

TOLERANCIA DE JUVENILES DE *LISA MUGIL CUREMA*. V. (*PISCES MUGILIDAE*) AL PETRÓLEO Y/O DISPERSANTE Y SU EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LACTATO DESHIDROGENASA EN PLASMA E HÍGADO

G. R. GÓMEZ, B. PARRA, M. F. HUQ, I. RAMÍREZ & W. ZURBURG

Instituto Oceanográfico, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela

RESUMEN: Se investigó el efecto de exposición de cuatro tóxicos en lisas juveniles, *Mugil curema*: petróleo, dispersante, mezcla petróleo/dispersante y sodio dodecil sulfato (SDS). Este último se utilizó como tóxico de referencia para valorar la susceptibilidad de la especie. En cada caso se determinó la concentración letal media (CL_{50}) para un período de 96 horas y el efecto de exposición a concentraciones subletales sobre la actividad de lactato deshidrogenasa en plasma e hígado. Las CL_{50} estimadas fueron para petróleo: 230 ppm, dispersante: 168 ppm, mezcla petróleo/dispersante: 41 ppm y SDS: 2,12 ppm. Fue notable el efecto agudamente tóxico que tuvo la mezcla más que sus componentes por separados. En cuanto a la actividad enzimática sólo se determinó LDH debido a la poca cantidad de sangre obtenida y a la baja actividad de otras enzimas indicadoras de stress. Se incrementó la actividad de LDH en el plasma de los peces expuestos a petróleo y/o dispersante con respecto a sus controles, significativamente para el dispersante. Por el contrario, en el hígado hubo tendencia a la disminución, aunque no significativa.

ABSTRACT: The effects of exposure to a crude oil, an oil dispersant, oil/dispersant mixture and dodecyl sodium sulphate (DSS) were investigated in juvenile individuals of *Mugil curema*. DSS was utilized as reference to know the sensitivity of the species. The mean lethal concentration (LC_{50}) and the effects of exposure to sublethal concentrations on the lactate dehydrogenase activity in plasma and liver were determined during periods of 96 hours. The LC_{50} for crude oil, oil dispersant, mixture of both and DSS were 230, 168, 41 and 2.12 ppm respectively. The mixture was more toxic than its respective components. Concerning activities of enzymes that can be indicators of stress, only LDH activity could be determined, due to the small quantity of blood obtained from juvenile fish and the low activity of other enzymes. Plasma LDH activity increased after exposure to oil and/or dispersant with respect to the control groups, significantly only for the dispersant. Liver LDH activity decreased in the experimental groups, although not significantly.

INTRODUCCION

La zona nororiental de Venezuela representa el área de mayor importancia pesquera del país. Las capturas registradas en el año 1970 alcanzaron a 1.324 T (60% de la producción nacional). Esta zona se extiende desde los 61° 50' hasta el meridiano 65° 20', incluyendo un área de plataforma de 60 millas de ancho que va desde el Delta del Orinoco hasta el Oeste de la Isla de Margarita. Las compañías petroleras actualmente están realizando en esta área perforaciones de pozos exploratorios, los cuales no dejan de representar un peligro para la fauna marina y estuarina. Por tal

razón, la industria pesquera nacional estaría expuesta a un peligro potencial, haciéndose necesario el estudio de los posibles efectos que el petróleo puede provocar en los peces.

Debido a la urgente necesidad de establecer normas para el control de la contaminación de cuerpos de aguas, se han incrementado los estudios acerca de métodos de laboratorio que permitan medir los niveles letales y subletales de algunos residuos industriales en peces. Estos principios se basan en métodos de bioensayos, los cuales se han venido utilizando en la determinación de niveles de "seguridad" de los contaminantes,

predicción de efectos ambientales, regulación de descargas (American Public Health Association *et al.*, 1968). Las pruebas de bioensayos han servido como referencia para responder las innumerables preguntas acerca del impacto que sobre la biota pudieran tener los contaminantes (BUIKEMA *et al.*, 1982). Así las pruebas de bioensayos serán un aporte esencial en el desarrollo de estrategias preventivas en las cuales deberán enfocarse futuras investigaciones.

A pesar de los factores ambientales que pueden variar la toxicidad de los contaminantes al entrar al medio marino, la información generada por las pruebas de bioensayo pueden aprovecharse para predecir efectos ambientales sin causar daños a los ecosistemas, cuantificar la agudeza tóxica de diferentes dispersantes petroleros, evaluar la sensibilidad de especies comerciales, etc. Por esto urge la necesidad de brindar información sólida y científica para estimular criterios oficiales sobre la calidad del agua, tal como se está haciendo en los E.U.A. y Europa (BUIKEMA *et al.*, 1982).

Se han publicado numerosos trabajos referentes a los efectos de derrames petroleros en ecosistemas marinos; sin embargo, existe poca información acerca de ecosistemas tropicales.

Los mayores efectos del petróleo han sido informados en larvas y juveniles de especies pelágicas. Según SMITH (1970) murieron más de 50% de las sardinas, *Sardinella pilchard*, próximas a los derrames del Torrey Canyon y además sus juveniles escasearon. Por otro lado, se atribuyeron mortalidades masivas de peces pelágicos a aquellos hidrocarburos del petróleo solubles en agua de mar (ANÓNIMO, 1977). CHAN (1977) estudió los efectos del petróleo en comunidades del litoral tropical de Florida (E.U.A.), observando que algunos peces exhibieron síntomas de stress. NADEAN & BERQUIST (1977) informaron los efectos de un derrame de petróleo venezolano en una comunidad marina tropical cerca de Cabo Rojo (Puerto Rico), observando la alta toxicidad del crudo a pesar de ser bajo en elementos aromáticos.

TEMPLETON *et al.*, (1975) realizaron estudios sobre la contaminación petrolera en el Lago de Maracaibo, determinando el contenido de hidrocarburos en los tejidos de los peces. Estudios recientes sobre la tolerancia de la lisa, *Mugil curema*, a ciertos petróleos venezolanos han demostrado que los crudos livianos son más

tóxicos que los medianos y pesados (AQUILERA & HUQ, 1982).

Para estudiar los efectos a corto plazo de concentraciones subletales de los contaminantes sobre la ictiofauna, se ha demostrado la utilidad de la medición de la actividad enzimática en el plasma sanguíneo (GAUDET *et al.*, 1975; RACICOT *et al.*, 1975; WEBER *et al.*, 1979). La actividad de ciertas enzimas en el plasma refleja el estado metabólico de los peces, en muchos casos de modo similar a lo que sucede en los mamíferos. De esta manera, puede esperarse que agentes o factores tóxicos que conducen al deterioro crónico del metabolismo del animal, produzcan cambios tales como incrementos en la actividad de ciertas enzimas en el plasma (WIESER & HINTERLEITNER, 1980). CASILLAS *et al.*, (1982) comprobaron que ciertas enzimas en el plasma son indicadoras del funcionamiento del hígado.

En este trabajo se utilizaron juveniles de la lisa, *Mugil curema* V. Se escogió esta especie debido a que constituye un eslabón importante de la cadena trófica la cual conduce al hombre. Se consume tanto en fresco como en salado, es muy resistente y fácil de manipular y existe suficiente información de su descripción, ecología y fisiología. Por último es muy abundante en los mares venezolanos, formando grandes cardúmenes de juveniles cerca de la costa.

Los objetivos del presente trabajo fueron los siguientes:

1. La determinación de las concentraciones letales y subletales de cuatro contaminantes en lisas juveniles: un petróleo liviano, un dispersante, la mezcla petróleo-dispersante y sodio dodecil sulfato (SDS). Este último se utilizó como tóxico de referencia, para valorar la susceptibilidad de la especie. Se determinó la concentración letal media (CL_{50}) para un período de exposición de 96 horas.
2. El estudio del efecto de exposición a concentraciones subletales de cada contaminante sobre la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en el plasma como indicador de "stress" y la actividad de la misma en el hígado.

MATERIALES Y METODOS

Se recolectaron juveniles de lisas, *Mugil curema*, entre 8 y 12 cm de longitud estandar mediante un

chinchorro de playa de 30×3 m y malla de $1/4$ de pulgada, en la Laguna Grande del Obispo (Golfo de Cariaco, Edo. Sucre, Venezuela). Luego fueron transportadas vivas al laboratorio en cavas de anime y aclimatadas a condiciones similares (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y fotoperíodo). Después de tres días de aclimatación se iniciaron los bioensayos en acuarios de 25 l durante un período de 96 horas, debido a que la acción letal aguda cesa después de este período (American Public Health Association, 1968; SPRAGUE, 1969).

Se utilizó como más simple y útil criterio de toxicidad la CL_{50} (concentración letal para un 50% de los individuos sometidos durante 96 horas al contaminante).

Tanto en el campo como en el laboratorio se midieron la salinidad, temperatura y oxígeno disuelto, empleando un refractómetro Goldberg T/S (American Optical Instruments Co.), un termómetro Thomas y un oxígenoímetro de campo (YellowSpring Co.), respectivamente.

Tanto el agua de aclimatación como la del bioensayo fue preparada sintéticamente a partir de agua de chorro filtrada (Filtros Fanafil C.A.), deionizada (Ionxchanger model 2, IWT), salinizada a 36‰ (Instant Ocean, Aquarium Systems), mantenida a 24°C y aireada hasta saturación (concentración de oxígeno = 6 ppm). El agua de aclimatación fue filtrada cada 24 h mediante filtros de diatomeas (Diatom Filters, Universal Electric Co.).

En cada acuario se mantuvo una relación aproximada de 2 g de peso de pez/l de agua (NEGLISKI, 1975), para un total de 6 peces por acuario. Cada acuario se dotó de: una manguera de aireación acoplada a una piedra porosa, un sistema de agitación suave (aparato ventilador acoplado al molinillo de una superbatidora doméstica protegida con rejilla plástica) con el fin de mantener homogéneamente distribuido el contaminante en toda la columna de agua.

De cada una de las concentraciones de petróleo, dispersante, mezcla petróleo/dispersante (1:1, v/v) y SDS se hicieron seis réplicas para luego obtener promedios. Igualmente, hubo un número similar de controles (sin contaminante). Más de un 17% (un pez) de muertes en los controles fue suficiente para eliminar la prueba y efectuar ajustes.

Durante el período de bioensayos se escogieron horas de observación en forma logarítmica para retirar

los peces muertos. La CL_{50} se obtuvo por interpolación gráfica en papel log-probita (BUKEMA *et al.*, 1982).

La actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en plasma e hígado fue determinada según BERGMAYER *et al.*, (1974), en peces sometidos a concentraciones subletales de los contaminantes.

Preparación de las muestras: finalizadas las 96 h de exposición a los contaminantes, se extrajo aproximadamente 1 ml de sangre por punción caudal con jeringa heparinizada. La sangre se mantuvo en baño de hielo por 10 min. Luego se centrifugó a 1.000 g a 4°C por 10 min en centrífuga refrigerada (CRU-5.000, Damon/IEC Div.). Posteriormente se tomó el sobrenadante (plasma) y se mantuvo en baño de hielo.

En cuanto al hígado, las muestras fueron pesadas y homogeneizadas en frío con un buffer de extracción: 100 mM Tris-HCl (2 mM EDTA, 1 mM ditiotritol) a pH 7,5. El homogeneizado se centrifugó por 15 min a 4°C . Luego el sobrenadante se mantuvo en baño de hielo, hasta el momento del análisis.

Las determinaciones se realizaron en un espectrofotómetro Beckman 25, con registrador gráfico acoplado siguiendo los cambios en absorbencia de NADH (nicotinamida adenina dinucleótido reducido) a 366 nm según BERGMAYER *et al.* (1974).

Siguiendo los trabajos de D'APOLLONIA & ANDERSON (1980) y CASILLAS *et al.*, (1982), se establecieron las mejores condiciones para la determinación de la actividad, en cuanto a pH, concentración de sustrato y cofactor. La única modificación del método de BERGMAYER *et al.*, (1974) fue un cambio de pH de 7,5 a 7,0.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para un período de 96 h de exposición las concentraciones letales medias (CL_{50}) estimadas a partir de gráficas log-probita fueron de 230, 180, 41 y 2,12 ppm para petróleo, dispersante, mezcla petróleo-dispersante y SDS respectivamente (Tabla I).

Es notable el efecto letal agudo que tuvo la mezcla más que sus componentes por separados: 6 veces superior al petróleo y 4 veces superior al dispersante, aproximadamente. El dispersante reacciona agudamente en comparación con el petróleo. Esto sucede debido a

que el petróleo tiene que disociarse en el agua antes de que adquiera toxicidad a diferencia del dispersante, el cual es tóxico al contacto. Cuando el petróleo se pone en contacto con el agua, las materias alquitranosas se aglutinan y forman pequeñas masas esferoidales, mientras que las aceitosas se extienden sobre la superficie del agua formando una película uniforme. Esto se evitó parcialmente mediante agitación y aireación suave. En la mezcla, las fracciones ligeras y medias del petróleo las cuales contienen entre otros: azufre, fenoles y compuestos aromáticos (benceno, tolueno, naftaleno) se disuelven en el agua rápidamente inducido por la acción del dispersante. La toxicidad del crudo se ha asociado a la cantidad de compuestos aromáticos que contienen (ANÓNIMO, 1977).

TABLA I. CONCENTRACION LETAL MEDIA (CL_{50}) A LAS 96 H DEL PETRÓLEO, DISPERSANTE, MEZCLA PETRÓLEO-DISPERSANTE (1:1) Y SDS, EN JUVENILES DE *M. CUREMA*

Contaminante	CL_{50} (ppm)
Petróleo	230
Dispersante	168
Petróleo-dispersante (1:1)	41
SDS	2,12

El tóxico de referencia (SDS) mostró la más grande letalidad. Su toxicidad superó al petróleo, dispersante y mezcla de ambos en aproximadamente 100, 80 y 20 veces respectivamente. En un estudio similar realizado por QUEVEDO *et al.*, (1984) en juveniles de corocoro, *Orthopristis ruber*, se encontró que esa especie era más resistente al petróleo y la mezcla (proporción 7:3): CL_{50} = 680 y 72 ppm, respectivamente, que juveniles de lisa, pero menos resistente al SDS: CL_{50} = 1,5 ppm. Esta aparente contradicción puede explicarse por el hábito pelágico de la lisa y el bentónico del corocoro. Es muy probable que la lisa haya estado más expuesta a las fracciones insolubles del petróleo a nivel superficial que el corocoro de hábito cercano del fondo. El hábito alimenticio filtrador de la lisa frente al carnívoro del corocoro también debe tomarse en cuenta. Sin embargo, en el dispersante, el cual se distribuyó uniformemente en la columna de agua, se observaron resistencias semejantes (CL_{50} lisa = 180 ppm y CL_{50} corocoro = 172 ppm).

Ambas especies son más sensibles para el SDS que la especie utilizada por LAROCHE *et al.*, (1970), *Fundulus heteroclitus*, la cual mostró una CL_{50} de 4,5 ppm en comparación con los valores de 2,12 y 1,5 ppm para la lisa y el corocoro respectivamente. Una posible razón es que se utilizaron juveniles en este estudio, los cuales probablemente son más sensibles que adultos a factores adversos.

Así como concluyeron QUEVEDO *et al.*, (1984) en el presente trabajo la toxicidad del petróleo (de tipo liviano) parece ser bastante elevada en comparación con otros estudios, probablemente por un alto contenido en compuestos aromáticos.

La Tabla II muestra la actividad de lactato deshidrogenasa (LDH) en plasma e hígado de la lisa expuesta a concentraciones subletales de los contaminantes. Si comparamos los controles de ambos tejidos, podemos observar que el hígado representa aparentemente una mayor fuente de actividad de LDH, conteniendo más del doble de actividad del plasma, cuando la expresamos en unidades por g de peso fresco y por ml, respectivamente.

TABLA II. ACTIVIDAD DE LDH EN PLASMA E HÍGADO (U/ml Y U/g PESO FRESCO)* DE JUVENILES DE *M. CUREMA* EXPUESTAS A CONCENTRACIONES SUBLETALES DE PETRÓLEO, DISPERSANTE Y MEZCLA PETRÓLEO-DISPERSANTE. SE INCLUYEN LOS CONTROLES

Contaminante	Plasma (U/ml)	Hígado (U/g peso fr.)
Control (0 ppm)	6,55 ± 0,49 (14)	14,13 ± 1,25 (14)
Petróleo (180 ppm)	7,75 ± 0,30 (5)	11,98 ± 1,11 (5)
Petróleo-dispersante (24 ppm)	9,11 ± 1,08 (8)	10,77 ± 0,64 (6)
Dispersante (100 ppm)	18,04 ± 3,64 (8)	15,72 ± 1,32 (6)

* $\bar{X} \pm S_x$ (n)

El efecto ocasionado por concentraciones subletales de los contaminantes en el plasma se traduce por una cierta tendencia al incremento de la actividad de LDH. Por el contrario, en el hígado la tendencia es disminuir a excepción del grupo sometido al dispersante. Ambos tejidos guardan una relación inversa, es decir: a me-

didada que aumenta la actividad en el plasma, ésta disminuye en el hígado.

Sin embargo, en el plasma de las lisas expuestas a petróleo por sí solo o mezclado, no se encontraron diferencias significativas con respecto al control. El dispersante, por el contrario, provocó un aumento significativo de la actividad de LDH.

Los efectos de los contaminantes sobre la actividad de esta enzima en el hígado no fueron significativos. (Tabla II).

En la Tabla II se observa que al parecer LDH obedece a la presencia del dispersante aun a concentraciones subletales (135 ppm). Los dispersantes son, por lo general, productos a base de detergentes, los cuales se utilizan para eliminar la evidencia visible de los derrames de petróleo. El dispersante utilizado en este estudio, Dasic Slickgone, tiene como constituyentes principales: ésteres de poliglicol, ésteres de sorbitol, glicol dialquileño y agua. Se conoce que los detergentes disuelven las membranas celulares de ciertos tejidos provocando así una necrosis masiva.

Si bien es cierto que el plasma representa una fuente de menor actividad para LDH, también es cierto que en este tejido los contaminantes ejercen cierta tendencia de aumentar dicha actividad, principalmente el dispersante. Por el contrario, la actividad en el hígado de los peces contaminados, tiende a disminuir o se mantiene sin diferencias significativas. Estos resultados respaldan el hecho de que los contaminantes, principalmente el dispersante, ocasionan una necrosis masiva en los tejidos expuestos directamente, lo cual se traduce en un aumento significativo de la actividad de LDH en el plasma. D'APOLLONIA & ANDERSON (1980) encontraron que la necrosis masiva de los músculos de *Salmo gairdneri* reflejaba un aumento considerable de la actividad de glutamato piruvato transaminasa (GPT) en el suero. WIESER & HINTERLEITNER (1980) probaron esta hipótesis midiendo las actividades de dos transaminasas: GPT y GOT (glutamato oxaloacetato transaminasa) en el suero de *S. gairdneri*, encontrándose en un ambiente contaminado por amonio. Los niveles excesivamente altos de GOT y GPT indicaron cambios en el metabolismo del pez, los cuales podían servir como "herramienta" en el diagnóstico de la calidad del agua. GINGERICH (1982) encontró que a largo plazo, los detergentes ocasionaban lesiones fisiológicas aún en

concentraciones subletales, las cuales tienen que ver con una respuesta hepatotóxica.

La mayoría de los efectos patológicos en peces expuestos a agentes tóxicos han sido daños a nivel del tejido hepático. GINGERICH (1982) mencionó que la principal característica de esta respuesta incluye vacuolización de las células parenquimáticas y frecuentes cambios degenerativos de los hepatocitos los cuales se manifestaban como focos o zonas de necrosis. GAUDET *et al.*, (1975) probaron que altos niveles de GPT y GDH (glutamato deshidrogenasa) en el plasma de *S. gairdneri* parecían estar relacionados con el funcionamiento del hígado como en vertebrados superiores. CASILLAS *et al.*, (1982) al estudiar el pez marino *Parophrys vetulus* llegaron a las mismas conclusiones al asegurar que como en mamíferos el uso de la actividad enzimática serológica sirve como indicador del funcionamiento del hígado y del riñón.

Es obvio que el hígado de los peces juega un papel importante en el proceso de biotransformación y eliminación de compuestos xenobióticos.

Aunque la aplicabilidad de las determinaciones de actividad enzimática en organismos acuáticos para evaluar la toxicidad de medios ambientes contaminados aún está en progreso, se puede adelantar que los daños ocasionados a nivel subletal en plasma e hígado de juveniles de *M. curema* se reflejan en el plasma como una respuesta hepatotóxica a un ambiente contaminado.

REFERENCIAS

- AGUILERA, A. M. & M. F. HUQ. 1982. Tolerancia de la lisa, *Mugil curema* V. (Pisces: Mugilidae) a varios niveles de crudos venezolanos. *Bol. Inst. Oceanogr. UDO* 21: (en prensa).
- American Public Health Association (APHA), American Waste Water Association (AWWA) and Water Pollution Control Federation (WPCF) (1968). Métodos estándar para el examen de aguas de desecho. Interamericana S. A., México, pp. 448-459.
- ANÓNIMO. 1977. Impact of oil on the marine environment. IMC; FAO; UNESCO, WMO; AEA; UN; joint group of experts on the scientific aspects of marine pollution. *Reports & studies* FAO. 6: 22-28.
- BERGMEYER, H. U., E. BERNT & B. HESS. 1974. Lactic dehydrogenase. En: *Methods of enzymatic analysis* (Ed. H. U. BERGMEYER), pp. 574-579. Academic Press, New York.

- BUICKEMA, A. L., B. R. NIEDERLEHNER & J. CAIRNS JR. 1982. Biological monitoring. Part IV. Toxicity testing. *Water Res.* 15: 239-262.
- CASILLAS, E., J. SUNDQUIST & W.E. AMES. 1982. Optimization of assay conditions for, and the selected tissue distribution of alanine aminotransferase of English sole, *Parophrys vetulus* Girard. *J. Fish Biol.* 21: 197-204.
- CHAN, E. I. 1977. Oil pollution and tropical littoral communities. Biological effects of 1975 Florida Keys oil spill. 1977 Oil Spill Conference., pp. 539-542.
- D'APOLLONIA, S & P. D. ANDERSON. 1980. Optimal assay conditions for serum and liver glutamate oxaloacetate transaminase, glutamate pyruvate transaminase and sorbitol dehydrogenase from the rainbow trout, *Salmo gairdneri* R. *J. Fish Biol.* 7: 505-512.
- GINGERICH, W. H. 1982. Hepatic toxicology of fishes. *Aquat. Toxicol.* 1: 55-105.
- LAROCHE, G., R. EISLER & C. M. TARZWELL. 1970. Bioassay procedures for oil and oil dispersant toxicity evaluation. *J. Water Poll. Contr. Fed.* 42: 1982-1989.
- NADEAN, R. J. & E. T. BERQUIST. 1977. Effects of the March, 18 1973 oil spill near Cabo Rojo, Puerto Rico, on tropical marine communities. 1977 Oil Spill Conference., pp. 535-538.
- NEGLISKI, D. 1975. Fundamentals of aquatic bioassays. *Proc. Roy. Chem. Inst.*, pp. 50-54.
- QUEVEDO, J., J. SEGOVIA, J.E. PÉREZ & W. ZURBURG. 1984. Efectos del petróleo y algunos dispersantes en juveniles del corocoro, *Orthopristis ruber* (Pisces: pomacanthidae). *Bol. Inst. Oceanogr. UDO.* 22: (en prensa)
- RACICOT, J. C., M. GAUDET & C. LERAY. 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) with emphasis in their diagnostic use: study of CCI toxicity and a case of *Aeromonas* infection *J. Fish Biol.* 7: 825-835.
- SMITH, J. E. 1970. *Torrey Canyon, pollution and marine life.* Cambridge University Press. pp. 110-111.
- SPRAGUE, J. B. 1969. Measurement of pollutant toxicity to fish. I. Bioassay methods for acute toxicity. *Water Res.* 3: 793-821.
- TEMPLETON, W. L., E. A. SUTTON, R. M. BEAN, R. C. ARNETT, J.W. BLAYLOCK, R.E. WILDUNG & H.J. MOORE. 1975. Oil pollution studies on Lake Maracaibo, Venezuela, 1975. *Conference on prevention and control of oil pollution.* pp. 489-496.
- WEBER, L. J., W. H. GINGERICH & K. F. PFEIFER. 1979. Alterations in rainbow trout liver function and body fluids following treatment with carbon tetrachloride and monochloride benzene. *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* 99: 401-413.
- WIESER, W. & S. HINTERLEITNER. 1980. Serum enzymes in rainbow trout as tools in the diagnosis of water quality. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 15: 188-193.

(Manuscrito recibido en diciembre de 1983).