

EXPOSICIÓN AGUDA A TRES CONCENTRACIONES DE NITRITO EN JUVENILES DE BOCACHICO (*PROCHILODUS MAGDALENAE*)

González JF¹, Suárez R², Gil B³ y Torres G⁴

Laboratorio de Toxicología Acuática
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Universidad Nacional de Colombia
Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia

RESUMEN

Juveniles de bocachico (*Prochilodus magdalenae*) (n=32) fueron distribuidos en 4 tratamientos experimentales con el fin de evaluar el efecto de la exposición a nitrito, durante 96 horas, en diferentes concentraciones: tratamiento 1 (control)=0 ppm N-NO₂, tratamiento 2=4,2 ppm N-NO₂, tratamiento 3=13,3 ppm N-NO₂ y tratamiento 4=22,3 ppm N-NO₂. Ocho animales por tratamiento (0,4 a 6,6 g de peso) fueron ubicados en acuarios de 10 galones con un sistema estático sin recambio de agua durante el periodo experimental, ~85% de saturación de oxígeno y a una temperatura promedio de 25°C. Todos los ejemplares expuestos a la más alta concentración de N-NO₂ murieron durante las primeras 18 horas de la exposición. Sólo uno de los peces expuestos a 13,3 ppm de N-NO₂ sobrevivió a las 96 h de exposición. La muerte de los 7 restantes se presentó en el periodo comprendido entre las 5 y las 18 h. Los peces de estos dos tratamientos mostraron hiperexcitabilidad y nado frenético previo a la muerte. En la necropsia se evidenció una marcada coloración oscura de la sangre y órganos internos. En los peces expuestos a 4,2 ppm se presentó la muerte de 2 ejemplares en las primeras cinco horas de exposición y supervivencia de los 6 restantes hasta la finalización del experimento. En estos últimos se observó una reducción en el consumo de alimento. Este reporte sobre la susceptibilidad de esta importante especie de la ictiofauna nativa frente a la acción del nitrito se constituye en una primera aproximación a la respuesta que puede darse cuando en condiciones de cultivo o en cuerpos de agua naturales se presente una modificación significativa de la concentración de NO₂.

Palabras claves: nitrito, bocachico, intoxicación aguda.

ACUTE WATERBORNE EXPOSURE TO NITRITE IN JUVENILES OF BOCACHICO (*PROCHILODUS MAGDALENAE*)

ABSTRACT

Juveniles of bocachico (*Prochilodus magdalenae*) (n=32) were randomly distributed in 4 different treatments. Treatment 1 (Control) = 0 ppm N-NO₂, Treatment 2 = 4.2 ppm N-NO₂, Treatment 3 = 13.3 ppm N-NO₂, and Treatment 4 = 22.3 ppm N-NO₂ to evaluate the effects

¹ Universidad Nacional de Colombia. jfgonzalezma@unal.edu.co

² Universidad Nacional de Colombia.

³ Universidad Nacional de Colombia.

⁴ Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

of acute exposure to nitrite (NO_2) during 96 h. Eight animals per treatment (0.4 – 6.6 g) were maintained in 10-gallon glass tanks using tap-dechlorinated water with ~ 85 % oxygen saturation and average temperature of 25°C. All of the specimens exposed to the highest N- NO_2 concentration died during the first 18 h while only one of the 13.3 ppm N- NO_2 -exposed survived the 96 h experimental time. The other 7 specimens died between 5 and 18 h after exposure. Fish of both treatments displayed abnormal swimming behavior and hypersensitivity to external stimuli. Major findings at the necropsy were darkening of blood and organs. Two of the fish exposed to 4.2 ppm N- NO_2 died during the first 5 hours of exposure and the other six survived. The latter had lower feed intake than those seen in controls. This is a first report on the response of bocachico to acute waterborne nitrite exposure. Findings from this research may be of help for producers that raise this species under semi-intensive aquaculture systems.

Key words: nitrites, bocachico, acute toxicity.

INTRODUCCIÓN

El bocachico (*Prochilodus magdalenae*) es una de las especies piscícolas nativas que mayor presión de origen antropogénico y ambiental ha sufrido en las últimas décadas. Se cree que la sobrepesca por sobreexplotación o por métodos ilegales y la contaminación por diversas fuentes son las principales causas que han diezmando su población (Valderrama *et al.*, 1993). Como consecuencia de esta situación, los registros de extracción pesquera han disminuido de modo significativo y han llegado a valores preocupantes, que muestran el riesgo en el que se encuentra esta especie. En su mejor momento, el bocachico contribuía con cerca del 60% de la pesca total de la cuenca del río Magdalena (aproximadamente 40,000 toneladas anuales). Esto ha cambiado de forma dramática, ya que se calcula que el volumen de capturas ha descendido en un 90% en los últimos 25 años. Mientras que en 1993 se extrajeron 12,834 toneladas de la cuenca del Río Magdalena, reportes posteriores mostraron descensos significativos que llegan a 6,426 t en 1997 y 3,729 t en 1998 (Inpa, 1998). Si bien la acuicultura nacional ha iniciado la explotación de esta especie en sistemas semiintensivos y en combinación con otras especies (policultivos), la acción contaminante del medio, las técnicas inapropiadas de pesca, el deterioro de las cuencas hídricas por deforestación y otros

factores ponen en riesgo la supervivencia de esta importante especie de la ictiofauna colombiana. Como consecuencia de estas situaciones, el bocachico ha sido clasificado como especie en “peligro crítico” dentro del grupo de especies amenazadas dulceacuícolas de Colombia (Mojica *et al.*, 2002).

Dentro de las variables fisicoquímicas fundamentales del agua, el nitrito (NO_2) se constituye en un estadio intermedio en la transformación de catabolitos nitrogenados. En muchas de las especies nativas nacionales no se conocen las concentraciones de éste y de otros parámetros del agua que ejercen efectos indeseables en su producción y en su salud. Este reporte se constituye en una primera aproximación al estudio del efecto agudo del NO_2 en el bocachico. A continuación se presenta una descripción de la respuesta de bocachicos juveniles a una exposición aguda con 3 diferentes concentraciones de NO_2 bajo condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Peces

Los animales fueron aclimatados a las condiciones del Laboratorio de Toxicología Acuática por un periodo no inferior a los 3 meses previos a la fase experimental. La

distribución de los 32 ejemplares se hizo teniendo en cuenta que en los 4 tratamientos fueran ubicados ejemplares de pesos altos, medios y bajos para buscar la mayor similitud entre las biomásas totales de cada grupo (tabla 1). Los pesos individuales de los ejemplares de cada tratamiento fueron registrados para una comparación posterior con los pesos finales hacia las 96 horas. Los animales que murieron durante el periodo experimental también fueron pesados antes de iniciar la necropsia.

El consumo de alimento y la conducta de los animales (actitud y ubicación en el acuario, patrón de nado) fueron evaluados durante el experimento. Al finalizar el periodo experimental, a los ejemplares que sobrevivieron se les practicó eutanasia utilizando metasulfonato de tricafna (1:5000-TMS®). La necropsia fue practicada a la hora 96 o al momento de la muerte durante la fase experimental, de acuerdo con la metodología de Reimschuessel (1993).

Exposición a NO₂

Los ejemplares fueron expuestos a 3 diferentes concentraciones de NO₂, tomando como base de cálculo para la concentración

el nitrógeno asociado al NO₂ (N-NO₂) y utilizando nitrato de sodio (NaNO₂) tipo analítico. Los cálculos basados en N-NO₂ se hicieron acogiendo la nomenclatura utilizada en otros reportes, para luego establecer más fácilmente las comparaciones. El promedio de la concentración real de nitrato a la que estuvieron expuestos los peces se obtuvo al analizar 2 muestras por acuario (hora cero y hora 96) utilizando la técnica de diazotización (APHA, 1992).

Caracterización fisicoquímica del agua

El pH de las aguas fue medido con potenciómetro (Beckman 220). La dureza, la alcalinidad y la concentración de ion cloruro fueron medidas a través de los métodos de titulación con EDTA (APHA, 1989), titulación con H₂SO₄ (APHA, 1989) y método argentométrico (APHA, 1967), respectivamente. La temperatura fue monitoreada con termómetros de columna de mercurio.

Análisis estadístico

Un análisis de varianza fue hecho para determinar si se presentaban diferencias significativas entre los pesos iniciales (biomasa

Tabla 1. Distribución de los tratamientos (Tx) experimentales, pesos individuales, biomasa total y peso promedio por grupo.

Pesos individuales y peso promedio por grupo (n=8)	Tx 1 (0)	Tx 2 (4,2)	Tx 3 (13,3)	Tx 4 (22,3)
Pesos individuales	2,9	3,4	3,5	3,5
	3,0	2,7	2,9	2,5
	3,4	4,0	2,8	3,4
	1,4	1,5	2,2	1,8
	1,1	1,4	1,0	1,1
	1,2	0,9	0,9	0,7
	0,4	1,2	1,0	1,2
	5,1	2,7	6,6	4,1
Biomasa total	18,5	17,8	20,9	18,3
Peso promedio ± D.E.	2,3 ± 1,5	2,2 ± 1,1	2,6 ± 1,9	2,3 ± 1,3

Concentraciones de N-NO₂ en paréntesis expresadas en ppm. Pesos expresados en gramos, peso promedio por acuario expresado como media ± desviación estándar.

total) de los tratamientos y luego, entre los mismos, postexposición al agente tóxico. Este análisis fue hecho luego de confrontar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos (test de Bartlett) y la normalidad de los datos obtenidos en la población experimental (test de Shapiro-Wilcoxon). El programa estadístico Statistix 7.0[®] fue utilizado para estos análisis.

RESULTADOS

Parámetros fisicoquímicos del agua

En la tabla 2 se presenta un resumen de los resultados de las pruebas fisicoquímicas que fueron realizadas para la caracterización del agua utilizada en el experimento.

Los resultados de las variables fisicoquímicas del agua estuvieron dentro de los rangos de valores apropiados para esta especie. La temperatura promedio en los acuarios estuvo dentro del rango ideal y no presentó diferencias significativas entre los tratamientos. Con respecto al pH, sus valores también estuvieron dentro del rango óptimo indicado para las especies acuícolas (6,5 a 9,0). Los valores de dureza encontrados permiten clasificar a las aguas dentro de la categoría de blandas (0-55 ppm de CaCO₃). Los rangos de alcalinidad encontrados (24 a 27 ppm de CaCO₃) corresponden a valores de bajas alcalinidades.

Evaluación de la conducta, de la respuesta al alimento y de la ganancia de peso

Los peces expuestos a las mayores concentraciones de NO₂ mostraron excitabilidad durante el periodo experimental, manifestada por respuestas motoras exacerbadas ante estímulos menores y una modulación disminuida de sus movimientos de nado. Previo a la muerte, los animales presentaron un nado frenético hacia la superficie.

La respuesta de los animales al ofrecimiento de alimento sólo pudo ser evaluada en el tratamiento de menor concentración de N-NO₂. Los animales mostraron avidez por el alimento cada vez que se les ofrecía durante las primeras 72 h de experimentación. En las últimas 24 h los animales expuestos a 4,2 ppm mostraron una disminución considerable del apetito.

La tabla 3 muestra los pesos registrados al final de las 96 h o al momento de la muerte de los individuos experimentales. El orden de ubicación de los ejemplares de cada tratamiento no necesariamente coincide con los de la tabla 1, ya que los cálculos están hechos con base en la biomasa total inicial y final (los ejemplares no fueron marcados individualmente).

A pesar de que el grupo control tuvo una ganancia de peso mayor (1,8 g) que la de los expuestos (4,2 ppm N-NO₂=0,1 g, 13,3 ppm N-NO₂=0,2 g y 22,3 ppm N-NO₂=0,1 g), el

Tabla 2. Promedios de las variables fisicoquímicas monitoreadas durante el periodo experimental de 96 h.

Variable	Tx 1	Tx 2	Tx 3	Tx 4
[N-NO ₂]	0	4,2	13,3	22,3
Temperatura	25,2	25,7	26,2	25,2
pH	7,4	7,5	7,5	7,6
Ion cloruro	6,0	9,0	7,5	6,0
Dureza	24,0	26,0	26,0	21,0
Alcalinidad	24,0	24,0	24,0	27,6

N-NO₂, e ion cloruro expresados en partes por millón (ppm). Dureza y alcalinidad expresadas en ppm de CaCO₃. Temperatura expresada en grados centígrados.

Tabla 3. Pesos individuales finales, peso promedio por grupo y ganancia de peso expresados en gramos.

Pesos individuales, peso promedio por grupo y ganancia de peso (n=8)	Tx 1 (0)	Tx 2 (4,2)	Tx 3 (13,3)	Tx 4 (22,3)
Pesos individuales	3,0	3,2	3,8 ^Δ	3,8 ^Φ
	3,2	2,7	2,9 ^Φ	2,8 ^Ψ
	2,7	3,9 ^Ψ	2,9 ^Φ	3,1 ^Ψ
	1,6	1,4	2,3 ^Φ	1,9 ^Ψ
	1,3	1,6	1,0 ^Ψ	1,1 ^Φ
	0,8	1,0 ^Δ	0,9 ^Φ	0,8 ^Δ
	0,5	1,2	0,8	1,1 ^Φ
	6,4	2,9	6,5 ^Δ	3,8 ^Δ
Biomasa total final	20,3	17,9	21,1	18,4
Ganancia de peso (biomasa final-biomasa inicial)	+1,8	+0,1	+0,2	+0,1

Φ Peces que murieron a las 5 h 15' de exposición.

Ψ Peces que murieron a las 5 h 45' de exposición.

Δ Peces que murieron entre las 6 y 18 h postexposición.

Los animales sin ningún símbolo sobrevivieron las 96 h del periodo experimental.

análisis de varianza no arrojó una diferencia significativa entre los mismos ($p > 0,05$). Los pesos corporales iniciales de los 4 grupos experimentales tampoco mostraron diferencias significativas entre ellos ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

Parámetros fisicoquímicos del agua y concentración de nitritos

Los resultados de las variables fisicoquímicas del agua estuvieron dentro de los rangos de valores normales y no se considera que pudieran haber incidido en la absorción y biodisponibilidad del NO_2 para los peces. Si bien la temperatura del agua determina variaciones importantes en la frecuencia de ventilación y en la tasa metabólica de los individuos, hecho que afecta la absorción de NO_2 a través de las branquias (Watenpaugh and Beiting, 1986), en este estudio la temperatura se mantuvo estable durante todo el

periodo experimental, sin mostrar variaciones dentro del mismo tratamiento o entre los diferentes tratamientos.

Con respecto al pH de las aguas se ha encontrado en estudios hechos con otras especies piscícolas que la tendencia hacia un pH ácido puede determinar un desequilibrio en las concentraciones de las especies químicas de NO_2 , como es el caso del ácido nitroso (HNO_2), fuente aditiva del agente tóxico (Wedemayer and Yasutake, 1978). Para este estudio en particular, los valores promedio del pH de las aguas estuvieron en el rango de ligera alcalinidad, por lo que la posibilidad de formación de HNO_2 como fuente adicional al NaNO_2 utilizado sería muy remota. Jensen (2003) anota que el HNO_2 como forma de nitrito sólo representa una fracción insignificante de formas de NO_2 a los pHs naturales de las aguas y particularmente a los que se trabajaron en este experimento.

La cuantificación del ion cloruro (Cl^-) es fundamental cuando se estudia la toxicocinética del NO_2 en los peces. El mecanismo de acción en el que se fundamenta la absorción del NO_2 a través de las branquias está dado por la presencia de una variedad de células, fundamentales en el equilibrio ionorregulatorio de los peces, conocidas como ionocitos o células de cloruro (Noga, 1996). A través de estas células, el ion NO_2^- encuentra el canal de ingreso al interior del pez, dado el carácter aniónico (carga negativa) que posee, es decir, de la misma naturaleza del Cl^- (Fontenot *et al.*, 1999). En el presente trabajo, los niveles de ion cloruro encontrados en las aguas fueron, según lo esperado, muy bajos (tabla 2). Con las concentraciones que fueron detectadas en las aguas usadas en este experimento (rango de 6 a 9 ppm) no se esperaría una interferencia en la absorción del NO_2 a través de las branquias. La concentración de Cl^- que fue encontrada en las aguas en este estudio, tanto del periodo de aclimatación como del experimental, hace muy poco probable una interferencia de este anión en la absorción del NO_2 en los ejemplares expuestos.

La adaptación a exposiciones subletales de NO_2 previas al efecto de una mayor concentración ha sido reportada previamente en especies piscícolas (Urrutia y Tomaso, 1987). Los análisis de ion NO_2 en aguas durante el periodo preexperimental en el presente estudio no mostraron valores detectables según la técnica de diazotización. Esto garantizó que la respuesta encontrada durante el experimento a 96 h no estuviera afectada por una adaptación previa al tóxico o modificada por mecanismos reguladores inducibles en los peces, como el de la nitrato reductasa eritrocítica (Huey y Beitingger, 1981; Rodríguez-Moreno y Tarazona, 1994).

Evaluación de la conducta, de la respuesta al alimento y de la ganancia de peso

Contrario a lo reportado en otros estudios, los ejemplares que manifestaron el efecto agudo de la exposición al NO_2 , no se mostraron letárgicos ni se ubicaron en el fondo del acuario. La letargia en la nitritotoxicosis ha sido explicada en varias especies piscícolas como un mecanismo de ajuste en el gasto de energía. El pez disminuye considerablemente la tasa metabólica ante la pobre oxigenación tisular debida al estado de metahemoglobinemia. Incluso en peces gato (*Ictalurus punctatus*) expuestos a NO_2 y que han sobrevivido por 2 días en aguas a 25 °C se han detectado valores de 100% de metahemoglobinemia (Tomasso *et al.*, 1979). En estos casos, los peces sobreviven utilizando el oxígeno disuelto en el plasma (5-7% del total de oxígeno en la sangre) que les permite mantener un metabolismo basal. En este estudio, los peces expuestos a las mayores concentraciones exhibieron un nado frenético hacia la superficie antes de morir. Un proceso de tipo anóxico de nivel central podría explicar estas respuestas agudas. Adicional al patrón de nado anormal, fue notoria una mayor excitabilidad de los ejemplares expuestos a las mayores concentraciones de NO_2 (movimientos no modulados y respuestas motoras exacerbadas ante estímulos menores).

La alta mortalidad de los dos grupos de bocachicos expuestos a las mayores concentraciones de nitritos (88% en 13,3 ppm N- NO_2 y 100% en 22,3 ppm N- NO_2) sugieren una mayor susceptibilidad del bocachico a la exposición aguda al nitrito que la mostrada por la cachama blanca (*Piaractus brachyomus*). En un estudio previo realizado por nuestro grupo de investigación, juveniles de cachama blanca tuvieron mortalidades del 7, 27 y 33% cuando fueron expuestas durante 96 h a 35, 50 y 65 ppm de N- NO_2 , respecti-

vamente (Ochoa *et al.*, 2002). Es decir, el bocachico mostró en este estudio mayores mortalidades cuando fue expuesto a concentraciones menores que las que fueron estudiadas en la cachama blanca.

La mayoría de estudios que evalúan los efectos del NO₂ en el consumo de alimento y ganancia de peso han sido desarrollados para exposiciones subcrónicas o crónicas (más de 45 días). En estudios de exposición aguda como el presente se ha reconocido que los individuos que sufren la acción aguda del NO₂ disminuyen el consumo de alimento. El individuo expuesto a un agente estresante de esta naturaleza (efectos hipóxicos) muestra una hiperventilación a nivel branquial, lo que favorece que la energía y el oxígeno obtenido privilegien el metabolismo basal por encima de actividades como la digestión y la asimilación de nutrientes. En estudios hechos previamente por nuestro grupo (Ceballos *et al.*, 2001), juveniles de bocachico que fueron expuestos a dos concentraciones subletales (0,5 y 2,0 ppm de N-NO₂) durante 45 días mostraron una reducción significativa sobre la biomasa total durante los primeros 15 días de exposición, posiblemente asociada con un menor consumo de alimento. Sin embargo, para el segundo y tercer tercio del periodo experimental, el grupo expuesto a la menor concentración (0,5 ppm de N-NO₂) presentó valores no significativamente diferentes a los del grupo control (no expuesto a NO₂), lo que sugiere una adaptación a esta concentración subletal. La biomasa total y la ganancia de longitud estándar en los peces expuestos a 2,0 ppm de N-NO₂ fueron significativamente menores que las de los controles para los 45 días de periodo experimental. En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre los pesos de los peces expuestos a los tratamientos experimentales antes o después de la exposición al NO₂. El periodo expe-

perimental de 96 h no fue aparentemente suficiente para demostrar posibles efectos en esta variable.

CONCLUSIONES

- La exposición aguda a nitrito realizada en este estudio mostró al bocachico como una especie más susceptible que otras especies comerciales importantes en el medio (como la tilapia y la cachama blanca). También se apreció una mayor resistencia de esta especie en comparación con lo reportado para la trucha arco iris y otros salmónidos.
- Varios de los ejemplares que murieron antes de las 96 h del periodo experimental manifestaron síntomas de excitación nerviosa, contrario a lo visto en otras especies, en las que el estrés respiratorio es el resultado más característico en la exposición aguda. Otros estudios relacionados con la exposición a NO₂ podrían servir para determinar si hay una particular susceptibilidad del sistema nervioso por el efecto hipóxico de los nitritos que pudiera explicar en mejor forma este hallazgo.
- La susceptibilidad del bocachico al NO₂ mostrada en este trabajo puede tener implicaciones importantes cuando se trate de validar sus efectos en sistemas de policultivo. Dado que esta especie se puede cultivar junto con otras en el mismo estanque o sistema de explotación (policultivos), es importante considerar su respuesta particular en comparación con las otras especies que pudieran ser más resistentes o susceptibles a una concentración determinada de NO₂ en las aguas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a Sergio Ceballos y Omar Pinzón, zootecnistas de la Universidad Nacional de Co-

lombia, por el mantenimiento de los peces durante el periodo pre-experimental. Así mismo, a Marcela Suárez, médico veterinario de la Universidad Nacional de Colombia, por su apoyo en la transcripción y revisión de este manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

1. APHA (American Public Health Association). Standard Methods for the Determination of Water and Wastewater. 13th Ed. Washington, D.C., 1967.
2. APHA (American Public Health Association). Standard Methods for the Determination of Water and Wastewater. 17th Ed. Washington, D.C., 1989.
3. APHA (American Public Health Association). Standard Methods for the Determination of Water and Wastewater. 18th Ed. Washington, D.C., 1992.
4. Ceballos S, Pinzón O y González JF. Efecto de dos concentraciones de nitrito sobre el crecimiento y sobrevivencia en alevinos de bocachico (*Prochilodus magdalenae*). Rev Med Vet Zoot, Universidad Nacional de Colombia 48:11-15, 2001.
5. Fontenot QC, Isely JJ and Tomasso JR. Characterization and inhibition of nitrite uptake in shortnose sturgeon fingerlings. J Aquatic Anim Health 11: 76-80, 1999.
6. Huey DW and Beitinger TL. A methemoglobine reductase system in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Can J Zool 60: 1511-1513, 1981.
7. INPA. Boletín Estadístico Pesquero. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Bogotá, Colombia, 1998.
8. Jensen FB. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comp Biochem Physiol, 135A:9-24, 2003.
9. Mojica JI, Castellanos C, Usma S y Álvarez R (Eds). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. La serie libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá, Colombia, 2002.
10. Noga EJ. Fish Disease: diagnosis and treatment. Mosby, St. Louis, Missouri, pp. 66-68, 1996.
11. Ochoa DM, Peña LC and González JF. Waterborne nitrite exposure on white cachama (*Piaractus brachypomus*). Dahlia 5:27-31, 2002.
12. Reimschuessel R. Post mortem examination. In: Stoskopf M (Ed), Fish Medicine, Saunders, Philadelphia, pp. 160-165, 1993.
13. Rodríguez-Moreno PA and Tarazona JV. Nitrite-induced methemoglobin formation and recovery in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at high chloride concentrations. Bull Environ Contam Toxicol 53: 113-119, 1994.
14. Tomasso JR, Sico BA and Davis KB. Chloride inhibition of nitrite-induced methemoglobinemia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J Fish Res Board Can 36:1141-1144, 1979.
15. Urrutia ML and Tomasso JR. Acclimation of channel catfish to environmental nitrite. J World Aqua Soc 18: 175-179, 1987.
16. Valderrama M, Petrere M, Zárate M y Uribe G. Parámetros poblacionales (mortalidad y rendimiento máximo sostenible) y estado de explotación del bocachico *Prochilodus magdalenae* del bajo Magdalena, Colombia. Bol Cient INPA 1:43-60, 1993.
17. Watenpaugh DE and Beitinger TL. Resistance of nitrite-exposed channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to hypoxia. Bull Environ Contam Toxicol 37:802-807, 1986.
18. Wedemeyer GA and Yasutake WT. Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Res Board Can 35:822-827, 1978.