

**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DE NITRITO DE SODIO (NaNO_2) EN
JUVENILES DE BAGRE RAYADO *Pseudoplatystoma fasciatum*
(Linnaeus, 1776)**

PAOLO ALEXANDER MENA CABRERA

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
SAN JUAN DE PASTO, COLOMBIA
2006**

**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DE NITRITO DE SODIO (NaNO₂) EN
JUVENILES DE BAGRE RAYADO *Pseudoplatystoma fasciatum*
(Linnaeus, 1776)**

PAOLO ALEXANDER MENA CABRERA

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero en Producción Acuícola**

Presidentes:

**MARIA CÉLIA PORTELLA
Zoóloga, M.Sc., Ph.D.**

**JOAQUIM GONÇALVES MACHADO NETO
Ingeniero Agrónomo, M.Sc., Ph.D.**

Copresidente:

**ÁLVARO BURGOS ARCOS
Zootecnista, Esp., M.Sc. (C)**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
SAN JUAN DE PASTO, COLOMBIA
2006**

“ Las ideas y conclusiones aportadas en este trabajo de grado son responsabilidad exclusiva del autor ”.

Artículo 1º del Acuerdo No 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN

ÁLVARO JAVIER BURGOS ARCOS.
Copresidente de Tesis

JUAN ANDRÉS SOLARTE.
Jurado Delegado

WILMER SANGUINO ORTIZ.
Jurado

San Juan de Pasto, Junio 5 del 2006.

DEDICO A

Dedico y agradezco a Dios, a mis Padres: Lina del Carmen y Segundo Mena, gran ejemplo de vida, fruto de la inspiración y la dedicación para lograr este triunfo, quien junto con mis hermanos: Natalia Camila y Albert Yezid, hemos decidido seguir el camino que ellos nos inculcaron al enseñarnos a diferenciar el bien del mal.

A mis grandes amigos José Ignacio Delgado, Juan Sebastián Morillo, Walter Lozano y Melissa Ruano, gracias por su amistad y comprensión.

PAOLO ALEXANDER MENA CABRERA

¿Qué sabe el pez del agua donde vive toda su vida?

ALBERT EINSTEIN

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	19
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	20
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	21
3. OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GENERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4. MARCO TEORICO	23
4.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE EVALUADA	23
4.1.1 Biología del bagre rayado	24
4.1.2 Técnicas de cultivo	25
4.1.3 Ecología	27
4.2 COMPUESTOS NITROGENADOS	27
4.2.1 Nitrógeno	27
4.2.2 Amonio	28
4.2.3 Toxicidad del amonio	29
4.2.4 Nitrito	32
4.2.5 Toxicidad del nitrito	32
4.2.6 Efecto del nitrito en algunas especies de cultivo	33
4.2.7 Nitrato	34
4.3 COMPONENTES PRINCIPALES DE UN PAQUETE TECNOLÓGICO EN CALIDAD DE AGUA PARA ESPECIES DE CULTIVO	36

4.4 TOXICIDAD	Pág. 36
4.4.1 Concentración letal 50% (CL 50)	36
4.4.2 Toxicidad aguda	37
4.4.3 Toxicidad crónica	37
5. DISEÑO METODOLÓGICO	38
5.1 LOCALIZACIÓN	38
5.2 INSTALACIONES	39
5.3 PERIODO DE ESTUDIO	39
5.4 MATERIALES Y EQUIPOS	39
5.4.1 Material biológico	41
5.5 METODOLOGÍA DE TRABAJO	42
5.5.1 Plan de manejo	42
5.5.2 Períodos de aclimatación	42
5.5.3 Preparación de las solución madre y stoque	43
5.6 ANALISIS ESTADÍSTICO	43
5.7 TRATAMIENTOS	43
5.7.1 Screening	43
5.7.2 Ensayo preliminar	43
5.7.3 Ensayo definitivo	44
5.8 VARIABLES EVALUADAS	44
5.8.1 Mortalidad	44
5.8.2 Concentración de NaNO_2^-	44

5.8.3 Efecto de concentraciones subletales	Pág. 44
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
6.1 CONCENTRACION LETAL 50% CL50 (96 HORAS)	45
6.1.1 Regresión y correlación lineal de la CL50 y la mortalidad	47
6.2 CONCENTRACIÓN MÁXIMA ADMISIBLE DE NITRITO DE SODIO (NaNO ₂ ⁻) PARA PRODUCCIÓN DE <i>P. fasciatum</i>	48
6.3 EVALUACION DEL EFECTO DE CONCENTRACIONES SUBLETALES DE NITRITO DE SODIO (NaNO ₂ ⁻)	49
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
7.1 CONCLUSIONES	53
7.2 RECOMENDACIONES	54
8. BIBLIOGRAFIA	55
ANEXOS	58

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Bagre rayado (<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>)	24
Figura 2. Filtros biológicos sumergibles	26
Figura 3. Tipos de efecto tóxico del amonio en peces.	30
Figura 4. Centro de investigación en Acuicultura de la Universidad Estatal Paulista. (CAUNESP-UNESP) Campus de Jaboticabal, Brasil	38
Figura 5. Mapa localización Jaboticabal, Brasil	40
Figura 6. Equipos especializados del Laboratorio de Defensa Fitosanitaria Universidad Estatal Paulista Unesp - Jaboticabal	40
Figura 7. Laboratorio de Defensa fitosanitaria Universidad Estatal Paulista Unesp – Jaboticabal	41
Figura 8. Juveniles de <i>P. Fasciatum</i> con peso promedio de 1,6 g. obtenidos por reproducción inducida	41
Figura 9. Tratamiento profiláctico antes de la suspensión de la alimentación y la realización de los bioensayos	42
Figura 10. Porcentaje de mortalidad acumulada a diferentes concentraciones de nitrito de sodio (NaNO_2^-) en <i>P. fasciatum</i>	46
Figura 11. Regresión lineal de la concentración letal (CL50 96-H) de nitrito de sodio en el ensayo definitivo	48
Figura 12. Despigmentación externa en concentraciones de 1,8, 2,0 y 2,2 mg/L de NaNO_2^- en el ensayo definitivo	51
Figura 13. Perdida de equilibrio del cuerpo en las concentraciones de 1,8, 2,0 y 2,2 mg/L de NaNO_2^- en el ensayo definitivo	51
Figura 14. Hemorragias color pardo oscuras en branquias en las concentraciones de 1,8, 2,0 y 2,2 mg/L de NaNO_2^- en el ensayo definitivo	52

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros de cultivo del bagre rayado (<i>P. fasciatum</i>)	Pág. 26
Tabla 2. Concentraciones letales de nitrito en algunas especies acuáticas	33
Tabla 3. Concentraciones de hemoglobina y metahemoglobina en ejemplares de <i>Ictalurus punctatus</i> expuestos durante 24 horas a 2,5 mg/L de nitrito y diferentes tipos de sales	34
Tabla 4. Valores de Cl_{50} (96 horas) de amonio (NH_3), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) en algunas especies de cultivo	35
Tabla 5. Porcentaje de Mortalidad Acumulada a diferentes concentraciones de nitrito de sodio ($NaNO_2^-$) en <i>P. fasciatum</i> .	45
Tabla 6. Porcentaje de Supervivencia Acumulada en concentraciones subletales de nitrito de sodio ($NaNO_2^-$) en <i>P. fasciatum</i> .	50

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Ecuaciones de la reacción de nitrificación	Pág. 29
Cuadro 2. Valores admisibles de diferentes parámetros Fisicoquímicos del agua para tres especies de cultivo	36

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Normas para ensayos ecotoxicológicos con peces	59
Anexo B. Fichas de control del material biológico	61
Anexo C. Parámetros físico químicos ensayo screening (0 Horas).	62
Anexo D. Parámetros físico químicos ensayo screening (24 horas).	63
Anexo E. Parámetros físico químicos ensayo screening (48 horas).	64
Anexo F. Parámetros físico químicos ensayo screening (72 horas).	65
Anexo G. Parámetros físico químicos ensayo screening (96 horas).	66
Anexo H. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (0 horas).	67
Anexo I. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (24 horas).	68
Anexo J. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (48 horas).	69
Anexo K. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (72 horas).	70
Anexo L. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (96 horas).	71
Anexo M. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (0 horas).	72
Anexo N. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (24 horas).	73
Anexo O. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (48 horas).	74
Anexo P. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (72 horas).	75
Anexo Q. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (96 horas).	76
Anexo R. Tablas de mortalidad ensayo screening	77
Anexo S. Tablas de mortalidad ensayo preliminar	78
Anexo T. Tablas de mortalidad ensayo definitivo	79

Anexo U. Datos obtenidos del software (TSK) TRIMMED SPEARMAN-KARBER	Pag. 80
Anexo V. Calculo de la regresión lineal CL50 y mortalidad	81
Anexo W. Tablas de control clínico ensayo definitivo	82

GLOSARIO

BAGRE RAYADO. El bagre rayado *Pseudoplatystma .fasciatum*, es uno de los silúridos de mayor importancia económica dentro de la actividad pesquera de aguas continentales, es un pez de cuero que puede alcanzar tallas hasta de 126 cm de longitud estándar.

ESPECIE NATIVA. Especie autóctona de una región o lugar determinado.

AGENTE TÓXICO. Compuesto tóxico orgánico o inorgánico que pueda generar mortalidad de organismos expuestos.

NITRITO. Compuesto intermediario del proceso de descomposición de materia orgánica, en que el amonio es oxidado por las bacterias nitrosomonas siendo transformado en nitrito y luego en nitrato por las bacterias nitrobacter.

CONCENTRACIÓN LETAL 50% (CL 50). Término que denota la concentración en que una sustancia tóxica es capaz de matar el 50% de una población de organismos sometidos a pruebas de toxicidad experimental.

TOXICIDAD AGUDA. Evalúa la toxicidad de un compuesto el cual puede causar la mortalidad del 50% de la población expuesta al agente tóxico bien sea orgánico e inorgánico, la evaluación se hace a corto plazo.

TOXICIDAD CRÓNICA. Evalúa los efectos secundarios que pueden causar las concentraciones subletales a los organismos expuestos al agente tóxico. Esta valoración se hace por largos periodos de tiempo sin que cause mortalidad a los organismos.

CONCENTRACION SUBLETAL. Concentración que no produce mortalidad, pero produce efectos secundarios como alteración de funciones fisiológicas o anomalía en el comportamiento.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la toxicidad aguda y subletal de diferentes concentraciones de Nitrito de sodio (NaNO_2^-) en juveniles Bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* en condiciones controladas de laboratorio, para definir la calidad ambiental estándar y crear un paquete tecnológico más desarrollado y completo para la piscicultura en todos los sistemas de producción.

Esta investigación se desarrolló en el laboratorio de Ecotoxicología del Departamento de Defensa Fitosanitaria de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Estatal Paulista. **FACAV-UNESP São Paulo-Brasil**, durante un periodo de cuatro meses. Se utilizó 300 juveniles de *P. Fasciatum* con un peso promedio de 1,6 g. obtenidos por reproducción inducida en la estación Piscícola Pirai, localizada en la ciudad de Terenos, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

Los juveniles fueron adaptados a medios controlados y asépticos en laboratorio en 2 tanques de 100 L de capacidad, manteniendo una densidad de 2 animales/L en cada tanque (utilizando solo 75 L de agua) (fase pre-experimental)

Se evaluó el efecto del Nitrito de sodio (NaNO_2^-) en concentraciones de 0,0 hasta 2,2 mg/l en el ensayo definitivo, en acuarios de 9 litros de capacidad, con un volumen de agua de 6 L, aireación y temperatura constante a una densidad de 0,8 gr. de pez por cada litro de agua, con el fin de determinar la concentración letal que produce el 50% de mortalidad en la población expuesta a 96 horas CL 50% (fase experimental).

Para determinar el CL50 de este experimento, se utilizó el método estadístico "TRIMMED SPEARMAN KARBER", siendo la concentración estimada que produce mortalidad en 96 horas de un 50% de la población expuesta al agente tóxico.¹

Los Juveniles de *P. fasciatum* en el presente estudio, presentaron alta sensibilidad a la toxicidad de compuestos nitrogenados como el nitrito. La CL50 96-h estimada fue de 1,93 mg/L de nitrito de sodio (NaNO_2^-) con limite superior de 2,03 mg/L y limite inferior de 1,85 mg/L de (NaNO_2^-). La concentración máxima admisible donde no causa efectos subletales en los animales y el valor máximo ideal para el cultivo de juveniles de *P fasciatum* es de 1,6 mg/L de NO_2^- .

¹ HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C. TRURSTON, R. V. Trimmed Spearman – Karber methods for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* Washington, v 11, n 7, 1977, 714-719 p.

SUMMARY

It has been evaluated the effect of toxins and sub lethal of different concentrations of Nitrite of Sodium (NaNO_2^-) in youth of bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) under controlled conditions of laboratory, to define the standards quality of the weather and create a technological procedure more developed and complete in favor of in every system of production.

This investigation took place in the laboratory of Ecotoxicology department of The State Paulista University. (FACAV – UNESP) Sao Paulo - Brazil, during a period of four months. For this investigation were used 300 youth of *P. Fasciatum* which their average weigh was 1.6g obtain by artificial insemination or induce reproduction this procedure took place at Piscicola Parai, located in the city of Terenos, Mato Grosso do Saul state, Brazil.

The youth *P. fasciatum* were adapted to controlled climates, in the laboratory were used 2 tanks of 100L of capacity, maintaining a density of 2 animals/L in each tank, using only 75L of water, this was the pre-experimental phase.

It has been study the effects of Nitrite of Sodium (NaNO_2^-) in concentrations from 0.0 till 2.2mg/L in aquarium of 9L with air action and a constant temperature having a density of 0,8gr of fish / 1L of water, the purpose is to determine the lethal concentration that produce 50% of mortality in the population exposed to 96 hours CL 50% (experimental phase).

To determinate the CL50 of this experiment, were used the statistic method "TRIMMED SPEARMAN KARBBER", been the estimated concentration that produced mortality in 96 hours from 50% of population exposed to the toxins².

The youth *P. fasciatum* at the present investigation shows a high sensibility to the toxins of nitrogens composed like Nitrite. The CL50 used 96 hours for 1.93mg/l of (NaNO_2) with a upper limit of 2.03mg/L and lower limit of 1.85mg/l of (NaNO_2^-). The maximum concentration admitted where no side effects on the *P fasciatum* and the maximum concentration ideal for the cultivation of this specie is 1.6mg/l of NO_2^- .

² HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C. TRURSTON, R. V. Trimmed Spearman – Karber methods for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* Washington, v 11, n 7, 1977, 714-719 p.

INTRODUCCION

El bagre rayado *Pseudoplatystoma .fasciatum*, es un bagre de agua dulce que puede ser encontrado en los ríos Amazonas y San Francisco, esta especie es relativamente reciente para la acuicultura, y presenta alto valor económico y potencial para su aprovechamiento comercial. La calidad fisicoquímica y biológica del recurso hídrico es uno de los factores de mayor importancia para el cultivo de bagre rayado *P. fasciatum*, pues estos factores son considerados de alto impacto para el desarrollo de la especie, objeto de este estudio.

Uno de los problemas en el cultivo de peces, es la mortalidad causada por diversos factores contaminantes, siendo un limitante para optimizar los resultados en la producción; además de estos aspectos, se debe tener en cuenta mejorar la calidad del agua controlando la cantidad de materia orgánica, los productos de excreción y el alimento no consumido.

El Nitrito NO_2^- es un compuesto nitrogenado intermediario de la descomposición de materia orgánica o del proceso de nitrificación, el efecto tóxico en sistemas de producción acuícola, se refiere a la capacidad de este compuesto para oxidar la hemoglobina de la sangre, provocando la muerte de los animales expuestos, por asfixia.

No se tenía conocimiento del efecto de la toxicidad aguda de Nitrito de sodio (NaNO_2^-) en juveniles de bagre rayado *P. fasciatum*, el cual se determinó por medio de la concentración letal (CL 50 96 horas), concentración con la cual el NaNO_2^- produce el 50% de mortalidad de la población de organismos sometidos a la prueba de toxicidad experimental, determinando también la concentración con la cual no se produce mortalidad de los organismos expuestos para recomendar la concentración máxima admitida para fines de producción, como parte importante de la elaboración de un paquete tecnológico, que permita obtener los máximos beneficios comerciales, en la producción de *P. fasciatum*, especialmente en cuanto a las características fisicoquímicas que debe tener el agua para su cultivo.

1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA

Uno de los mayores problemas en el cultivo de peces es la mortalidad causada por diversos factores contaminantes siendo un limitante para optimizar los resultados en la producción; además de estos factores, se debe tener en cuenta mejorar la calidad del agua controlando la cantidad de materia orgánica, los productos de excreción y el alimento no consumido.

El Nitrito NO_2^- es un compuesto nitrogenado intermediario de la descomposición de materia orgánica o del proceso de nitrificación en que el amonio es transformado en nitrito y luego en nitrato por las bacterias nitrosomonas y nitrobacter respectivamente³.

El efecto tóxico del nitrito en sistemas de producción acuícola se refiere a la capacidad de este compuesto para oxidar la hemoglobina de la sangre, convirtiéndola en meta hemoglobina; molécula incapaz de transportar oxígeno, provocando la muerte de los animales expuestos por asfixia⁴.

Por medio de la estimación de la concentración letal (CL_{50}), se denotará la concentración con el cual el Nitrito de sodio (NaNO_2^-) produce el 50% de mortalidad en la población de organismos sometidos a la prueba de toxicidad experimental.

³ SPOTTE, S. Fish and invertebrate culture. New York: John Wiley and Sons Eds., 1979.

⁴ Ibid.

2. FORMULACION DEL PROBLEMA

El problema a solucionar se formula de la siguiente manera: Se desconoce el efecto de la toxicidad aguda de Nitrito de sodio (NaNO_2^-) en juveniles de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) el cual fue determinado a través de la estimación de la concentración letal 50% CL50 96 horas de este compuesto nitrogenado.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de Nitrito de sodio (NaNO_2^-) en juveniles de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*), en condiciones controladas en el laboratorio de Ecotoxicología del Departamento de Defensa Fitosanitaria de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Estatal Paulista.

3.2 Objetivos específicos

- ◆ Estimar la concentración letal 50% CL50 96 horas del Nitrito de sodio (NaNO_2^-).
- ◆ Determinar la concentración en la cual no se produce mortalidad de la población expuesta a Nitrito de sodio (NaNO_2^-) para mejorar la producción.
- ◆ Evaluar el efecto de la intoxicación de concentraciones subletales de Nitrito de sodio (NaNO_2^-) en el comportamiento del bagre rayado *P. fasciatum*, tales como presencia o ausencia de nado errático, estado de los reflejos, despigmentación externa y coloración de la sangre.

4. MARCO TEORICO

4.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE EVALUADA

De acuerdo con lo expuesto por Kubitzza et al⁵, el bagre rayado (*P.fasciatum*) (Figura 1), pertenece al orden Siluriformes que engloba más de 2.200 especies de bagres, o peces de cuero, dispersos por todos los continentes. El genero *Pseudoplatystoma*, que incluye la mayoría de las especies de la familia Pimelodidae, es exclusivamente de agua dulce y pueden ser encontrados en los ríos Amazonas y San Francisco.

En América del Sur, este bagre es llamado vulgarmente "surubin o rayado" el cual presenta características atractivas y esta entre las especies más importantes para la producción en aguas continentales, siendo cultivado en las principales regiones de Brasil. Tanto en Colombia como Brasil, es considerado como una especie de alto potencial para la comercialización, debido a su rápido crecimiento, excepcional tamaño y optima aceptación en el mercado⁶. Sin embargo, falta información confiable que pueda generar buenas practicas de manejo y garantizar la producción, pero la pesca desmesurada ha contribuido a la disminución gradual de los ambientes naturales⁷, convirtiéndose en una especie vulnerable a la extinción⁸.

⁵ KUBITZA, F.; CAMPOS, J.L.; BRUM, J.A. Produção intensiva do surubins no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda. Em revista: Aqüicultura Brasil'98, 1998, Recife. Anais do Aqüicultura Brasil'98. Recife, vol. 1, (1998), f. 393-407

⁶ REID, S.B. La biología de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P. tigrinum* en la cuenca del Río Apure, Ed. Revista Unellez de Ciencia y Tecnología, Barinas, Venezuela. vol. 1, n.1, 1983. 13-41 p.

⁷ GIAQUINTO, P. Comunicação química no pintado, *Pseudaplatystoma coruscans*. 2001. 57 f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) Botucatu, Brasil - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2001.

⁸ FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br>>. Acesso: (10 abril de 2005.)

Figura 1. Bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*)



4.1.1 Biología del bagre rayado. Según Linnaeus, citado por Reid (1983)⁹ la clasificación taxonómica del bagre rayado es:

Phylum:	Chordata
Subphylum:	Vertebrata
Serie:	Pisces
Superclase:	Gnathostomata
Clase:	Osteichthyes
Subclase:	Actinopterygii
Infraclase:	Teleostei
Division:	Euteleostei
Superorden:	Ostariophysi
Orden:	Siluriformes
Familia:	Pimelodidae
Subfamilia:	Sorubiminae
Genero:	Pseudoplatystoma
Nombre científico:	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>
Nombre vulgar:	Bagre rayado

⁹ REID, S.B. La biología de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P. tigrinum* en la cuenca del Río Apure, Venezuela. En revista Unellez de Ciencia y Tecnología, Barinas, vol. 1, n.1, (1983). 13-41 p.

El bagre rayado es un pez relativamente reciente para la acuicultura, es un pez de alta distribución en América tropical y subtropical, alcanza tallas hasta de 126 cm. de longitud estándar en medio natural, pero la pesca exhaustiva ha contribuido peligrosamente a la disminución gradual de los stocks naturales¹⁰.

Al igual que el *Pseudoplatystoma Coruscans* posee tres pares de barbillones; un par maxilar superior negro extremadamente largo y dos pares mentonianos blancos, las aletas dorsales poseen una espina dura que contiene una ictiotoxina¹¹.

Posee un cuerpo largo, redondeado, y aplanado verticalmente. La cabeza es grande, la región occipital está cubierta por una piel muy fina, el contorno de la cabeza es rectangular y plana, a manera de pala. El maxilar superior es mayor que el inferior, posee dentículos en ambos maxilares, al igual que dientes vomerianos y palatinos en forma de coma alargada, los ojos son pequeños. Posee una aleta adiposa y la aleta caudal es lobulada, en todas las aletas posee manchas. La coloración es pardo oliva con 13 o 14 bandas transversales que llegan al vientre, característica con la cual se diferencia el *P. fasciatum* del *P. Coruscans*¹².

Actualmente la tecnología y las investigaciones han aportado valiosa información para la reproducción, obtención de ovas y larvas de buena calidad; sin embargo, en algunas regiones de Brasil, la producción intensiva de rayado, la larvicultura y la producción de juveniles todavía presentan dificultades, principalmente con relación a la alimentación y control de calidad de agua.

4.1.2 Técnicas de cultivo. El proceso de larvicultura y alevinaje se hace en un ambiente de baja intensidad lumínica, debido a que son animales de actividad nocturna, los animales se mantienen a una temperatura media de 27 °C, esta no debe ser inferior a los 24 °C ni superior a los 30 °C (Tabla 1.), con el fin de evitar la propagación de agentes patógenos y disminuir las condiciones que generen estrés en los animales¹³.

Las postlarvas de mayor tamaño deben ser retiradas para evitar canibalismo sobre las demás, igualmente es importante el recambio de agua total o parcial y la limpieza de las piletas o tanques, con el fin de retirar la materia orgánica que se forma, producto de restos de alimento no consumido o deshechos de los animales,

¹⁰ GIAQUINTO. Op. Cit., 57 f.

¹¹ MOJICA, H. O.; RODRIGUEZ, J. A.; OROZCO, C. R. Manual de reproducción y cultivo del bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) INPA. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. 2003. 25 p.

¹² Ibid, 25 p.

¹³ GUERRERO, C. E. Treinamento alimentar de pintado. *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1289): sobrevivencia, crescimento e aspectos economicos. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Jaboticabal, 2003. 72 f.

para esto se realizan sifoneos de fondo con una manguera pequeña para evitar succionar las larvas, este procedimiento se realiza cada 24 horas.

La densidad de siembra ideal para esta especie debe ser aproximada a 100 larvas por litro de agua (Tabla 1.), densidades mayores disminuyen crecimiento e incrementan la mortalidad por canibalismo debido a la competencia por espacio y alimento, además, se afecta considerablemente la calidad del agua en el tanque.

Tabla 1. Parámetros de cultivo del bagre rayado (*P. fasciatum*)

Parámetros	Rango
Temperatura	24 – 30 °C
Oxígeno disuelto	> 5 ppm
pH	6,5 – 9
Densidad de siembra	100 larvas/litro

MOJICA, H. O.; RODRIGUEZ, J. A.; OROZCO, C. R. Manual de reproducción y cultivo del bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) Colombia INPA. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. 2003. p 25.

Los compuestos nitrogenados tales como amonio, nitrito y nitrato son un factor importante a tener en cuenta cuando se maneja altas densidades de siembra en todos los sistemas de producción, los filtros biológicos (Figura 2.) son una solución para el control de la toxicidad de estos compuestos, mejorando así la calidad fisicoquímica y biológica del agua.

Figura 2. Filtros biológicos sumergibles



4.1.3 Ecología. Esta especie se caracteriza por ser un depredador nocturno que se alimenta de otros peces. Se mantiene en el fondo de grandes causas a profundidad máxima. Posee un valor comercial y deportivo bastante alto. En cautiverio se trata de un pez difícil de aclimatar que requiere densidades muy bajas por su comportamiento territorialista y caníbal. Los juveniles tienden a ser bastantes inquietos mientras que los adultos tienen la tendencia de permanecer en el fondo y mantenerse estáticos en espera de alguna presa. La intensidad lumínica no debe ser muy fuerte en condiciones de cultivo.

Este pez habita los Ríos Paraná medio, Río Uruguay medio, Ríos Amazonas y San Francisco. Considerado autóctono en países como Venezuela, Colombia, Brasil, Guayanas, Perú, Paraguay y Uruguay.¹⁴

4.2 COMPUESTOS NITROGENADOS

A continuación se exponen algunos aspectos relacionados con las características fisicoquímicas de compuestos nitrogenados.

4.2.1 Nitrógeno. El nitrógeno puede entrar en los estanques desde la atmósfera en la forma molecular (N_2) en donde el nitrógeno puede ser fijado en componentes orgánicos por las algas azul-verdosas y por bacterias¹⁵.

La lluvia que cae sobre los estanques contiene nitrato y otras formas de nitrógeno que pueden entrar en los estanques por el afluente de agua; el nitrógeno inorgánico es incorporado comúnmente con la fertilización y la fuente de nitrógeno orgánico como parte de la adición de estiércol o alimento balanceado en los estanques de cultivo. En los estanques el nitrógeno experimenta muchas transformaciones a través de la actividad biológica de los microorganismos¹⁶.

Según Boyd¹⁷, el nitrógeno inorgánico existe principalmente como nitrito, nitrato, amonio y amoniaco; la suma de estos productos es la relacionada con el Nitrógeno Inorgánico Disuelto (NID) o Nitrógeno Inorgánico Total (NIT), estos productos son intercambiados a través del Ciclo del Nitrógeno. La presencia y abundancia de diferentes formas de nitrógeno se ve afectada por el pH, la concentración de oxígeno y por organismos que pueden producir o consumir ciertas formas de nitrógeno.

Todas las plantas pueden usar nitrato, nitrito y amonio, como se mencionó anteriormente las algas azul-verdosas pueden fijar el nitrógeno. El fitoplancton

¹⁴ FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Op cit.

¹⁵ BOYD, C. Water Quality for Pond Aquaculture. Auburn University, Department of Fisheries and Allied Aquacultures, 36849 USA. Research and Development Series No. 43, 1998. 37 p.

¹⁶ Ibid., 37 p.

¹⁷ BOYD, C. Water Quality in Ponds for Aquaculture, Auburn University, Alabama Birmingham Publishing Co. 1990. 482 p.

puede fijar grandes cantidades de amonio actuando como un factor de control de la concentración de amonio en los estanques; en las plantas el nitrógeno es reducido a amonio y combinado con carbono orgánico para formar aminoácidos y polimerizarlos, para formar proteínas; las plantas pueden ser consumidas por los peces y estas pueden morir, para convertirse luego en detritus¹⁸.

Además, comenta que en estanques de acuicultura intensiva, grandes cantidades de nitrógeno entran en forma de alimento y cantidades substanciales de amonio salen en el agua de desecho, producto de la descomposición de alimento y heces; por lo tanto, es aconsejable reducir las excesivas concentraciones de amonio en los estanques de cultivo.

4.2.2 Amonio. El principal compuesto excretado por organismos acuáticos es el amonio, que es un compuesto obtenido del catabolismo de las proteínas. La urea, aminoácidos, creatina, creatinina, y ácido úrico son otros compuestos nitrogenados de excreción, especialmente con animales terrestres.

La urea es el único compuesto que es excretado en forma significativa, pues no es toxica en contacto con el agua, es rápidamente hidrolizada para producir amonio y dióxido de carbono¹⁹.

El amonio es un gas extremadamente soluble en agua. Cuando se encuentra en solución presenta la siguiente reacción de equilibrio: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$; este equilibrio depende del pH, la temperatura y de la salinidad (Whitfield; Emerson y Col; Bower y Bidwell; citados por Vinatέα, 1997)²⁰.

De acuerdo con lo expuesto por Russo, citado por Vinatέα (1997)²¹, las membranas branquiales de los peces son relativamente permeables al amoniaco (NH_3) más no al amonio (NH_4^+). El NH_4^+ también se denomina amonio ionizado y el NH_3 amonio no ionizado por otro lado la suma de los dos compuestos, $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ se denomina amonio total. Las reacciones de nitrificación son más rápidas con pH entre 7,0 y 8,0 a temperaturas de 25 a 35°C²².

Según Vinatea²³, el amonio es un gas con alta solubilidad en el agua; el amoniaco es el más tóxico para los organismos acuáticos²⁴.

¹⁸ BOYD, Op. Cit., 37 P.

¹⁹ COLT, J.; TCHOBANOGLIOUS, G. Evaluation of the short term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus unctatus*. Jurnal Aquaculture, 8, 1976. 209-224 p.

²⁰ VINATÉA, L. Princípios químicos da qualidade da água em aqüicultura "Uma Revisão para Peixes e Camarões". Florianópolis - Brasil, Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 1997. 166 p.

²¹ Ibid. 166 p.

²² Ibid. 231 p.

²³ VINATEA, L. Princípios químicos de qualidade da água em aqüicultura, Uma Revisão para peixes e camaroes. 2a ed. Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianopolis-Brasil, 2004. 231 p.

El amonio no ionizado (NH₃) es de naturaleza lipofílica, es decir posee afinidad con las moléculas de grasa difundiendo fácilmente a través de las membranas respiratorias. Por otro lado el amonio (NH₄⁺) posee características lipofóbicas no tiene afinidad con las moléculas lipídicas penetrando con mayor dificultad las membranas respiratorias²⁵.

El amonio excretado por los organismos acuáticos es oxidado en nitrito y en nitrato por acción de las bacterias quimiotróficas: Nitrosomonas y Nitrobacter que transforman NH₄⁺ en NO₂⁻ y luego en NO₃⁻ respectivamente representados en las ecuaciones del Cuadro 1.

Cuadro 1. Ecuaciones de la reacción de nitrificación

Bacterias	Reacción
I, Nitrosomonas II. Nitrobacter	$\text{NH}_4^+ + 1\frac{1}{2} \text{O}_2 \leftrightarrow \text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$ $\text{NO}_2^- + \frac{1}{2} \text{O}_2 \leftrightarrow \text{NO}_3^-$

VINATEA, Op. cit., p. 231

Concentraciones letales y subletales de amonio pueden causar modificaciones histológicas en los riñones, hígado, bazo, tiroides y en la sangre de peces y crustáceos (Reichenbach-Klinke, Smith y Piper, Thurston y Col., citados por Vinatúa, 2004)²⁶.

El amonio puede producir niveles letales y subletales en sistemas de cultivo estático o en recirculación, debido a esto es importante determinar la tolerancia de los organismos acuáticos a este producto, igualmente las altas concentraciones de amonio pueden estar presentes en aguas de ambientes naturales que reciben aguas de desechos industriales o agrotóxicos²⁷.

4.2.3 Toxicidad del amonio. El amonio es el principal compuesto nitrogenado excretado por los animales acuáticos, los problemas por toxicidad pueden ocurrir en todo tipo de sistemas de cultivo. Se ha identificado siete tipos de efecto tóxico en peces. (Figura 3.) Vinatúa.2004²⁸, que se expone a continuación.

²⁴WUHRMANN, K.; WORKER, H. Experimentelle untersuchungen uber die ammoniak und blausaurevergiftung. Schweiz, Z. Hydrol., 11, 1948. 210-244 p.

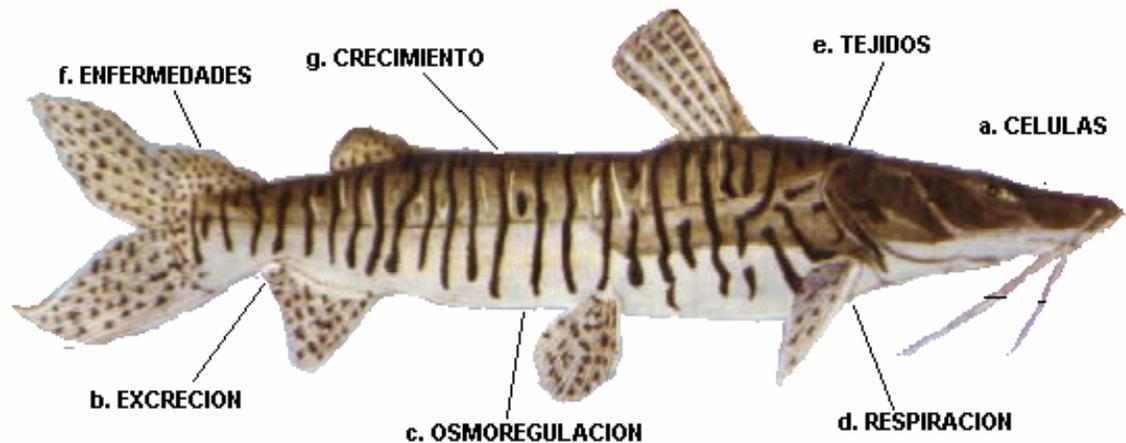
²⁵KORMANIK, G.; CAMERON, J. Ammonia excretion in animals that breathe water: a review. Mar. Biol. Lett., 2, 1981. 11-23 p.

²⁶Ibid. 231 p.

²⁷HOLT, J. e ARNOLD, C. Effects of ammonia and nitrite on growth and survival of red drum eggs and larvae. Transactions of American Fisheries Society 112(2B), 1983, 314-318 p.

²⁸VINATEA, Op. Cit., 231 p.

Figura 3. Tipos de efecto tóxico del amonio en peces.



VINATEA, Op. cit., 231 p

a. Efectos sobre las células. Cuando la concentración de amonio aumenta en el ambiente acuático, la excreción de este compuesto en la mayoría de los animales disminuye provocando un incremento en el nivel de amonio de la sangre y de los tejidos. Este incremento puede afectar seriamente la fisiología del animal a nivel de células, órganos o sistemas. Dentro de la célula el NH_3 proveniente del ambiente acuático o de la producción metabólica del organismo, es transformado en NH_4 con la liberación de hidroxinas OH . Este incremento de amonio en la sangre en consecuencia con el pH intracelular puede tener un pronunciado efecto en las reacciones catalizadas por enzimas, así mismo con la estabilidad de las membranas.

b. Efecto sobre la excreción. Los animales acuáticos pueden eliminar el amonio metabólico por medio de tres rutas principales difusión branquial, transporte activo con sodio (Na) y mediante su transformación para un producto menos tóxico, la urea.

El aumento de amonio en el medio externo reduce la excreción conforme indican estudios realizados en truchas (*Oncorhynchus mykiss*), goldfish (*Carassius auratus*), y camarones de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*). Debido a la creciente dificultad para excretar amonio, la primera reacción de los animales acuáticos puede ser una disminución o paralización de la actividad de alimentación para minimizar la producción de amonio metabólico, por esto uno de los efectos subletales, más significativos, de este compuesto de excreción está la disminución de la tasa de crecimiento corporal.

c. Efecto sobre osmoregulación. El amonio ambiental puede afectar la osmoregulación de las especies acuáticas principalmente por aumento de la permeabilidad de las membranas del animal en relación al agua el cual provoca un decrecimiento en la concentración iónica interna, probablemente este mecanismo es más importante en agua dulce debido a que en este ambiente las especies son hiperosmóticas.(Colt, J. Armstrong, D., citado por Vinatúa.2004)²⁹.

Según Armstrong, et al.³⁰, una consecuencia tóxica en función de las altas concentraciones de amonio encontradas en larvas de camarón de agua dulce es la inhibición de entrada de sodio a la célula. Un estudio realizado por Lloyd y Orr., citado por Vinatúa, 2004³¹, afirmó que en truchas *Oncorhynchus. mykiss* el flujo de la orina aumento seis veces cuando se expuso los animales a niveles letales de amonio. El incremento de flujo urinario puede sobrecargar los mecanismos de reabsorción de los riñones dando como resultado perdidas significativas de glucosa, proteínas y aminoácidos.

d. Efecto en la respiración. El amonio puede afectar el transporte de oxígeno a los tejidos. Estos efectos incluyen lesiones como hiperplasia de epitelio branquial, disminución de la capacidad de transporte de oxígeno debido al bajo pH sanguíneo, incremento del ritmo respiratorio y daño histológico de las células de la sangre y tejidos que las producen. (Colt, J. Armstrong, D., citado por Vinatúa.2004)³².

Según Smart., citado por Vinatúa, 2004³³, un estudio realizado con truchas sometidas a niveles letales de amonio, constato que el consumo de oxígeno se triplica. Este aumento puede ser debido al incremento de la actividad o al aumento del gasto de energía para mantener el equilibrio electrolítico.

e. Efecto sobre los tejidos. Concentraciones letales y subletales de amonio pueden causar modificaciones histológicas en los riñones, hígado, bazo, tejido tiroideo, y sangre de muchas especies de peces y crustáceos. En trucha arco iris fue constatado que concentraciones subletales de amonio no ionizado 0,04 mg/L a lo largo de su ciclo de vida provocan daños histopatológicos tales como hipertrofia con necrosis de las laminas branquiales y degeneración de los tubulos renales debido a necrosis generalizada³⁴.

²⁹ VINATEA, Op. Cit., 231 p.

³⁰ ARMSTRONG, D. CHIPPENDALE, A. KNIGHT, A. COLT, J. Interaction of ionizad and unionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii*. Biol,Bull. 1978. 15-31p

³¹ VINATEA, Op. Cit., 231 p.

³² Ibid. 231 p.

³³ Ibid. 231 p.

³⁴ SMITH, C.; PIPER, R. Lesions associated with chronic exposure to ammonia . In: W. RIBELIN and G. MIGAKI (Ed.) . The pathology of fishes. Madison, USA: University of Wisconsin Press, 1975. 497-514 p.

f. Efecto sobre las enfermedades. Los animales sometidos a los efectos anteriormente citados pueden conllevar a una mayor susceptibilidad de contraer enfermedades. Los niveles de 0,19 mg/L de NH_3 en truchas producen una enfermedad *blue sac*, esta enfermedad se caracteriza por el aumento del tamaño del saco vitelino el cual se torna de color azulado y de aspecto deformado. (Colt, J. Armstrong, D., citado por Vinatúa.2004)³⁵.

g. Efectos sobre el crecimiento. A nivel celular el amonio puede bloquear el proceso de fosforilación oxidativa y consecuentemente disminuir el crecimiento de los animales, teniendo en cuenta la incapacidad de estos en convertir la energía del alimento en ATP³⁶.

Las hormonas corticosteroides pueden ser liberadas ante la exposición subletal de amonio. Estas hormonas provocan un balance negativo de nitrógeno, debido a desaminación de los aminoácidos imposibilitando este proceso esencial para el crecimiento. Parker y Davis., citado por Allen y Kinney. 1981³⁷.

4.2.4 Nitrito. El nitrito NO_2^- es un compuesto intermediario del proceso de nitrificación en que el amonio es oxidado por las bacterias nitrosomonas siendo transformado en nitrito y luego en nitrato por las bacterias nitrobacter³⁸.

El efecto tóxico más importante del nitrito en sistemas de piscicultura se refiere a la capacidad que tiene este compuesto de oxidar la hemoglobina de la sangre, convirtiéndola en meta hemoglobina; molécula incapaz de transportar oxígeno, provocando la muerte por asfixia³⁹. El nitrito confiere a la sangre un inconfundible color marrón indicando la oxidación del pigmento respiratorio⁴⁰.

4.2.5 Toxicidad del nitrito. El nitrito o el ácido nitroso en altas concentraciones son absorbidas por los peces a través de las branquias por las células lamelares de cloro, provocando la oxidación del átomo de hierro de la molécula de hemoglobina, que pasa de estado ferroso (Fe^{+2}) a estado ferrico (Fe^{+3}). En consecuencia se provoca la formación de metahemoglobina, molécula incapaz de transportar oxígeno a los tejidos, estableciendo un cuadro de hipoxia y cianosis^{41 42 43}. El mismo efecto ocurre con el átomo de cobre de la molécula de

³⁵ VINATEA, Op. Cit., 231 p.

³⁶ RUSSO, R. THRSTON, R. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes: In BRUNE, D. TOMMASSO, J. Acuaculture and water quality Baton Rouge: Was, 1991 58-89p

³⁷ ALLEN, E. KINNEY. Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture Section of the American Fisheries Society, 1981. 486-492 p.

³⁸ SPOTTE, S, Op. Cit., 35 p.

³⁹ Ibid. 35p

⁴⁰ HUEY, D.; SIMCO, B.; CRISWELL, D. Nitrite induced methemoglobin formation in channel catfish. Transactions of the American Fisheries Society, 109 (5), 1980. 558-562 p.

⁴¹ SPOTTE, S, Op. Cit.

hemocianina de los crustaceos Colt y Armstrong, Chen y Chin., citados por Vinat ea 2004⁴⁴.

Los peces son capaces de absorber tanto el ácido nitroso como el nitrito pues los dos son transportados a través de las branquias por las células lamelares de cloro⁴⁵. Las concentraciones letales de nitrito en peces y crustáceos est n representadas en la tabla 2.

Tabla 2. Concentraciones letales de nitrito en algunas especies acuáticas

Especie peso o fase	Concentración NO ₂ -(mg/L)	Tiempo (hrs)	Mortalidad %	Medio H ₂ O
<i>O. mykiss</i> (12 g)	0,19	96	50	AD
<i>O. tshawytscha</i> (32 g)	0,50	24	40	AD
<i>O. tshawytscha</i> (Al)	0,88	96	50	AD
<i>O. tshawytscha</i> (Al)	1070,00	48	10	AM
<i>M. Rosembergii</i> (La)	8,60	96	50	AS

Ad: Adulto Al: Alevino La: Larva AD: Agua dulce AM: Agua marina AS: Agua salobre

SPOTTE, S. Fish and invertebrate culture. New York: John Wiley and Sons Eds., 1979.

4.2.6 Efecto del nitrito en algunas especies de cultivo. Según Huey et al⁴⁶, el efecto subletal de nitrito de sodio en juveniles de *Ictalurus punctatus* en ejemplares expuestos, durante 24 horas a 1,2,3,4 y 5 mg/L de nitrito de sodio, presentaron 35,79,79,85 y 90 % de meta hemoglobina en la sangre con relación al total de la hemoglobina presente.

Los ejemplares expuestos a 5 mg/L de nitrito de sodio sufrieron un incremento rápido de meta hemoglobina, durante las primeras 6 horas alcanzando el 50 % de metahemoglobina, en las 6 horas siguientes el proceso fue más lento alcanzando un 80% de meta hemoglobina, provocando la mortalidad del 100% de la población expuesta. El pH tiene una relación directa con la formación de metahemoglobina, es decir que cuanto mayor sea el pH del medio mayor es la toxicidad del nitrito debido probablemente al incremento de la forma ionizada NO₂, por otro lado fue

⁴² SMITH, C.; PIPER, R, Op. Cit., 497-514 p.

⁴³ WEDEMEYER, G.; YASUTAKE, W. Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). Journal of Fisheries Research Board of Canada, 35, 1978. 822-827 p.

⁴⁴ VINATEA, Op. Cit., 231 p.

⁴⁵ Ibid. 231 p.

⁴⁶ HUEY, D.; SIMCO, B.; CRISWELL, D, Op. Cit., 558-562 p.

verificado que la presencia de algunos iones comunes en el medio acuático como clorato de potasio y clorato de calcio, bicarbonato de sodio y clorato de sodio tienen fuerte efecto en la disminución de la toxicidad de nitrito actuando de manera antagonica en la formación de metahemoglobina.(Tabla 3.)

Tabla 3. Concentraciones de hemoglobina y metahemoglobina en ejemplares de *Ictalurus punctatus* expuestos durante 24 horas a 2,5 mg/L de nitrito y diferentes tipos de sales

Concentración Sales	Hemoglobina (g/100ml)	% de metahemoglobina del total de hemoglobina
NaCl (2 g/l)	7,6	4,6
KCL (2 g/l)	10,7	1,2
CaCL ₂ (1 g/l)	10,7	5,9
NaHCO ₃ (0,84 g/l)	11,0	8,2
NaSO ₃ (1,42 g/l)	8,7	56,6
Control (0,0 g/l)	9,4	59,7

HUEY, D.; SIMCO, B.; CRISWELL, D. Nitrite induced methemoglobin formation in channel catfish. Transactions of the American Fisheries Society, 109 (5), 1980. 558-562 p.

Para la especie Chanos chanos o Milkfish, según Almendras, citado por Vinatea, 2004⁴⁷, afirmó que el nitrito es 55 veces más tóxico en agua dulce que en agua salada (13 a 18 PPT). El CL₅₀ (48 horas) encontrado para juveniles de esta especie fue de 12 mg/L de NO₂⁻ y 675 mg/L de NO₂⁻ en agua dulce y salada respectivamente por lo tanto este autor señala que comparando los niveles de metahemoglobina y de la toxicidad del nitrito en ambos medios coexiste correspondencia entre la mortalidad y porcentaje de metahemoglobina. Por ejemplo en agua salada con 448 mg/L de nitrito se observo 75,7% de metahemoglobina con solamente el 33,3% de la mortalidad. En cuanto en el agua dulce con 14 mg/L de nitrito la mortalidad fue del 58,3% con 75,6% de metahemoglobina.

4.2.7 Nitrato. El nitrato (NO₃⁻) es el producto final de la oxidación del amonio, el cual comprende dos pasos: la transformación del amonio en nitrito por las bacterias *Nitrosomas* y la transformación del nitrito en nitrato por las bacterias *Nitrobacter*. Este proceso se realiza en condiciones aeróbicas y es conocido como nitrificación. La reducción de nitrato a amonio es conocida como desnitrificación y

⁴⁷ VINATEA, Op. Cit., 166 p.

se realiza en condiciones anaeróbicas, propias de ambientes eutroficados, en donde ocurre alta descomposición de la materia orgánica⁴⁸.

Gradba y Col., citados por Vinatea (1997)⁴⁹, constataron que bajos niveles de nitrato (5-6 mg/L de NO₃) provocaron un incremento significativo en el contenido de ferrihemoglobina en la sangre de truchas, fue verificado también un serio daño en los centros hematopoyéticos en el tejido renal.

La toxicidad del nitrato en animales acuáticos no es un serio problema; el cual explica que los fertilizantes a base de nitrato son más seguros que aquellos a base de amonio por eso este compuesto puede tornarse potencialmente tóxico en sistemas cerrados de recirculación de agua, en que niveles tóxicos pueden ser alcanzados como resultado de la nitrificación de amonio. La toxicidad de este compuesto es causada debido a su efecto sobre la osmoregulación y posiblemente sobre el transporte de oxígeno. La toxicidad aguda CL₅₀ de los compuestos nitrogenados como: amonio, nitrito y nitrato en algunas especies de cultivo están representados en la Tabla 4.

Tabla 4. Valores de Cl₅₀ (96 horas) de amonio (NH₃), nitrito (NO₂⁻) y nitrato (NO₃⁻) en algunas especies de cultivo

Especie	Cl ₅₀ (mg/L NH ₃)	Cl ₅₀ (mg/L NO ₂ ⁻)	Cl ₅₀ (mg/L NO ₃ ⁻)
<i>O. gorbuscha</i>	0,08 – 0,1	-	-
<i>O. mykiss</i>	0,16 – 1,1	0,19 – 0,39	1360
<i>O. tshawytscha</i>	-	0,88	1310
<i>M. salmoides</i>	0,9 – 1,4	140	1260
<i>C. carpio</i>	2,2	2,6	-
<i>p. promelas</i>	0,75 – 3,4	2,3 – 3	-
<i>I. punctatus</i>	0,5 – 3,8	7,1 – 13,0	1400
<i>L. macrochiris</i>	0,55 – 3,0	80	420 – 2000

RUSSO, R. THIRSTON, R. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes: In BRUNE, D. TOMMASSO, J. Acuaculture and water quality Baton Rouge: Was, 1991 58-89p

⁴⁸ Ibid., 166 p.

⁴⁹ VINATEA, Op. Cit., 166 p.

4.3 COMPONENTES PRINCIPALES DE UN PAQUETE TECNOLÓGICO EN CALIDAD DE AGUA PARA ESPECIES DE CULTIVO

Los parámetros técnicos de calidad del agua son uno de los componentes más importantes de un paquete tecnológico para cultivo de especies acuícolas, debido a que es la base fundamental para obtener buen rendimiento y excelente rentabilidad en todos los sistemas de producción. En el Cuadro 2 se exponen los parámetros de cultivo más importantes para producción de *Ictalurus punctatus*, *Cyprinus carpio* y *Oreochromis sp.* Valores por encima o por debajo de los admisibles para cada especie, afectan el crecimiento, desarrollo, reproducción y a su vez favorecen a que se produzca estrés, presentándose el desencadenamiento de patologías.

4.4 TOXICIDAD

4.4.1 Concentración letal 50% (CL 50). Término que denota la concentración en que una sustancia es capaz de matar el 50% de una población de organismos sometidos a pruebas de toxicidad experimental. Los valores de CL 50 pueden ser determinados en periodos de 24,48,72,96 y más horas, dependiendo del tipo de prueba⁵⁰.

Cuadro 2. Valores admisibles de diferentes parámetros fisicoquímicos del agua para tres especies de cultivo

PARAMETROS	<i>I. punctatus</i>	<i>C. carpio</i>	<i>Oreochromis sp.</i>
Temperatura (°C)	1 a 34	6 a 39	8 a 41
Oxígeno (mg/l)	>3	>2	>3
pH	6,5 a 8,5	4,5 a 11	4 a 11
NH ₄₊ (mg/l)	-	10 a 13	<20
CO ₂ (mg/l)	<22	<100	<70
Turbiedad (mg/l)	-	<190	10.000
NO ₂₋ (mg/l)	7.55	-	<1
Salinidad ppt	-	<12	<35
NH ₃₋ (mg/l)	0,12	0,11	0,13

GARCIA, J. Tecnología de las explotaciones piscícolas. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación., Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid. 1989., 326 p.

⁵⁰ KNIE, J.; LOPES, E. Testes Ecotoxicológicos, métodos, técnicas e aplicações, Agência Alemã de Cooperação Técnica, GTZ., Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina, FATMA, 2004.

⁵⁰ VINATEA, Op. Cit., 166 p.

4.4.2 Toxicidad aguda. Evalúa la toxicidad de un compuesto el cual puede causar la mortalidad del 50% de la población expuesta al agente tóxico bien sea orgánico e inorgánico, la evaluación se hace a corto plazo⁵¹.

4.4.3 Toxicidad crónica. Evalúa los efectos secundarios que pueden causar las concentraciones subletales a los organismos expuestos al agente tóxico. Esta valoración se hace por largos periodos de tiempo sin que cause mortalidad a los organismos expuestos⁵².

⁵¹ VINATEA, Op. Cit., 166 p.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

La metodología en esta investigación fue basada en las normas establecidas en el laboratorio de Ecotoxicología del Departamento de Defensa Fitosanitaria de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Estatal Paulista FCAV-UNESP, Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil.(Anexos A - B)

5.1 LOCALIZACIÓN

El trabajo de investigación se desarrollo en Centro de Acuicultura de la Universidad Estatal Paulista. (CAUNESP-UNESP) Campus de Jaboticabal - Estado de Sao Paulo (Figura 4.) ubicado al sur este de Brasil, con una latitud de 21° 15' S. y una longitud 48° 19' O. (Figura 5.). El Centro de Acuicultura de la Universidad Estatal Paulista fue creado en 1988. Adscrito a la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Estatal Paulista.

Figura 4. Centro de investigación en Acuicultura de la Universidad Estatal Paulista. (CAUNESP-UNESP) Campus de Jaboticabal



5.2 INSTALACIONES

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Ecotoxicología del Departamento de Defensa Fitosanitaria de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Estatal Paulista. FCAV-UNESP.

Este departamento cuenta con equipos especializados, (Figura 6.) laboratorios climatizados y adecuados para investigación de toxicología y patología en peces. (Figura 7.)

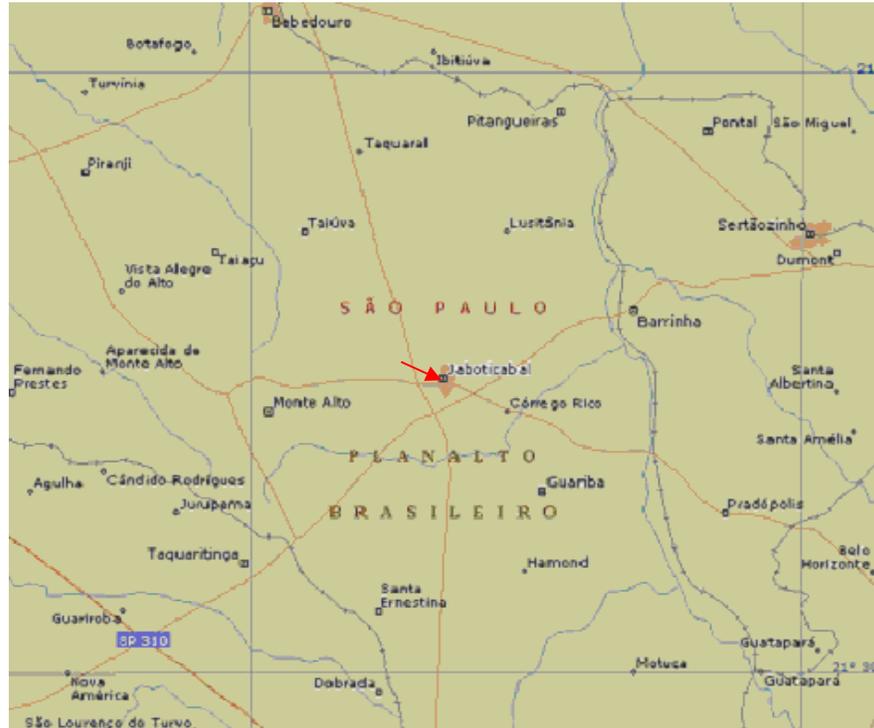
5.3 PERIODO DE ESTUDIO

La investigación se realizó en dos etapas así: 2 meses (abril y mayo del 2005) en etapa de ensayos preliminares y 2 meses (junio y julio del 2005) en etapa de ensayos definitivos.

5.4 MATERIALES Y EQUIPOS

Acuarios de vidrio con capacidad de 9 L
Agitador electrónico
Aireadores
Balanza analítica
Balón volumétrico de 10 ml
Balón volumétrico de 100 ml
Balón volumétrico de 1000 ml
Beacker de 100 ml
Beacker de 500 ml
Conductivímetro digital HATCH IDS METER
Equipo para aire acondicionado
Micropipetas de 1-50 microlitros
Oxímetro digital OXI 315I WTW
pHmeter digital ANALION PM 602 pH-METER
Probetas de 500 ml
Probetas de 100 ml
Termómetro digital OXI 315I WTW

Figura 5. Mapa localización Jaboticabal Brasil



Biblioteca de consulta Microsoft Encarta 2004.

Figura 6. Equipos especializados del Laboratorio de Defensa fitosanitaria Universidad Estatal Paulista Unesp – Jaboticabal



Figura 7. Laboratorio de Defensa fitosanitaria Universidad Estatal Paulista Unesp – Jaboticabal



5.4.1 Material biológico. Se utilizaron 300 juveniles de *P. Fasciatum* (Figura 8.) con un peso promedio de 1,6 g. obtenidos por reproducción inducida en la estación Piscícola Pirai, localizada en la ciudad de Terenos, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (fase pre-experimental). Estos fueron alimentados exclusivamente con concentrado comercial de 24% de proteína. los cuales fueron distribuidos en acuarios, con una densidad de 3 peces/acuario a 0,8 g. de pez por litro, en el ensayo definitivo. Los ejemplares muertos fueron contados, y evaluados biométricamente.

Figura 8. Juveniles de *P. Fasciatum* con peso promedio de 1,6 g. obtenidos por reproducción inducida



5.5 METODOLOGÍA DE TRABAJO

5.5.1 Plan de manejo. Los peces para este experimento fueron mantenidos en la fase pre-experimental y experimental en condiciones de poca intensidad lumínica con el fin de evitar que los ejemplares se estresen y así evitar alteraciones en los resultados esperados del experimento, para la manutención de los peces en el laboratorio se realizó un tratamiento profiláctico (Figura 9.) con azul de metileno a una concentración de 0,25 ppm por 20 minutos para evitar la mortalidad de los ejemplares por patologías adversas a las esperadas en los bioensayos. Fueron medidos parámetros fisicoquímicos como pH, temperatura y conductividad todos los días. (Anexos C - Q)

5.5.2 Periodos de aclimatación. Se aclimataron por un periodo de una semana. Según Murty⁵³, es suficiente tiempo para aclimatación y adaptación a las condiciones de laboratorio. La alimentación con concentrado comercial se suspendió 24 horas antes de comenzar el experimento y se mantuvo igual por todo el periodo de evaluación por 96 horas del ensayo de toxicidad.

Las condiciones experimentales se hicieron en un sistema cerrado, sin recambio de agua durante todo el periodo de exposición.

Figura 9. Tratamiento profiláctico antes de la suspensión de la alimentación y la realización de los bioensayos.



⁵³ MURTY, A. S. Toxicity of pesticides to fish. CRC Press, 1988. v. 2, 165 p.

5.5.3 Preparación de las solución madre y stoque. Según Apha⁵⁴, la solución madre se preparo, diluyendo una solución de 1,232 g. de nitrito de sodio (NaNO₂-), en 1000 ml de agua equivalentes a 250 g/ml de la solución, o 250 mg/L de Nitrógeno. Las soluciones stoque para los ensayos se obtuvieron de la solución madre concentrada de nitrito de sodio.

5.6 ANALISIS ESTADÍSTICO

El efecto de concentraciones del nitrito de sodio (NaNO₂-) sobre la variable mortalidad en un determinado periodo de tiempo fue estudiado mediante, el análisis estadístico "TRIMMED SPEARMAN-KARBER method for calculation of EC50 and LC50 values in bioassays", siendo la concentración estimada que produce mortalidad en un determinado periodo de tiempo de un 50% de la población expuesta al agente tóxico⁵⁵.

La prueba específica de Trimmed Spearman-Karber se encuentra representada en la formula:

$$\mathcal{L}nY = aX - b$$

Donde, Y es la mortalidad y X la concentración del agente toxico.

El programa estadístico determino el grado de dependencia entre variables con un nivel de confiabilidad del 95%.

5.7 TRATAMIENTOS

5.7.1 Screening. Se realizó un *screening* para determinar la menor concentración de nitrito que no produce mortalidad en los organismos evaluados, como también, la mayor concentración que género el 100% de mortalidad de la población.

Para el screening se evaluó concentraciones de T0: 0,0, T1: 0,1, T2: 0,5, T3: 1,5, T4: 2,5, T5: 4,0, T6: 6,0 T7: 8,0, T8: 10,0 y T9: 15,0 mg/L de (NaNO₂-), constituyendo un total 10 tratamientos con tres repeticiones o réplicas, donde se determinó que la concentración de 1,5 mg/L de NaNO₂- no produce mortalidad de los ejemplares de *P. fasciatum* y la concentración de 2,5 mg/L de NaNO₂- produce el 100% de mortalidad de los organismos expuestos, de donde se evaluó

⁵⁴ APHA. Toxicity tests methods for aquatic organisms in: Standart methods for the examination of water and waste water. 17, ed. Washington, 1991. 689-819 p.

⁵⁵ HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C. TRURSTON, R. V. Trimmed Spearman – Karber methods for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* Washington, v 11, n 7, 1977, 714-719 p.

las concentraciones para el ensayo preliminar entre los rangos de 1,0 y 2,2 mg/L de NaNO₂-.

5.7.2 Ensayo preliminar. Se realizó un ensayo preliminar para determinar las concentraciones de nitrito, y asimismo se determinó los niveles de concentración letal que muere el 50 % de la población expuesta en 96 horas.

Se evaluó diferentes concentraciones preliminares de nitrito de sodio T0: 0,0, T1: 0,8, T2: 1,0, T3: 1,3, T4: 1,6, T5: 1,9 y T6: 2,2 mg/L de (NaNO₂-), constituyendo en total 7 tratamientos con tres repeticiones o réplicas, de aquí se determinó las concentraciones a ser evaluadas para el ensayo definitivo

5.7.3 Ensayo definitivo. Las concentraciones evaluadas se obtuvieron basadas en los Intervalos encontrados entre la mayor concentración letal y la menor concentración no letal en el ensayo preliminar, cada ensayo tuvo un tratamiento control o testigo.

Se utilizó tres peces por cada concentración, todos de tamaño uniforme (siendo que la longitud estándar del mayor no pase en 1,5 veces la longitud estándar del menor). Con una densidad mínima de un gramo de pez por litro de agua⁵⁶, por cada unidad experimental.

Las concentraciones evaluadas en el ensayo definitivo fueron T0: 0,0, T1: 1,6, T2: 1,8, T3: 2,0, y T4: 2,2 mg/L de (NaNO₂-), constituyendo en total 5 tratamientos con 3 repeticiones o réplicas por tratamiento, con los cuales se determinó la concentración letal 50% (CL 50%)

5.8 VARIABLES EVALUADAS

5.8.1 Mortalidad. En este experimento se evaluó la tasa de mortalidad de los juveniles de Bagre rayado *P. fasciatus* que generaron las diferentes concentraciones de nitrito de sodio.(Anexos R - T)

5.8.2 Concentración de NaNO₂-. Se evaluó diferentes concentraciones de nitrito de sodio para determinar la tasa de mortalidad de los juveniles de Bagre rayado *P. fasciatus*, con el fin de determinar la concentración que genera el 50 % de mortalidad y la concentración que no genera mortalidad de los animales expuestos.

5.8.3 Efecto de concentraciones subletales. Se analizó el efecto de la intoxicación de concentraciones subletales de nitrito de sodio en el comportamiento del bagre rayado *P. fasciatus*, referentes a despigmentación externa, presencia de nado errático, perdida reflejos y coloración de la sangre.

⁵⁶ APHA. Op. Cit., 689-819 p.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 CONCENTRACION LETAL 50% CL50 (96 HORAS).

En la Tabla N° 5 se observan las concentraciones evaluadas de nitrito de sodio (NaNO_2^-) en los periodos de tiempo evaluados y los porcentajes de mortalidad acumulada para juveniles de bagre rayado *P. fasciatus*.

Tabla 5. Porcentaje de Mortalidad Acumulada a diferentes concentraciones de nitrito de sodio (NaNO_2^-) en *P. fasciatus*.

Concentraciones mg/L	Porcentaje de mortalidad acumulada			
	24 Horas %	48 Horas %	72 Horas %	96 Horas %
0,0	0	0	0	0
1,6	0	0	0	0
1,8	0	0	11,11	22,22
2,0	0	11,11	33,33	55,55
2,2	11,11	33,33	44,44	100

El programa estadístico "TRIMMED SPEARMAN-KARBER (TSK) method for calculation of " EC50 and LC50 values in bioassays (Hamilton et al, 1977)"⁵⁷. Aplicado a los resultados anteriormente descritos, permitió inferir que la concentración letal (CL50 96 horas) donde muere el 50% de la población expuesta al nitrito de sodio (NaNO_2^-) es de 1,93 mg/L. Además este mismo análisis estadístico calculo el límite inferior y límite superior letal en 1,85 mg/L y 2,03 mg/L de (NaNO_2^-) respectivamente. (Anexo. U)

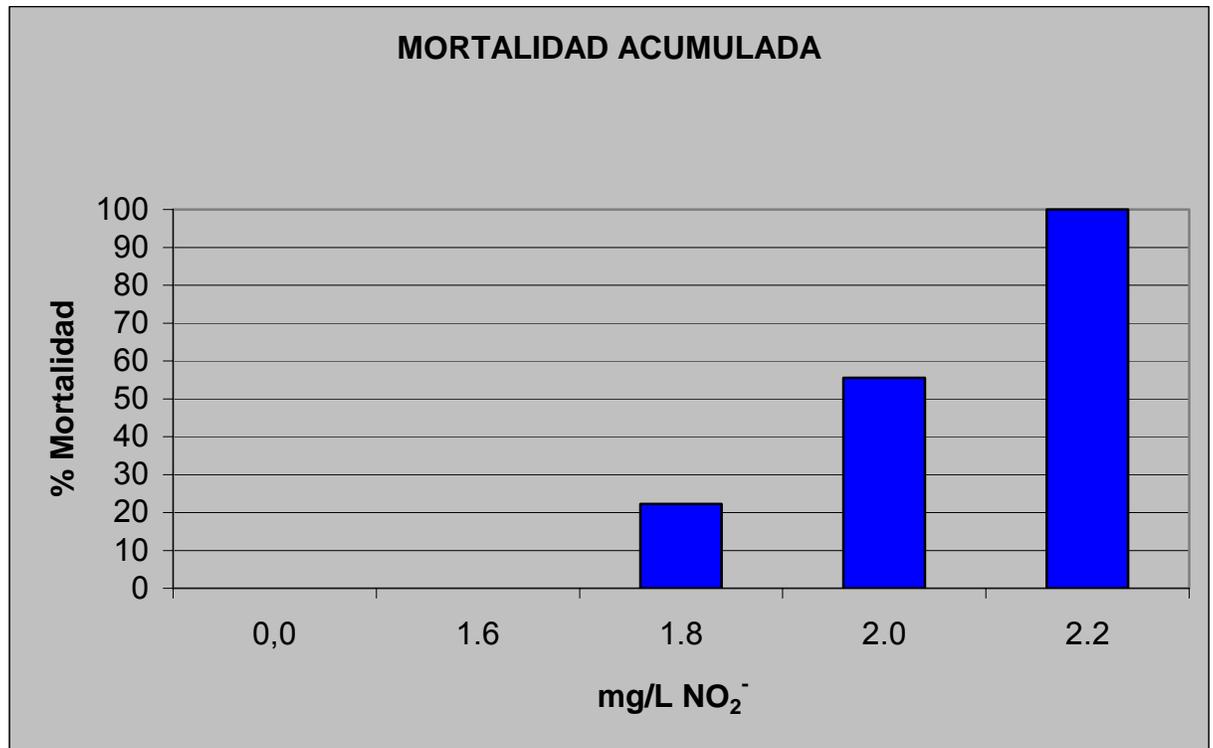
El *P. fasciatus* demostró alta sensibilidad al nitrito de sodio (NaNO_2^-) 1,93 mg/L, comparando con otras especies de cultivo reportadas por Palachek y Tomasso⁵⁸, en las que el *Ictaluros punctatus* y *Tilapia aurea* presentaron una CL 50 96 horas de nitrito de sodio de 7 y 16,1 mg/L respectivamente.

⁵⁷ HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C. TRURSTON, R. V. Op. Cit. 714-719 p.

⁵⁸ PALACHEK, R. TOMASSO, J. Toxicity of nitrite to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), tilapia (*tilapia aurea*), and largemouth bass (*Micropterus salmoides*) evidense for a nitrite exclusion mechanism Can, Fish Aquat Sci. 41 1984. 1739-1744 p.

Así mismo, la Figura 10, ilustra de manera concreta que en la concentración de 2,2 mg/L de nitrito de sodio (NaNO_2^-) se presentó un 100% de mortalidad acumulada a las 96 horas de exposición al agente tóxico evaluado.

Figura 10. Porcentaje de mortalidad acumulada a diferentes concentraciones de nitrito de sodio (NaNO_2^-) en *P. fasciatum*.



Los datos encontrados en esta investigación toman relevancia si tenemos en cuenta lo afirmado por Mojica et al⁵⁹, quien manifiesta que el *P. fasciatum* es un pez altamente exigente en cuanto a calidad de agua, ya que es una especie la cual en su medio ecológico, a pesar de encontrarse en presencia de abundante materia orgánica, en su habitat natural existen altas corrientes que no permiten la acumulación de compuestos nitrogenados generados por la descomposición de este material orgánico que afectan la salud del animal, de ahí se puede explicar su alta sensibilidad comparable a especies ultrasensibles como la trucha arcoiris *O. mykiss* para quien Russo y Thrston⁶⁰, reportan datos de CL 50 96 horas de 0,19 mg/L de nitrito de sodio (NaNO_2^-).

⁵⁹ MOJICA, H. O.; RODRIGUEZ, J. A.; OROZCO, C. R. Manual de reproducción y cultivo del bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) INPA. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. 2003. 25 p.

⁶⁰ RUSSO, R. THRSTON, R. Op. Cit 58-89p

De lo anterior se puede resaltar que tanto el *P. fasciatum* como la *O. mikiss* requieren de elevados recambios de agua en todos los sistemas de producción, por lo tanto en la presente investigación es de importancia este aspecto ya que el paquete tecnológico de la especie evaluada se encuentra en su fase inicial, con el fin de definir una calidad ambiental estándar que garantice óptimos rendimientos de la especie.

La especie evaluada por Ferreira da Costa et al⁶¹, *Colossoma macropomum* requiere similares condiciones de calidad de agua que la especie evaluada en este estudio, en cuanto a compuestos nitrogenados y puntualmente a nitritos donde el autor reporta una CL 50 96 horas de 1,82 mg/L en comparación con el *P. fasciatum* que es de 1,93 mg/L donde se puede observar que los valores reportados son cercanos.

6.1.1 Regresión y correlación lineal de la CL50 y la mortalidad. En la Figura 11 se observa que entre las dos variables concentración y mortalidad existe dependencia directamente proporcional determinada por la ecuación y la pendiente respectiva: $\text{LnY} = 14,33\text{X} - 25,32$. (Anexo. V)

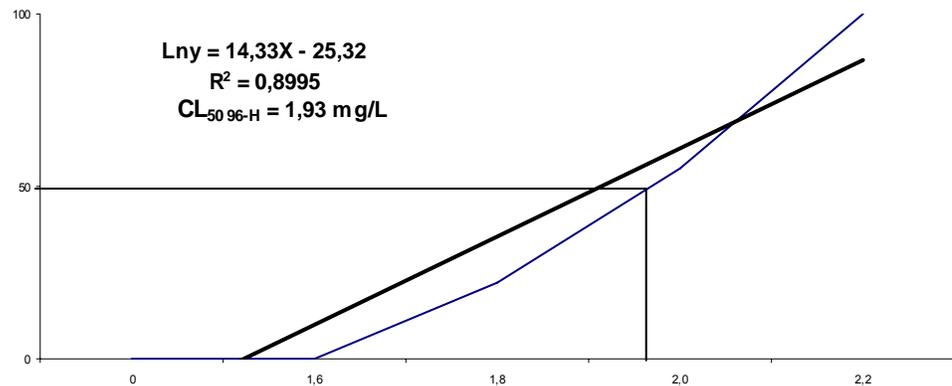
Lo anterior permitió calcular el coeficiente de correlación (R^2 en 0.893) permitiendo afirmar que el grado de dependencia entre mortalidad y la concentración de nitrito de sodio calculada es alta, es decir que a mayor concentración de nitrito de sodio en el agua, aumenta la mortalidad siendo directamente proporcional, condición de suma importancia para la determinación de los parámetros de cultivo de esta especie con respecto a compuestos nitrogenados.

En este análisis de parámetros químicos de calidad de agua referente a compuestos nitrogenados, en cualquier sistema de cultivo o producción se ven influenciados tanto por los contenidos de materia orgánica proveniente del alimento consumido como de las excreciones endógenas a través de órganos como branquias, piel y riñones⁶².

⁶¹ FERREIRA, Op. Cit. 627-636 p.

⁶² HUEY, D.; SIMCO, B.; CRISWELL, D. Nitrite induced methemoglobin formation in channel catfish. Transactions of the American Fisheries Society, 109 (5), 1980. 558-562 p.

Figura 11. Regresión lineal de la concentración letal (CL50 96-H) de nitrito de sodio en el ensayo definitivo.



6,2 CONCENTRACIÓN MÁXIMA ADMISIBLE DE NITRITO DE SODIO (NaNO_2^-) PARA PRODUCCIÓN DE *P. fasciatum*.

En la determinación de un paquete productivo para cualquier especie susceptible de aprovechamiento, es de vital importancia identificar o definir la calidad ambiental estándar, en ese contexto de calidad de agua la concentración máxima admisible de nitrito de sodio para producción de juveniles de *P. fasciatum* calculada en esta investigación fue de 1,6 mg/L, mediante el método TSK descrito anteriormente. A dicha concentración no se observó ninguna mortalidad ni efectos subletales durante el periodo de tiempo analizado en el ensayo.

Por lo anteriormente expuesto es oportuno resaltar que esta concentración como resultado de la investigación, adopta la mayor atención debido a que el nitrito no genera mortalidad ni produce cambios en la actividad del pez, sin efectos en el proceso de desarrollo, fisiológico, locomotor entre otros, tal como lo corrobora ferreira⁶³, en el estudio de la susceptibilidad de *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae) expuesto por cortos periodos de tiempo a nitrito.

En la concentración (1,6 mg/L) los peces presentaron un comportamiento normal, similar al observado en el tratamiento control, el cual no estuvo expuesto al agente tóxico evaluado, de manera que se puede recomendar que la concentración de 1,6 mg/L de nitrito de sodio (NaNO_2^-) es la concentración máxima admisible para fines de producción de juveniles de *P. fasciatum*. Valores iguales o por debajo de 1,6 mg/L pueden generar excelentes resultados de sobrevivencia, y optimo

⁶³ FERREIRA, Op. Cit. 627-636 p.

crecimiento, que son factores importantes en la producción acuícola, aspecto que también resalta Mojica⁶⁴, en el manual de reproducción y cultivo de bagre rayado.

Los resultados obtenidos en la concentración control (0,0 mg/L), al no ocurrir ninguna mortalidad de los ejemplares expuestos, corrobora buenas prácticas de manejo en todo el experimento y que la mortalidad se produjo exclusivamente por la exposición al agente tóxico evaluado y no a variables ajenas al estudio, la prueba de lo anterior es el alto índice de correlación que permite afirmar que el grado de dependencia entre mortalidad y la concentración de nitrito de sodio calculada es alta.

6.3 EVALUACION DEL EFECTO DE CONCENTRACIONES SUBLETALES DE NITRITO DE SODIO (NaNO₂-)

Los niveles de concentraciones subletales, no producen el 100 % de mortalidad de los organismos expuestos al agente tóxico (1,8 y 2,0 mg/L NaNO₂-). Estas concentraciones generan en los peces respuestas de alerta con indicadores visibles como inapetencia, despigmentación externa, presencia de nado errático, pérdida reflejos, coloración marrón de la sangre, hemorragias a nivel branquial, (Anexo W.) como lo refieren algunos estudios al respecto^{65 66 67 68 69 70}.

Tal como se reportó en la Tabla 5 las concentraciones de 1,8 y 2,0 mg/L incidieron en mortalidades después de 72 y 48 horas de exposición respectivamente, los animales que lograron sobrevivir, representados en la Tabla 6, mostraron síntomas de intoxicación subletal al nitrito de sodio.

La exposición a dichas concentraciones de NaNO₂- causaron reducción de la reacción de escape, reducción de reflejos, además de permanecer inmóviles en el fondo de los acuarios experimentales, también se presentó reducción de la habilidad de los peces en mantener el cuerpo en equilibrio. (Natación errática Figura 13.), despigmentación externa (Figura 12.), presencia de

⁶⁴ MOJICA, H. O.; RODRIGUEZ, J. A.; OROZCO, C. R. Op. Cit. 25 p.

⁶⁵ FERREIRA, Op. Cit. 627-636 p.

⁶⁶ SPOTTE, S, Op. Cit.

⁶⁷ SMITH, C.; PIPER, R, Op. Cit., 497-514 p.

⁶⁸ FERREIRA, Op. Cit. 627-636 p.

⁶⁹ WEDEMEYER, G.; YASUTAKE, W. Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). Journal of Fisheries Research Board of Canada, 35, 1978. 822-827 p.

⁷⁰ KNIE, J.; LOPES, E. Testes Ecotoxicológicos, métodos, técnicas e aplicações, Agência Alemã de Cooperação Técnica, GTZ., Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina, FATMA, 2004.

⁷⁰ VINATEA, Op. Cit., 166 p.

hemorragias, color pardo oscuras en las branquias (Figura 14.) y la sangre presentó una coloración marrón, debido a la presencia de desoxihemoglobina, observaciones similares son reportadas por otras investigaciones^{71 72 73 74 75}.

Tabla 6. Porcentaje de Supervivencia Acumulada en concentraciones subletales de nitrito de sodio (NaNO₂⁻) en *P. fasciatum*.

Concentraciones Subletales mg/L	Porcentaje de supervivencia acumulada			
	24 Horas %	48 Horas %	72 Horas %	96 Horas %
1,8	100	100	88,89	77,78
2,0	100	88,89	66,67	44,45

En esta investigación, al igual que en los resultados de la investigación: susceptibilidad de *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae) expuesto por cortos periodos de tiempo a nitrito, Ferreira⁷⁶, no reporta observaciones de respiración superficial ni tampoco observó signos de inflamación dermal en la parte inferior de la mandíbula durante la exposición al tóxico en todas las concentraciones subletales.

Por ultimo se puede destacar que a nivel sanguíneo el efecto más importante de la toxicidad del nitrito en peces, es la capacidad que este compuesto tiene para oxidar el átomo de hierro de la molécula de hemoglobina, que pasa de estado ferroso (Fe⁺²) a estado férrico (Fe⁺³), convirtiéndola en metahemoglobina, estableciendo un cuadro de hipoxia y cianosis causante de la muerte de los organismos.^{77 78 79} Así mismo en el periodo de exposición al nitrito de sodio se pudo producir la transformación de hemoglobina en metahemoglobina en la especie evaluada. Síntoma claro al observar que el nitrito confirió un inconfundible color marrón a la sangre y branquias indicando la oxidación del pigmento respiratorio en el *P. fasciatum*.

⁷¹ SPOTTE, S, Op. Cit.

⁷² SMITH, C.; PIPER, R, Op. Cit., 497-514 p.

⁷³ FERREIRA, Op. Cit. 627-636 p.

⁷⁴ WEDEMEYER, G.; YASUTAKE, W. Op. Cit. 822- 827 p.

⁷⁵ KNIE, J.; LOPES, E. Op. Cit. FATMA, 2004.

⁷⁶ VINATEA, Op. Cit., 166 p.

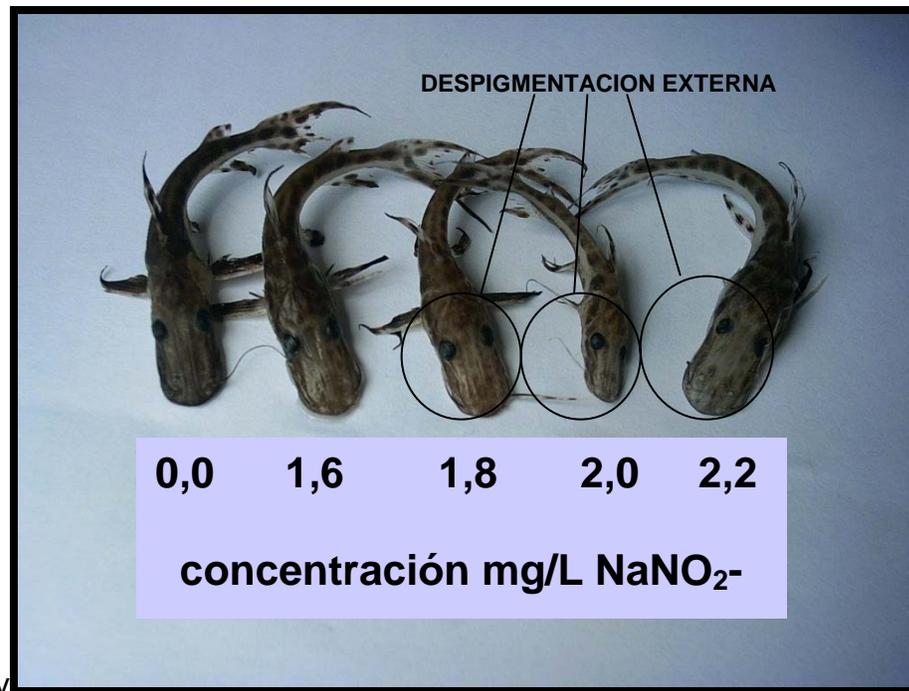
⁷⁶ FERREIRA, Op. Cit. 627-636 p.

⁷⁷ SPOTTE, S, Op. Cit.

⁷⁸ SMITH, C.; PIPER, R, Op. Cit., 497-514 p.

⁷⁹ WEDEMEYER, G.; YASUTAKE, W. Op. Cit. 822- 827 p.

Figura 12. Despigmantación externa en concentraciones de 1,8, 2,0 y 2,2 mg/L de NaNO_2^- en el ensayo definitivo.



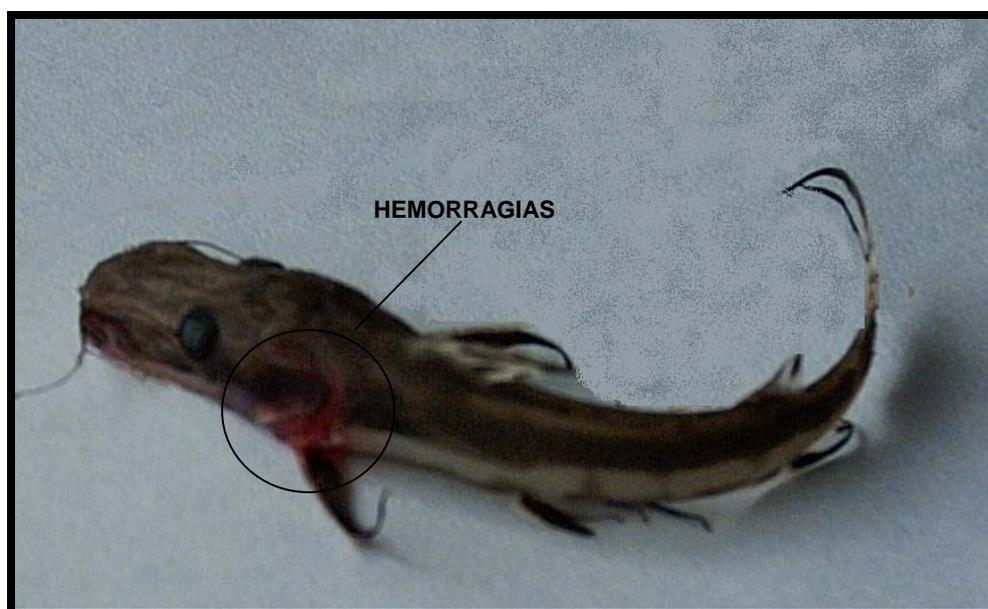
v

Figura 13. Pérdida de equilibrio del cuerpo en las concentraciones de 1,8, 2,0 y 2,2 mg/L de NaNO_2^- en el ensayo definitivo.



Por otra parte, el pH tiene una relación directamente proporcional a la formación de metahemoglobina con el nitrito, que quiere decir que cuanto mayor es el pH del medio mayor es la toxicidad del nitrito debido probablemente al incremento de la forma ionizada NO_2^- ⁸⁰. En el presente estudio no se presentó fluctuaciones significativas en el valor de pH por lo tanto se evitó alteraciones en los resultados esperados para calcular la CL50 de este compuesto en el *P. fasciatum*. Que garantiza más aun la confiabilidad de los resultados obtenidos

Figura 14. Hemorragias color pardo oscuras en branquias en las concentraciones de 1,8, 2,0 y 2,2 mg/L de NaNO_2^- . en el ensayo definitivo



La despigmentación es un síntoma clave de intoxicación, que se debe a un incremento del CO_2 debido a la falta de O_2 en la sangre y en la capacidad de transporte de O_2 de la hemoglobina y los grupos heme (grupos de átomos que forma el pigmento) que se pierden cuando el pH o la presencia de O_2 disminuye, provocando un estado de estrés reflejado en las respuestas de alerta a la intoxicación⁸¹.

⁸⁰ HUEY, D.; SIMCO, B.; CRISWELL, D, Op. Cit., 558-562 p.

⁸¹ LAGLER, K. BARDACH, J. MILLER, R. y PASSINO, D. gia 1 AGT Editor, S.A. Ciudad de Mexico, 1984. 227 p.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

Los Juveniles de bagre rayado *P. fasciatum* en el presente estudio, presentaron alta sensibilidad a la toxicidad de compuestos nitrogenados como el nitrito de sodio.

La concentración máxima admisible donde no causa efectos subletales en los animales y el valor máximo para el cultivo de juveniles de *P fasciatum* es de 1,6 mg/L de nitrito NO₂⁻

La concentración letal donde causa el 50% de mortalidad CL50 (96 horas) de la población expuesta es de 1,93 mg/L de nitrito de sodio (NaNO₂⁻) con limite superior de 2,03 mg/L y limite inferior de 1,85 mg/L.

Los resultados obtenidos en el presente estudio contribuyen a desarrollar un paquete tecnológico más desarrollado para el cultivo de juveniles de *Pseudoplatystoma fasciatum*, con el fin de mejorar los resultados de producción.

A pesar de que el bagre rayado *P. fasciatum* vive en ambientes donde existe abundante materia orgánica en descomposición, esta especie es altamente sensible a la toxicidad de compuestos nitrogenados como el nitrito por lo tanto se concluye que ecológicamente este pez vive en medios donde el recambio del agua es alto evitando la presencia de compuestos nitrogenados en este habitat.

Uno de los compuestos nitrogenados más importantes a tener en cuenta en sistemas de producción acuícola es el nitrito debido a que este compuesto es difícil de controlar. De forma mecánica se controla haciendo recambios, de forma biológica con biofiltros, comparando con el amonio que también es tóxico pero se puede controlar con abundante aireación debido a que es un compuesto altamente volátil.

7.2 RECOMENDACIONES

Para obtener mayor sobrevivencia de juveniles de *P fasciatum* se recomienda verificar que la concentración de nitrito disuelta en el agua se encuentre en un valor no superior a 1;6 mg/L de NO₂⁻.

Con la experiencia adquirida en estos ensayos se recomienda esta especie para prácticas de investigación en aspectos de larvicultura y alevínaje.

El software diseñado para cálculos de CL50 logra mayor eficiencia en el proceso de la información puesto que reduce tanto la probabilidad de error humano como el tiempo que invierte en el investigador en su elaboración, por lo tanto se sugiere hacer uso de esta herramienta para estudios de evaluación de mortalidad que se realice en el futuro.

Es necesario continuar con el proceso de investigación de la biología y ecología en los *P. fasciatum* para mejorar y complementar la información y desarrollar un paquete tecnológico más completo.

Motivar a futuros investigadores del programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño, a elaborar estudios y investigaciones de especies nativas para disminuir el cultivo de especies foráneas que alteran el equilibrio de los ecosistemas acuáticos amazónicos y nativos.

8. BIBLIOGRAFIA

ALLEN, E. and KINNEY B. Proceedings of the bioengineering in symposium for fish cultura. Section of the American Fisheries Society, 1981. 486-492 p.

American Public Health Association (APHA). Toxicity tests methods for aquatic organisms: Standard methods for the examination of water and waste water. 17ed. Washington: APHA, 1991. 873 p.

ARMSTRONG, D; CHIPPENDALE, A; KNIGHT, A and COLT, J. Interaction of ionized and unionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii*. *Sne. Biol. Bull.* 1978. 15-31p

BOYD, CLAUDE. Water quality for pond aquaculture. Alabama: Departmente of Fisheries and Allied Aquacultures, Auburn University. Research and Development Series No. 43, 1998. 37 p.

-----_. Water quality in ponds for aquaculture, Alabama: Auburn University, Birmingham Publishing. 1990. 482 p.

COLT, J. and TCHOBANOGLOUS, G. Evaluation of the short term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus punctatus* in: *Aquaculture*, 8, 1976. p.p 209-224.

FERREIRA, O.; DOS SANTOS, D.; LO PRESTI, F. and NARCISO, M. Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae), to short-term exposure to nitrite. In: *Jornal Acuaculture*. Sao Carlos Brazil: Elsevier B. V. 2004. 627-636 p.

FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br>>. Acesso: 10 abril de 2005.

GARCIA, J. Tecnología de las explotaciones piscícolas. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, 1989., 326 p.

GIAQUINTO, P. Comunicação química no pintado, *Pseudaplatystoma coruscans*. Tese (Doutorado em Aqüicultura) Botucatu, Brasil: Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2001. 57 f.

GUERRERO, C. E. Treinamento alimentar do pintado, *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1289): sobrevivencia, crescimento e aspectos economicos. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Jaboticabal, Brasil: Universidade Estadual Paulista. 2003. 72 f.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C. and TRURSTON, R. V. Trimmed Spearman – Karber methods for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Washington: *Environ. Sci. Technol.* v 11, n 7, 1977, 714-719 p.

HOLT, J. and ARNOLD, C. Effects of ammonia and nitrite on growth and survival of red drum eggs and larvae. Transactions of American Fisheries Society 112(2B), 1983, 314-318 p.

HUEY, D.; SIMCO, B. and CRISWELL, D. Nitrite induced methemoglobin formation in channel catfish. Transactions of the American Fisheries Society, 109 (5), 1980. 558-562 p.

PORTELLA, M. C., Tecnicas de criação intensiva de larvas de peixes neotropicais; situação atual e perspectivas, In: Congresso da sociedade Brasileira de aquicultura e biologia aquatica, 2004, Vitoria. Anais. São Paulo; Tec Art Editora Ltda. 2004. 35 p.

KNIE, J. e LOPES, E. Testes Ecotoxicológicos, métodos, técnicas e aplicações, Agência Alemã de Cooperação Técnica, GTZ., Santa Catarina, Brasil: Fundação do Meio Ambiente de FATMA, 2004.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L. e BRUM, J. A. Produção intensiva de surubins no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda. In: Aqüicultura Brasil'98, 1998, Recife. Anais do Aqüicultura Brasil'98. Recife, 1998, v. 1, 393-407 p.

KORMANIK, G. and CAMERON, J. Ammonia excretion in animals that breathe water: a review. Mar. Biol. Lett., 2, 1981. 11-23 p.

MIRANDA, M. and RIBEIRO, L.P. Características zootécnicas do surubim *Pseudoplatystoma coruscans*. In: Surubim. Belo Horizonte, Brasil: IBAMA, 1997. 43-56 p. Coleção Meio Ambiente, Série Estudos Pesca, 19.

MURTY, A. S. Toxicity of pesticides to fish. CRC Press, 1988. v. 2, 165 p.

MOJICA, H. O.; RODRIGUEZ, J. A. y OROZCO, C. R. Manual de reproducción y cultivo del bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*), Villavicencio, Colombia: INPA. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura sf.

PALACHECK, R. and TOMASSO, J. Toxicity of nitrite to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), tilapia (*tilapia aurea*), and largemouth bass (*Micropterus salmoides*) evidence for a nitrite exclusion mechanism Can, Fish Aquat Sci. 41 1984. 1739-1744.

REID, S.B. La biología de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P. tigrinum* en la cuenca del Río Apure, Venezuela. Revista Unellez de Ciencia y Tecnología, Barinas, v. 1, n.1, 1983. 13-41 p.

RUSSO, R. and THRSTON, R. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes: In BRUNE, D. TOMASSO, J. Acuaculture and water quality Baton Rouge: Was, 1991 58-89p

SMITH, C. and PIPER, R. Lesions associated with chronic exposure to ammonia . In: W. RIBELIN and G. The pathology of fishes. Madison, Wisconsin USA: MIGAKI (Ed.). University of Wisconsin Press, 1975. 497-514 p.

SPOTTE, S. Fish and invertebrate culture. New York: John Wiley and Sons Eds., 1979.

VINATEA, L. Principios químicos da qualidade da água em aquicultura, Uma Revisão para peixes e camarões., Florianópolis-Brasil: Editora da Universidade Federal de Santa Catarina. 1997. 166 p.

----- . Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura, Uma Revisão para peixes e camarões., Florianópolis-Brasil: 2a edição Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 2004. 231 p.

WEDEMEYER, G. and YASUTAKE, W. Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). Canada: Journal of Fisheries Research Board of Canada, 35, 1978. 822- 827 p.

WUHRMANN, K. und WORKER , H. Experimentelle untersuchungen uber die ammoniak und blausaurevergiftung. Schweiz, Z. Hudrol.,11, 1948. 210-244 p.

ANEXOS

Anexo A. Normas para ensayos ecotoxicológicos con peces

Después de la recepción de los peces en el laboratorio se debe someter a los ejemplares en cuarentena, en un tanque exclusivo para ese fin sin cualquier tipo de conexión con los demás recipientes de cultivo e inclusive con el sistema central de filtrado de agua.

La cuarentena se realiza por una semana. En la cual los organismos se aclimatan a las condiciones del nuevo medio, especialmente al tipo de agua, alimento y temperatura. Los individuos que presentaron deformaciones o comportamiento anormal fueron descartados de los ensayos y de la cuarentena.

La concentración de oxígeno disuelto en los bioensayos no debe ser inferior al 40% de saturación en el agua. La mortalidad o proporción de peces con comportamiento anormal, en el tratamiento testigo no debe exceder el 10%.

Fichas de control. Para cada lote adquirido se realiza una ficha de control, donde se registró, la siguiente información:

Numero del lote				
Procedencia de los peces				
Organismos muertos en el transporte				
Condiciones de agua	pH	Temp	OD	CaCo ₃
Tipo de alimento				
Periodo de cuarentena				

Información de los peces. Para los bioensayos se registra la siguiente información de los peces:

Origen de los peces				
Tipo de agua de procedencia	pH	Temp	OD	CaCo ₃
Edad y tamaño de los peces				
Tratamiento o profilaxis	Hora	fecha	ppm	

Tratamiento profiláctico. Para la manutención de los peces en el laboratorio se realiza un tratamiento profiláctico con azul de metileno para evitar la mortalidad de los ejemplares por patologías adversas a las esperadas en los bioensayos; consignando los siguientes datos en una ficha de control:

Numero inicial de individuos				
Procedencia de los peces				
Organismos enfermos o muertos				
Condiciones de agua	pH	Temp	OD	CaCo ₃
Recambio de agua				
Tipo de alimento				

Agua. La calidad del agua para los ensayos, la concentración no debe ser menor del 40% de saturación de oxígeno disuelto. Se debe medir parámetros como temperatura, pH, oxígeno disuelto, y conductividad todos los días.

Para preparar las soluciones de las sustancias a evaluar y las diluciones de las muestras de agua se utiliza agua desionizada, destilada o de calidad equivalente con los parámetros fisicoquímicos consignados en la tabla 5.

Parámetros fisicoquímicos requeridos para pruebas ecotoxicológicas

Parámetro	Rango
Conductividad	10 μ s / cm
Dureza de calcio	300 mg / L CaCo ₃
Oxígeno disuelto	90 % de saturación
pH	7,7 a 8,2
Temperatura	Depende de la especie

Anexo B. Fichas de control del material biológico

Numero del lote	4 <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>			
Procedencia de los peces	Piscicultura Pirai Terenos Matto Grosso do Sul Brasil			
Organismos muertos en el transporte	20 de 500			
Condiciones de agua	pH 7,5	Temp 27°C	OD 7,5 ppm	CaCo ₃
Tipo de alimento	Comercial 40 %			
Periodo de cuarentena	8 días			

Origen de los peces	Piscicultura Pirai Terenos Matto Grosso do Sul Brasil			
Tipo de agua de procedencia	pH 7,5	Temp 27 °C	OD 7,5 ppm	CaCo ₃
Edad y tamaño de los peces	1 mes 10 dias 1,6 g promedio			
Tratamiento o profilaxis	Azul de metileno	fecha abril 10	ppm 0,25 ppm	

Numero inicial de individuos	500			
Procedencia de los peces	Piscicultura Pirai Terenos Matto Grosso do Sul Brasil			
Organismos enfermos o muertos	-----			
Condiciones de agua	pH 7,5	Temp 27 °C	OD 7,5 ppm	CaCo ₃
Recambio de agua	Cada 24 horas			
Tipo de alimento	Comercial 40 %			

Anexo C. Parámetros físico químicos ensayo screening. (0 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	26,2	26,2	26,2	7,2	7,2	7,3	7,87	7,86	7,87	170,5	170,5	170,7
1	26,2	26,0	26,1	7,3	7,3	7,4	7,83	7,85	7,86	170,4	170,6	170,6
2	26,1	26,1	26,2	7,4	7,2	7,3	7,80	7,87	7,85	170,7	170,7	170,7
3	26,0	26,0	26,2	7,4	7,4	7,2	7,84	7,87	7,86	170,9	170,8	170,7
4	26,3	26,2	26,1	7,3	7,3	7,3	7,86	7,80	7,87	170,4	170,5	170,5
5	26,3	26,0	26,2	7,4	7,4	7,4	7,84	7,79	7,87	170,5	170,5	170,5
6	26,1	26,1	26,1	7,4	7,3	7,3	7,80	7,80	7,86	170,7	170,8	170,6
7	26,1	26,0	26,0	7,4	7,4	7,2	7,81	7,86	7,86	170,8	170,7	170,7
8	26,2	26,2	26,1	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,6	170,7	170,6
9	26,1	26,2	26,2	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,7	170,8	170,7
Prom.	26,1	26,1	26,1	7,3	7,3	7,3	7,83	7,82	7,86	170,6	170,7	170,6

Anexo D. Parámetros físico químicos ensayo screening. (24 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	25,6	26,2	25,2	7,2	7,2	7,3	7,79	7,80	7,81	182,5	180,5	180,6
1	25,5	26,1	25,1	7,0	7,2	7,3	7,86	7,85	7,86	176,4	175,5	179,0
2	25,1	27,1	25,2	7,5	7,2	7,4	7,85	7,87	7,85	182,7	180,6	180,7
3	25,2	26,2	25,2	7,2	7,3	7,2	7,87	7,87	7,87	182,9	180,7	180,8
4	25,7	25,2	25,4	7,4	7,3	7,3	7,9	7,80	7,87	180,4	180,5	180,5
5	25,7	26,1	25,6	7,3	7,4	7,4	7,89	7,79	7,88	180,5	180,5	180,5
6	25,2	25,1	26,1	7,5	7,3	7,3	7,87	7,80	7,86	182,7	180,8	180,6
7	25,2	25,1	26,0	7,6	7,4	7,2	7,91	7,86	7,86	180,8	180,7	180,7
8	25,4	25,7	26,6	7,5	7,4	7,3	7,89	7,86	7,85	179,6	180,7	180,6
9	25,4	25,5	25,5	7,5	7,4	7,3	7,7	7,86	7,85	182,7	180,8	180,7
Prom.	25,4	25,8	25,5	7,3	7,3	7,3	7,73	7,89	7,85	180,6	179,6	179,5

Anexo E. Parámetros físico químicos ensayo screening. (48 horas)

Acuario.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	25,2	25,2	25,2	7,3	7,3	7,2	7,99	7,97	7,95	170,5	170,5	170,6
1	25,2	25,1	25,1	7,4	7,4	7,3	7,97	7,85	7,86	170,4	175,5	179,0
2	25,7	26,1	26,2	7,5	7,3	7,3	7,02	7,07	7,05	170,5	170,6	180,7
3	25,6	26,2	25,7	7,3	7,3	7,4	7,98	7,97	7,96	176	180,7	180,8
4	25,2	25,2	25,4	7,4	7,3	7,3	8,01	7,80	7,87	190	180,5	190,5
5	25,3	26,1	25,6	7,3	7,4	7,4	7,95	7,79	7,88	200	201,5	200
6	25,2	25,1	26,1	7,4	7,3	7,3	7,99	7,80	7,86	220	217,8	216,6
7	25,8	25,1	26,0	7,5	7,4	7,2	8,01	7,86	7,86	200	190,7	195,7
8	25,8	25,7	26,6	7,5	7,4	7,3	7,92	7,86	7,85	190,5	190,7	190,6
9	25,8	25,5	25,5	7,6	7,4	7,3	8,01	7,86	7,85	220	218,8	120,7
Prom.	25,5	25,4	25,9	7,4	7,3	7,3	7,27	7,79	7,80	190,7	197,5	178,7

Anexo F. Parámetros físico químicos ensayo screening. (72 horas)

Acuario.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	25,2	25,2	25,2	7,4	7,5	7,4	7,96	7,97	7,95	181,2	179,5	179,6
1	25,1	25,1	25,1	7,4	7,4	7,3	8	7,95	7,96	178,7	175,5	179,0
2	24,8	25,1	25,2	7,5	7,4	7,3	8,03	7,97	7,95	188,7	179,6	189,7
3	25,6	26,2	25,7	7,4	7,4	7,4	7,99	7,97	7,96	192,5	190,7	190,8
4	25,2	25,2	25,4	7,4	7,3	7,3	8,01	7,80	7,87	191,6	189,5	190,5
5	25,3	26,1	26,1	7,4	7,4	7,4	7,98	7,79	7,88	207	208,5	20,6
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prom.	25,2	25,6	25,3	7,4	7,4	7,3	7,95	7,85	7,93	189,9	189,4	189,3

Anexo G. Parámetros físico químicos ensayo screening. (96 horas)

Acuario.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	25,2	25,2	25,2	7,4	7,5	7,4	8,15	7,99	8,10	178,9	179,5	180,6
1	25,1	25,1	25,2	7,5	7,4	7,4	8,2	7,95	7,99	181,7	180,5	182,0
2	24,8	25,1	25,1	7,5	7,5	7,4	8,21	8,16	8,20	189,8	179,6	189,7
3	25,6	26,2	25,7	7,4	7,4	7,4	7,19	7,27	7,36	199,5	190,7	190,8
4	25,2	25,2	25,4	7,4	7,3	7,3	8,02	7,98	7,99	191,8	189,5	190,5
5	25,2	26,1	26,1	7,4	7,4	7,4	8,10	7,98	8,08	210	208,5	206
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prom.	25,1	25,4	25,6	7,4	7,4	7,3	8,10	7,90	7,89	191,9	188,0	189,2

Anexo H. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (0 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	26,0	26,0	26,2	7,2	7,2	7,3	7,87	7,86	7,87	170,5	170,5	170,6
1	26,0	26,0	26,2	7,3	7,3	7,2	7,83	7,85	7,85	170,5	170,6	170,6
2	26,2	26,1	26,1	7,2	7,2	7,3	7,83	7,84	7,85	170,7	170,7	170,5
3	26,0	26,0	26,2	7,2	7,3	7,2	7,83	7,83	7,86	170,5	170,5	170,7
4	26,2	26,2	26,2	7,3	7,3	7,3	7,84	7,84	7,84	170,4	170,5	170,6
5	26,2	26,0	26,2	7,2	7,3	7,2	7,85	7,75	7,85	170,4	170,4	170,5
6	26,1	26,1	26,1	7,3	7,3	7,3	7,83	7,84	7,84	170,7	170,4	170,7
7	26,1	26,0	26,0	7,4	7,4	7,3	7,83	7,85	7,85	170,8	170,7	170,5
Prom.	26,1	26,0	26,1	7,2	7,2	7,2	7,83	7,83	7,85	170,5	170,5	170,5

Anexo I. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (24 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	26,2	26,3	26,2	7,5	7,4	7,4	7,2	7,2	7,1	171,5	171,0	170,7
1	26,2	26,0	26,0	7,3	7,3	7,4	7,3	7,2	7,4	170,9	170,6	170
2	26,1	26,1	26,2	7,4	7,3	7,3	7,2	7,1	7,3	170,7	170,7	170,7
3	26,0	26,2	26,2	7,4	7,3	7,2	7,2	7,3	7,2	170,9	170,8	170,7
4	26,2	26,2	26,1	7,3	7,4	7,3	7,1	7,5	7,1	170,4	170,5	170,5
5	26,2	26,1	26,2	7,4	7,4	7,4	7,3	7,4	7,3	170,5	170,6	170,5
6	26,2	26,2	26,1	7,4	7,4	7,3	7,2	7,3	7,2	170,7	170,8	170,6
7	26,1	26,0	26,1	7,4	7,3	7,2	7,2	7,2	7,1	170,8	170,8	170,7
Prom.	26,1	26,1	26,1	7,3	7,3	7,3	7,2	7,2	7,2	170,5	170,6	170,6

Anexo J. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (48 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	26,0	26,2	26,2	7,5	7,3	7,3	7,3	7,2	7,1	170,5	171,3	170,4
1	26,0	26,0	26,1	7,4	7,4	7,4	7,3	7,1	7,3	170,1	170,6	170,6
2	26,1	26,0	26,2	7,4	7,3	7,3	7,2	7,2	7,2	171,7	170,7	170,8
3	26,0	26,2	26,1	7,3	7,3	7,2	7,3	7,2	7,3	171,5	170,8	170,5
4	26,2	26,2	26,0	7,3	7,3	7,3	7,1	7,5	7,4	170,5	170,7	170,4
5	26,2	26,0	26,2	7,4	7,4	7,4	7,2	7,4	7,4	170,6	170,7	170,6
6	26,0	26,2	26,1	7,4	7,4	7,4	7,2	7,3	7,2	170,5	170,7	170,7
7	26,1	26,0	26,0	7,3	7,3	7,2	7,2	7,2	7,1	170,6	170,6	170,3
Prom.	26,0	26,1	26,1	7,3	7,3	7,3	7,2	7,2	7,2	170,8	170,6	170,5

Anexo K. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (72 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	25,1	27,1	25,2	7,5	7,2	7,4	7,85	7,87	7,85	182,7	180,6	180,7
1	25,2	26,2	25,2	7,2	7,3	7,2	7,87	7,87	7,87	182,9	180,7	180,8
2	25,7	25,2	25,4	7,4	7,3	7,3	7,9	7,80	7,87	180,4	180,5	180,5
3	25,7	26,1	25,6	7,3	7,4	7,4	7,89	7,79	7,88	180,5	180,5	180,5
4	25,2	25,1	26,1	7,5	7,3	7,3	7,87	7,80	7,86	182,7	180,8	180,6
5	25,2	25,1	26,0	7,6	7,4	7,2	7,91	7,86	7,86	180,8	180,7	180,7
6	25,4	25,7	26,6	7,5	7,4	7,3	7,89	7,86	7,85	179,6	180,7	180,6
7	25,4	25,5	25,5	7,5	7,4	7,3	7,7	7,86	7,85	182,7	180,8	180,7
Prom.	25,3	25,8	25,6	7,4	7,3	7,3	7,84	7,82	7,85	181,5	180,6	180,6

Anexo L. Parámetros físico químicos ensayo preliminar (96 horas)

Acuario.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	25,2	25,1	25,1	7,4	7,4	7,3	7,97	7,85	7,86	170,4	175,5	179,0
1	25,6	26,2	25,7	7,3	7,3	7,4	7,98	7,97	7,96	176	180,7	180,8
2	25,2	25,2	25,4	7,4	7,3	7,3	8,01	7,80	7,87	190	180,5	190,5
3	25,3	26,1	25,6	7,3	7,4	7,4	7,95	7,79	7,88	200	201,5	200
4	25,2	25,1	26,1	7,4	7,3	7,3	7,99	7,80	7,86	220	217,8	216,6
5	25,8	25,1	26,0	7,5	7,4	7,2	8,01	7,86	7,86	200	190,7	195,7
6	25,8	25,7	26,6	7,5	7,4	7,3	7,92	7,86	7,85	190,5	190,7	190,6
7	25,8	25,5	25,5	7,6	7,4	7,3	8,01	7,86	7,85	220	218,8	120,7
Prom.	25,4	25,5	25,7	7,4	7,3	7,3	7,93	7,82	7,84	195,9	194,1	183,9

Anexo M. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (0 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	25,1	27,1	25,2	7,5	7,2	7,4	7,85	7,87	7,85	182,7	180,6	180,7
1	25,7	25,2	25,4	7,4	7,3	7,3	7,9	7,80	7,87	180,4	180,5	180,5
2	25,2	25,1	26,1	7,5	7,3	7,3	7,87	7,80	7,86	182,7	180,8	180,6
3	25,2	25,1	26,0	7,6	7,4	7,2	7,91	7,86	7,86	180,8	180,7	180,7
4	25,4	25,7	26,6	7,5	7,4	7,3	7,89	7,86	7,85	179,6	180,7	180,6
5	25,4	25,5	25,5	7,5	7,4	7,3	7,7	7,86	7,85	182,7	180,8	180,7
Prom.	25,3	25,6	25,8	7,5	7,3	7,3	7,85	7,84	7,85	181,4	180,6	180,6

Anexo N. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (24 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	26,2	26,0	26,1	7,3	7,3	7,4	7,83	7,85	7,86	170,4	170,6	170,6
1	26,1	26,2	26,2	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,7	170,8	170,7
2	26,2	26,0	26,1	7,3	7,3	7,4	7,83	7,85	7,86	170,4	170,6	170,6
3	26,1	26,1	26,2	7,4	7,2	7,3	7,80	7,87	7,85	170,7	170,7	170,7
4	26,1	26,1	26,2	7,4	7,2	7,3	7,80	7,87	7,85	170,7	170,7	170,7
5	26,3	26,0	26,2	7,4	7,4	7,4	7,84	7,79	7,87	170,5	170,5	170,5
Prom.	26,1	26,1	26,1	7,3	7,3	7,3	7,82	7,84	7,85	170,5	170,6	170,6

Anexo O. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (48 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	26,1	26,0	26,0	7,4	7,4	7,2	7,81	7,86	7,86	170,8	170,7	170,7
1	26,2	26,2	26,1	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,6	170,7	170,6
2	26,3	26,0	26,2	7,4	7,4	7,4	7,84	7,79	7,87	170,5	170,5	170,5
3	26,1	26,0	26,0	7,4	7,4	7,2	7,81	7,86	7,86	170,8	170,7	170,7
4	26,2	26,2	26,1	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,6	170,7	170,6
5	26,1	26,2	26,2	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,7	170,8	170,7
Prom.	26,1	26,1	26,1	7,4	7,4	7,2	7,83	7,84	7,85	170,5	170,6	170,6

Anexo P. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (72 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	26,3	26,0	26,2	7,4	7,4	7,4	7,84	7,79	7,87	170,5	170,5	170,5
1	26,1	26,0	26,0	7,4	7,4	7,2	7,81	7,86	7,86	170,8	170,7	170,7
2	26,2	26,2	26,1	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,6	170,7	170,6
3	26,1	26,2	26,2	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,7	170,8	170,7
4	26,2	26,0	26,1	7,3	7,3	7,4	7,83	7,85	7,86	170,4	170,6	170,6
5	26,1	26,1	26,2	7,4	7,2	7,3	7,80	7,87	7,85	170,7	170,7	170,7
Prom.	26,1	26,0	26,1	7,3	7,3	7,3	7,82	7,84	7,85	170,6	170,6	170,6

Anexo Q. Parámetros físico químicos ensayo definitivo (96 horas)

Tto.	Temperatura °C			oxígeno ppm			pH			conductividad µs/cm		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	26,2	26,0	26,1	7,3	7,3	7,4	7,83	7,85	7,86	170,4	170,6	170,6
1	26,1	26,1	26,2	7,4	7,2	7,3	7,80	7,87	7,85	170,7	170,7	170,7
2	26,3	26,0	26,2	7,4	7,4	7,4	7,84	7,79	7,87	170,5	170,5	170,5
3	26,1	26,0	26,0	7,4	7,4	7,2	7,81	7,86	7,86	170,8	170,7	170,7
4	26,2	26,2	26,1	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,6	170,7	170,6
5	26,1	26,2	26,2	7,4	7,4	7,3	7,85	7,86	7,85	170,7	170,8	170,7
Prom.	26,1	26,0	26,1	7,3	7,3	7,3	7,83	7,84	7,85	170,6	170,6	170,6

Anexo S. Tablas de mortalidad ensayo preliminar

Concentración NaNO ₂ - ppm	Muertos													
	24			48			72			96	TOTAL	%		
	Horas			Horas			Horas			Horas				
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3		
0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
0,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
1,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
1,9	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2	22.22
2,2	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	2	9	100	

Anexo T. Tablas de mortalidad ensayo definitivo

Concentración NaNO ₂ - ppm	Muertos													
	24			48			72			96		TOTAL	%	
	Horas			Horas			Horas			Horas				
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3		
0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1,8	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2	22.22
2,0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	5	55.55
2,2	0	0	1	0	2	1	1	0	0	2	1	1	9	100

Anexo U. Datos obtenidos del software (TSK) TRIMMED SPEARMAN-KARBER

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS
FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE	May 2005	TEST NUMBER	3	DURATION	LC50	96 Hours
------	----------	-------------	---	----------	------	----------

CHEMICAL	Nitrite of sodium	SPECIES	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>			
RAW DATA						
CONCENTRATION (mg/l)	1,6	1,8	2,0	2,2		
NUMBER EXPOSED	9	9	9	9		
MORTALITIES	0	2	5	9		
SPEARMAN – KARBER TRIM					0,00	
SPEARMAN – KARBER ESTIMATES LC50					1,9353081	
					LOWER 95% LIMIT	1,85
					UPPER 95% LIMIT	2,03

Anexo V. Calculo de la regresión lineal CL50 y mortalidad.

X	Y	XY	Ln y	X ²	X y	X y ²	Y ²
1,6	0,01	0,016	-4,6001	2,56	-7,368	54,287	0,0001
1,8	22,22	39,99	3,1009	3,24	5,5816	31,154	493,7284
2,0	55,55	111,11	4,0172	4,0	8,0344	64,551	3085,80
2,2	100	220	4,6051	4,48	10,1312	102,641	10.000
Σ 7,6	177,68	371,006	7,1182	14,64	16,392	252,633	13579,52

$$\Sigma Y = bn + m\Sigma x \rightarrow 7,1182 = 4b + 7,6m$$

$$\Sigma XY = b\Sigma x + m\Sigma x^2 \rightarrow 16,3792 = 7,6b + 14,64m$$

DETERMINANTES

$$\Delta b = \begin{vmatrix} 7,1182 & 7,6 \\ 16,3792 & 14,64 \\ 4 & 7,6 \\ 7,6 & 14,64 \end{vmatrix} = \frac{-20,26}{0,8} = -25,325$$

$$\Delta m = \begin{vmatrix} 4 & 7,1182 \\ 7,6 & 11,8292 \\ 4 & 7,6 \\ 7,6 & 14,64 \end{vmatrix} = \frac{11,47}{0,8} = 14,3375$$

$$\text{LnY} = mx - b$$

$$\text{LnY} = 14,325X - 25,325$$

$$\text{Ln50} = 14,325X - 25,325$$

$$3,9120 = 14,325X - 25,325$$

$$X = \frac{3,9120 + 25,325}{14,325} = 1,97 \approx 1,93$$

Anexo W. Tablas de control clínico ensayo definitivo

Concentración NaNO ₂ - ppm		Observaciones 96 horas
0,0		Comportamiento normal
1,6		Comportamiento normal
1,8	R1	Nado errático, pérdida de equilibrio motor, despigmentación externa, coloración de la sangre marrón.
	R2	Perdida de equilibrio motor, despigmentación externa, coloración de la sangre marrón, Nado errático.
	R3	Nado errático, despigmentación externa, pérdida de equilibrio motor, coloración de la sangre marrón, muerte del 22 % de los organismos expuestos.
2,0	R1	Nado errático, Perdida de equilibrio motor, despigmentación externa, coloración de la sangre marrón, hemorragias branquiales.
	R2	Perdida de equilibrio motor, despigmentación externa, coloración de la sangre marrón, hemorragias branquiales, nado errático,
	R3	Nado errático, despigmentación externa, coloración de la sangre marrón, pérdida de equilibrio motor, hemorragias branquiales. , muerte del 55 % de los organismos expuestos.
2,2	R1	coloración de la sangre marrón, nado errático, Perdida de equilibrio motor, despigmentación externa, hemorragias branquiales.
	R2	Perdida de equilibrio motor, despigmentación externa, coloración de la sangre marrón, hemorragias branquiales, nado errático.
	R3	Perdida de equilibrio motor, despigmentación externa, coloración de la sangre marrón, nado errático, hemorragias branquiales. muerte del 100 % de los organismos expuestos.