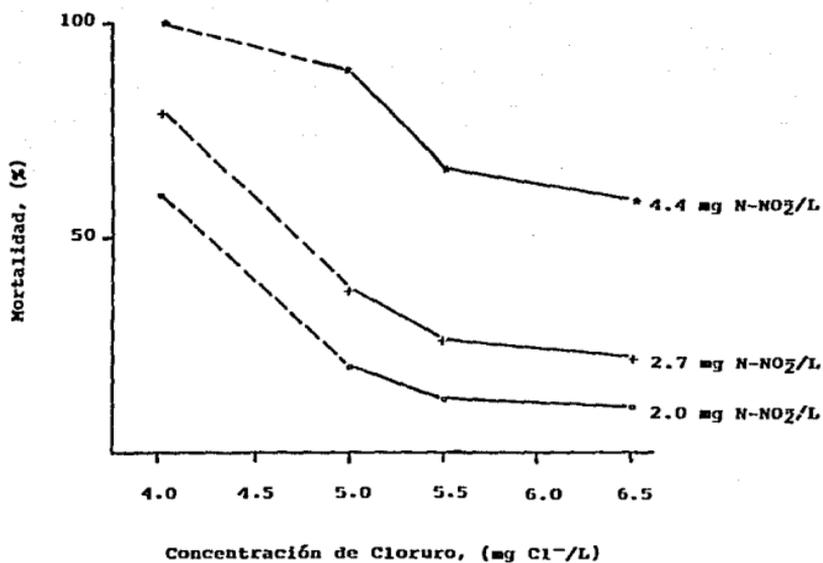


Fig.2. Mortalidad (%) de *C. idella* expuesta por 96 h a diferentes concentraciones de nitrito (mg N-NO₂/L) en presencia de cloruro (mg Cl⁻/L).

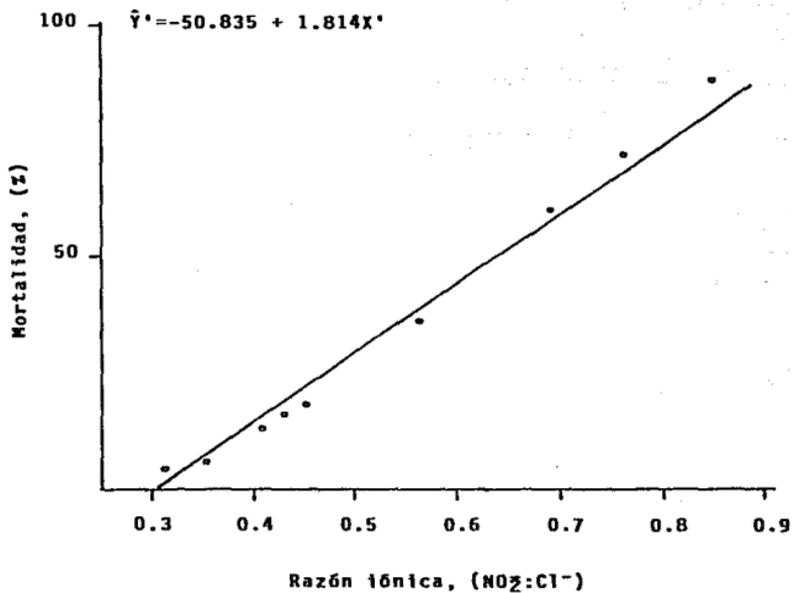


Fig. 3. Relación entre la mortalidad (%) y la razón nitrito : cloruro. Y' y X' se refiere a los datos codificados.

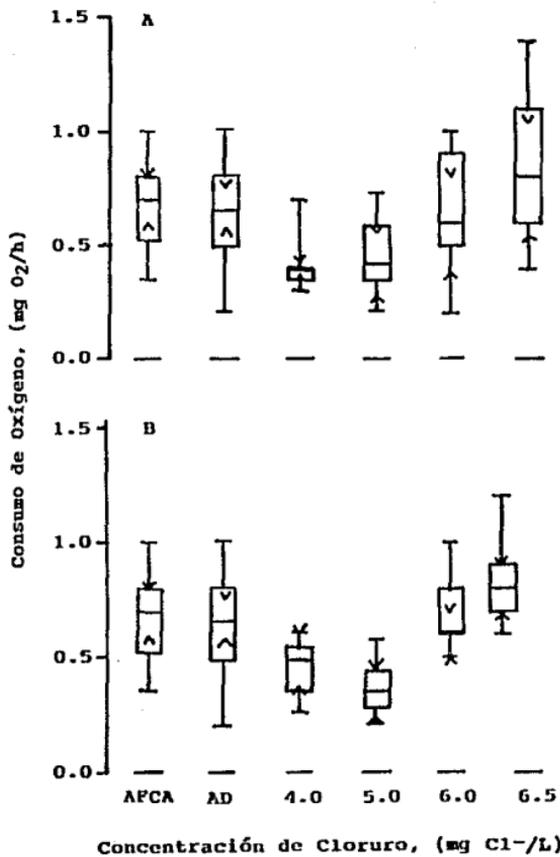


Fig. 4. Diagrama de cajas en paralelo de la relación entre la tasa de consumo de oxígeno de *C. idella* expuesta al nitrito (1.71 mg N-NO₂/L) y diferentes concentraciones de cloruro (mg Cl⁻/L) por 24 h (A) y 48 h (B). Controles: AFCA= Agua Filtrada por Carbón Activado; AD= Agua Destilada.

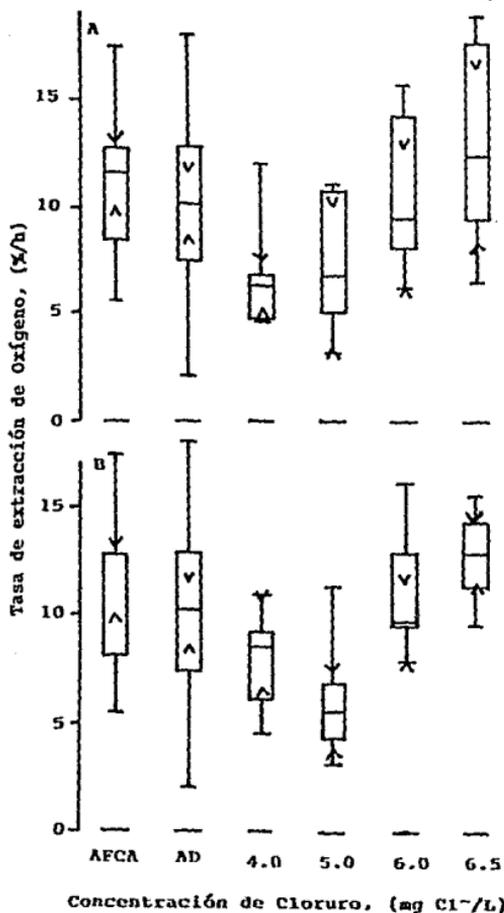


Fig. 5. Diagrama de cajas en paralelo de la relación entre la tasa de extracción de oxígeno (%/h) de *C. idella* expuesta al nitrito (1.71 mg N-NO₂/L) y diferentes concentraciones de cloruro (mg Cl⁻/L) por 24 h (A) y 48 h (B). Controles: AFCA= Agua Filtrada por Carbón Activado; AD= Agua Destilada.