Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente 36 (1&2): 53-59 (1997); 3 Tabs.

DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES Y TIEMPOS LETALES DE TRES AGENTES QUÍMICOS EN JUVENILES DE *ARCHOSARGUS RHOMBOIDALIS*

José Luis Fuentes Zambrano[1] & Ana Cecilia Gómez Villalobos[2]

[1]*Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, Universidad de Oriente, Isla de Margarita, Venezuela.*

[2]*M.S.A.S., Malariología y Saneamiento Ambiental, Zona 21, Isla de Margarita, Venezuela.*

RESUMEN: Se determinaron las concentraciones letales (CL1, CL50 y CL99) y los tiempos letales (TL1, TL50 y TL99) de los agentes químicos formol, agua oxigenada y cloruro de sodio en juveniles de cagalona, *Archosargus rhomboidalis*. Para ello se utilizaron acuarios de 20 l (original, réplica y control), a cada uno de ellos se les introdujeron 10 juveniles de cagalona entre 4 a 10 cm de longitud total. Se estableció un tiempo máximo de 96 h para cada una de las experiencias. El cálculo de las concentraciones letales se realizó sobre la base de los logaritmos de las concentraciones iniciales calculadas de cada tóxico, utilizándose el método de análisis Probit. Se determinó para cada químico las siguientes concentraciones y tiempos letales: formalina CL1 (original) = 15,48 ‰, (réplica) = 15,23 ‰; CL50 (original) = 61,48 ‰, (réplica) = 59,98 ‰; CL99 (original) = 239,01 ‰, (réplica)= 236,21 ‰, y los TL, dependientes de las concentraciones utilizadas tanto para los originales como para las réplicas, variaron entre 0,84 h a 96,05 h; agua oxigenada CL (original) = 7,04 ml/l, (réplica) = 5,97 ml/l; CL50 (original) = 17,82 ml/l, (réplica)= 15,32 ml/l y CL99 (original)= 45,09 ml/l, (réplica)= 39,53 ml/l; los TL variaron entre 0,37 y 1,26 h; cloruro de sodio CL1 (original)= 49,06 ‰, (réplica)= 46,91 ‰; CL50 (original)= 61,03 ‰, (réplica)= 64,81 ‰; CL99 (original) = 75,92 ‰, (réplica) = 79,39 ‰; los TL variaron entre 0,15 y 48,48 h. La tendencia observada en los valores de TL fue inversamente proporcional a los valores de concentración de los tres elementos químicos utilizados

ABSTRACT: We used formalin, peroxide and sodium chloride on juveniles of seabream, *Archosargus rhomboidalis*, taken from the La Restinga lagoon (Margarita Island, Venezuela), in order to determine lethal concentrations (LC1, LC50 and LC99) and lethal times (LT1, LT50 and LT99). For this purpose we used 18 20-liter aquaria (original, replica and control), in each of which 10 fishes ranging between 4 and 10 cm in length were placed. Experimental time never exceeded 96 hours. We calculated lethal concentrations on the logarithmic basis of the initial concentrations calculated for each toxic, by means of the Probit analysis method. The following lethal concentrations and lethal times were determined for each toxic: formalin: LC1 (original) = 15.48‰, (replica) = 15.23‰; LC50 (original) = 61.48‰. (replica) = 59.98‰; LC99 (original), = 239.01‰ (replica) = 236.21‰. LTs varied, according to the concentrations used for both the originals and the replicas, between 0.84 h and 96.05 h. Peroxide: LC1 (original) = 7.04 ml/l, (replica) = 5.97ml/l; LC50 (original) = 17.82 ml/l, (replica) = 15.32 ml/l; LC99 (original) = 45.09 ml/l; (replica) = 39.53 ml/l. LTs varied between 0.37 h and 1.26 h. Sodium chloride: LC1 (original) 49,06‰, (replica) = 46.91‰; LC50 (original) = 61.03‰, (replica) = 64.81‰. LC99 (original) = 75.92‰, (replica) = 79.39‰. LTs varied between 0.15 h and 48.48 h. The tendency observed in LT values was inversely proportional to the concentration values for the three chemical elements.

INTRODUCCIÓN

Algunos agentes químicos son utilizados en acuicultura, para la prevención y terapia de estados patológicos de los organismos cultivados. Sin embargo, estos pueden llegar a causar efectos indeseables en los animales sometidos a tratamiento. Los efectos pueden ser estudiados por medio de ensayos de toxicidad, a través de los cuales es posible estimar la potencia o toxicidad que posee una sustancia.

Los ensayos estáticos de toxicidad aguda dependientes del tiempo son los más utilizados y consiste en colocar a los organismos en cámaras de ensayo que contienen la solución prueba durante el transcurso del experimento (Ward & Parrish, 1982). Por medio de esta prueba, es posible determinar las concentraciones requeridas para producir la respuesta letal, en cualquier porcentaje de la población experimental, durante un tiempo de exposición suficientemente largo como para que la acción letal aguda cese (Sprague, 1970; Finney, 1971).

Por razones de interés práctico, convencionalmente es posible determinar, a través de los ensayos de toxicidad aguda, las concentraciones letales mínima, mediana y máxima (CL1, CL50 y CL99) en un período de tiempo de 96 h (Sprague, 1969).

De la misma manera, pueden determinarse los tiempos de letalidad mínima, mediana y máxima (TL1, TL50 y TL99) en los cuales, para determinadas concentraciones de material tóxico, se produce la respuesta letal en el 1, 50 y 99 % de la población sometida a experimentación (SPRAGUE, 1971).

La cagalona o sargo amarillo, *Archosargus rhomboidalis* (Familia: Sparidae), es abundante en Venezuela durante todo el año a lo largo de casi toda sus áreas costeras, tanto insulares como continentales (CERVIGÓN, 1993). Posee valor comercial pues es utilizada para el consumo humano.

En el Núcleo de Nueva Esparta de la Universidad de Oriente se han desarrollado estudios relacionados con la nutrición y reproducción de la especie (GONZÁLEZ, 1976; VALDIVIEZO, 1981), además de haberse realizado ensayos para el cultivo por GÓMEZ & LÁREZ (1985) y DÍAZ (1988).

La determinación de las concentraciones y tiempos letales de agentes químicos comunes en especies cultivables, es de suma importancia y ha de ser considerado como una disciplina de interés económico en la acuicultura.

El presente trabajo tiene como objetivos determinar las concentraciones letales y los tiempos letales de tres compuestos químicos en juveniles de *Archosargus rhomboidalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos de toxicidad fueron realizados en acuarios de 20 l de capacidad, provisto de aireación. Así mismo, fueron cubiertos con la finalidad de disminuir la evaporación y el estrés de los peces, estabilizar la temperatura y propiciar un equilibrio entre el aire y el agua contenido en el acuario, que evitase disminución de la concentración de aquellas sustancias químicas volátiles (WARD & PARRISH, 1982).

Diez peces fueron colocados en cada acuario para ser utilizados como ejemplares de prueba durante los ensayos, de manera que a cada gramo de pez le correspondió aproximadamente dos litros de agua de mar, según lo recomendado por WARD & PARRISH, (*op cit.*). Durante la realización de los ensayos a los peces no se les suministró alimento.

El agua de mar utilizada para llenar los acuarios fue tratada con luz ultravioleta, previo filtrado con arena y carbón activado. Se determino salinidad, temperatura, oxígeno disuelto y pH, para lo cual se empleó, respectivamente, un salinómetro-refractómetro American Optical (apreciación 2 %), un termómetro (apreciación 0,5 °C), un oxigenómetro YSI (apreciación 0,10 mg O_2/l) y un pHmetro marca HANNA, modelo HI 8314 (apreciación de 0,10 unidades).

Los compuestos químicos utilizados fueron: Formol comercial (HCHO 40%); Agua Oxigenada (H_2O_2 3%) y Cloruro de Sodio (NaCl).

Los bioensayos de toxicidad comprendieron dos etapas para cada uno de los agentes químicos. La primera consistió en delimitar el rango de concentración de cada compuesto, aquel que sería empleado en la determinación de las dosis letales, el cual debía cumplir con la condición de producir la respuesta seleccionada (mortalidad) en menos del 35% de los organismos expuestos a una concentración, en más del 65% en otra, según lo recomendado por WARD & PARRISH (1982). Para ello, a partir de las dosificaciones señaladas en la bibliografía como no tóxicas para otras especies de peces, se expuso a los ejemplares de *A. rhomboidalis* a cinco concentraciones diferentes en progresión geométrica, por cada agente químico, a manera de tanteo, en secuencia tal que la relación fuese siempre la misma y la razón el doble de la anterior.

Para los bioensayos definitivos,todas las pruebas llevaron una réplica y un control (a este último no se le añadió compuesto químico alguno). Estas pruebas permitieron determinar los tiempos letales de las concentraciones empleada de cada agente, en un período de tiempo de 96 h.

El cálculo de las CL1, CL50 y CL99 se realizó sobre la base de los logaritmos de las concentraciones iniciales calculadas (nominales) de cada tóxico, con la finalidad de normalizar la distribución de los datos y simplificar el análisis estadístico (FINNEY, 1971).

Se utilizó el método de BLISS o transformación Probit descrito por FINNEY (*op cit.*), el cual iterativamente normaliza la curva de relación concentración-mortalidad, permitiendo obtener las CL1, CL50 y CL99 con un nivel de significación de 95%.

Los TL1, TL50 y TL99 de las diferentes concentraciones utilizadas de cada uno de los agentes terapéuticos fueron calculados por interpolación (SPRAGUE, 1969).

Los coeficientes de regresión de los originales y réplicas, se obtuvieron por el método Probit, mediante la metodología escrita por BLISS (1952, en WIEDENHOFER, 1966) y adaptadas a ensayos con réplicas por WIEDENHOFER (*op. cit.*). No se justificó la comparación de los interceptos, ya que a través de las pruebas de control se comprobó que cuando no se añade compuesto químico no se produce mortalidad (X= 0 → Y= 0). Los valores de "a" obtenidos por el método Probit corresponden al resultado de un ajuste a una ecuación lineal.

La longitud total de los juveniles de *A. rhomboidalis* utilizados en los bioensayos de formalina estaba comprendida entre 4,3 cm y 10,0 cm y las concentraciones utilizadas de dicho agente químico fueron de 15, 36, 40, 52, 64, 80, 144 y 260 ‰.

Para el caso del ensayo definitivo de agua oxigenada, el rango de la longitud total de los ejemplares fue de 4,3 - 9,4 cm y las concentraciones empleadas fueron 20; 25; 30; 35; 40 ml/l.

El rango de la longitud total de los ejemplares utilizados durante el ensayo de cloruro de sodio fue de 4,5 a 9,7cm y las concentraciones empleadas fueron: 50; 55; 60; 65; 70 y 75 ‰.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los bioensayos del presente estudio fueron realizados bajo las siguientes condiciones físico-químicas: temperatura del agua 26 °C, salinidad 40 ‰, pH 8,0 y nivel de saturación de oxígeno por encima del 60 % .

FORMOL

La concentración letal mínima de formol después de transcurridas las 96 horas de ensayo para el original (CL1 96 h), fue de 15,48 ‰, con intervalo de confianza de 95% (IC_{95}) entre 13,93 - 32,92 ‰, y para la réplica 15,23 ‰, con un intervalo de confianza de 95% (IC_{95}) de 12,55 - 37,29 ‰. La concentración letal mediana de formol a las 96 horas (CL50 96h) se estimó en 61,4 ‰ (IC_{95}: 52,61 - 72,34 ‰) para el original, y 59,98 ‰ (IC_{95}: 49,89 - 77,48 ‰) para la réplica. La concentración letal máxima de formol a las 96 horas (CL99 96h) se determinó en 239 ‰ (IC_{95}: 111,02 - 284,46 ‰) para el original, y 236,21 ‰ para la réplica (IC_{95}: 120,30 - 314,49 ‰) [ver Tabla 1].

El análisis Probit de los resultados del ensayo definitivo de formol (original y réplica) muestran un valor mayor de probabilidad del estadístico de prueba "Chi cuadrado" (Test de alineación) para la réplica (Tabla 1). Este valor indica que la línea de regresión se ajusta para el 94 % de la población experimental. No se encontraron diferencias significativas (a= 0,05) entre el original y la réplica (Chi= 0,51).

TABLA 1. Análisis Probit de los bioensayos definitivos de formol, agua oxigenada y cloruro de sodio para CL1, CL50 y CL99 (original y réplica).

PARÁMETRO	FORMOL (‰)		AGUA OXIGENADA (ml/l)		CLORURO DE SODIO (‰)	
	Original	Réplica	Original	Réplica	Original	Réplica
CL1	15,48	15,23	7,04	5,97	49,06	46,91
CL50	61,48	59,98	17,82	15,32	61,03	61,81
CL99	239,01	236,21	45,90	39,50	75,92	79,39
b	2,03	1,62	2,54	3,24	10,98	8,39
a	–3,41	–1,69	–1,97	–4,17	–40,91	–30,19
Sb^2	0,16	0,18	0,53	0,44	4,44	3,23
X^2	0,42	0,44	0,39	0,22	1,91	1,78
p	0,93	0,94	0,53	0,64	0,38	0,41
gl	3	3	1	1	2	2

Los bajos porcentajes de mortalidad (<35%) observados para las menores concentraciones de formol (15; 36; 40 y 52 ‰), son atribuidos a que el formaldehído sufrió una reacción metabólica de conversión en vivo mediante una reacción oxidativa (BUHLER & WILLIAMS, 1988), convirtiéndose en un metabolito más polar y más fácilmente excretable como el ácido fórmico (MARTIN *et al.*, 1985).

Tal y como lo señalan FABRE *et al.* (1962) la tolerancia individual, los efectos inhibitorios de reacciones enzimáticas fundamentales y la acidosis, que tienden a provocar la biotransformación de este agente químico, podrían explicar la variación observada en las respuestas de los ejemplares a las de formol empleada durante el bioensayo definitivo.

Para las concentraciones menores del agente tóxico (15; 36; 40 y 52 ‰), la mortalidad comienza a ocurrir después de transcurrir las 26 horas iniciales del ensayo, es decir 16 horas después del TL1 de las concentraciones mayores anteriores. Es probable que los ejemplares sometidos a estas dosis menores, hayan sido capaces de metabolizar el xenobiótico durante este período de tiempo, luego, la bioacumulación del tóxico en las branquias, podría haber provocado la muerte de los peces.

El componente activo del formol, el aldehido fórmico, posee una acción irritante y hasta necrotizante, debido a su reacción con los grupos amino (-NH_2) de las materias proteínicas que coagula (MARTIN *et al.*, 1985). De esto pueden resultar los efectos inhibitorios de reacciones enzimáticas fundamentales, así como los cambios patológicos severos observados en el epitelio lamelobranquial de peces como *Salmo gairdneri* y *Oncorhynchus kitsutch*, tratados con 0,20 ml/l de formalina (WEDEMEYER, 1971). Estos cambios a su vez provocan disfunción del epitelio branquial, impidiendo el intercambio gaseoso e incapacitando al pez para mantener los balances osmóticos y ácido-base de la sangre, con complicaciones de hipoxia y por incapacidad de mantener el metabolismo normal (SMITH & PIPER, 1972).

PÉQUIGNOT & MOGA (1975) señalan que las branquias de carpas fueron los órganos más afectados al ser expuestas a concentraciones de 0,04 y 0,05 ml/l de formalina, las cuales mostraron reacciones dè congestión hemorrágica severa y destrucción parcial de las lamelas respiratorias. Así mismo se observó una fuerte anemia en los peces, con ausencia de macrófagos sanguíneos, lisis en los túbulos glomerulares y reacciones hemorrágicas del riñón. Por lo tanto así como lo señalan estos autores, la toxicidad de un agente depende de la dosis más que de su naturaleza química. Aunque hay que añadir otro factor como es la velocidad del flujo respiratorio, el cual controla el tiempo de sustitución de moléculas en la superficie de las branquias. Se ha demostrado también, que la tasa de bombeo a través de las branquias, se incrementa con la necesidad respiratoria como consecuencia del aumento de la actividad (SPRAGUE, 1970).

Los valores de CL50 a 96 h de formol determinados en este trabajo coinciden con los obtenidos por BILLS *et al.* (1977), quienes señalan la concentración letal media de este agente en 62 ‰. Sin embargo WEDEMEYER (1971), WALKER (1987) y BUHLER & WILLIAMS (1988) evidenciaron que la toxicidad de un agente químico varía de una especie a otra.

No se observo respuesta letal en porcentajes suficientes de la población antes de que finalizara el ensayo en las dosis 15; 36 y 40 ‰ por lo que no fue posible extrapolar valores de TL1, TL50 y TL99 para esto casos.

Algunos valores de TL1, TL50 y TL99 muestran variaciones entre el original y réplica (Tabla 2), lo cual probablemente se deba a variaciones intraespecíficas, es decir que no debe descartarse las diferencias genotípicas y estados fisiológicos, tal y como lo señala ALVIZU (1985). Así mismo, los TL de las concentraciones menores de 52 ‰ de formol, resultaron bajos respecto a los de mayor concentración, posiblemente se deba a que los peces hayan sido capaces de metabolizar el xenobiótico en este periodo de tiempo.

TABLA 2. Tiempos letales mínimos (TL1), medianos (TL50) y máximos (TL99) estimados (h) para ocho concentraciones de Formol en juveniles de *A. rhomboidalis* (original y réplica).

CONCENTRACION (‰)		TL1(h)	TL50(h)	TL99(h)
15	Original	58,31	72,42	–o–
	Réplica	54,05	73,02	–o–
36	Original	24,25	36,21	–o–
	Réplica	24,62	37,21	96,01
40	Original	24,12	30,52	92,05
	Réplica	26,01	30,95	92,25
52	Original	20,11	18,08	78,57
	Réplica	23,31	18,01	78,91
64	Orginal	8,11	12,62	30,95
	Réplica	7,11	12,91	30,87
80	Original	9,28	11,03	23,13
	Réplica	9,48	14,12	23,34
144	Original	1,51	0,21	20,81
	Réplica	1,75	4,57	18,53
260	Original	0,35	0,91	11,22
	Réplica	0,34	1,06	9,01

La tendencia observada en los valores de TL1, TL50 y TL99, tanto del original como de la réplica, son inversamente proporcionales a los valores de concentración de formol. De tal manera que para las concentraciones mayores, (80 hasta 260 ‰) se produce la respuesta letal en la población en menores periodos de tiempo que para concentraciones menores de 80 ‰.

Agua oxigenada (solución acuosa al 3%)

La CL1 96 h se estimó en 7,04 ml/l (IC_{95}: 5,78 - 11,77 ml/l) para el original, y 5,97 ml/l para la réplica (IC_{95}: 3,70 - 10,44 ml/l); la CL50 96h, se determinó en 17,82 ml/l (IC 95: 14,78 - 19,36 ml/l) para el original, y 15,32 ml/l (IC_{95}: 13,07 - 18,50 ml/l) para la réplica y la CL99 a 96h, fue estimada en 45,09 ml/l (IC_{95}: 24,07 - 48,23 ml/l) para el original y 39,50 ml/l (IC_{95}: 23,98 - 63,06 ml/l) para la réplica (Tabla 1).

El análisis Probit de este ensayo estableció que la línea de regresión transformada en los valores de mortalidad, para el rango de la dosis utilizadas de agua oxigenada, se ajusta para un mayor porcentaje (64 %) de los organismos utilizados en la réplica. La línea de regresión correspondiente a los ejemplares de la original mostró un menor ajuste de los datos (53%) [Tabla 1]. No se detectaron diferencias significativas estadísticas entre los coeficientes de regresión del original y la réplica (Chi^2= 0,51).

El agua oxigenada al ponerse en contacto con la enzima catalasa, presente en todos los tejidos, se descompone produciendo efervescencia al originar hasta 10 veces su volumen de oxígeno (Litter, 1978). Es considerado un buen agente anti-infeccioso, debido a su actividad oxidante, pero es inactivado rápidamente por la acción de la materia orgánica. Actúa mediante la destrucción de las células de las mucosas por medio de una acción cáustica alcalina (Litter *op. cit.*) pudiendo producir áreas de reblandecimiento de las mucosas (Goodman & Gilman, 1978).

TABLA 3. Tiempos letales mínimos (TL1), medianos (TL50) y máximos (TL99) estimados (h) para cinco concentraciones de agua oxigenada en juveniles de *A. rhomboidalis* (original y réplica).

CONCENTRACION (ml/l)		Tl1 (h)	Tl50 (h)	Tl99 (h)
20	Original	0,67	1,11	1,26
	Réplica	0,87	1,25	1,51
25	Original	0,37	0,67	1,06
	Réplica	0,51	0,87	0,88
30	Original	0,25	0,56	0,85
	Réplica	0,31	0,51	0,81
35	Original	0,18	0,65	0,78
	Réplica	0,15	0,61	0,81
40	Original	0,67	0,51	0,65
	Réplicas	0,68	0,55	0,66

Los valores estimados de los tiempos letales mínimo, mediano y máximo para cinco concentraciones entre 20 y 40 ml/l de agua oxigenada, en juveniles de *A. rhomboidalis* son mostrados en la Tabla 3.

El tiempo letal disminuyó a medida que aumenta la concentración de agua oxigenada. Las diferencias que se observaron entre las concentraciones letales mínimas, medianas y máximas del original y la réplica, pueden atribuirse a las diferencias intraespecíficas provocadas por la variabilidad genética y estado fisiológico antes mencionados.

Cloruro de sodio:

Agua oxigenada (solución acuosa al 3)La CL1 96h se estimó en 46,06 ‰ (IC_{95}: 49,18 - 56,79 ‰) para el original y 46,91 ‰ (IC_{95}: 45,55 - 55,56 ‰) para la réplica; la CL50 a 96h fue de 61,03 ‰ (IC_{95}: 62,53 - 68,27 ‰) para el original, y de 61,63 ‰ para la réplica (IC_{95}: 62,82 - 70,21 ‰) y la CL99 a 96 h fue estimada en 75,92 ‰ (IC95: 72,59 - 89,89 ‰) para el original, y 79,39 ‰ (IC95: 75,38 - 101,99 ‰) para la réplica (Tabla 1).

El análisis Probit, no mostró diferencia entre el original y la réplica para la concentración letal mínima, mediana y máxima, aún cuando la línea de regresión de la réplica se ajustó, para un mayor porcentaje (41%) de la población a utilizar. Por tanto los valores de las CL de las réplicas presentan mayor confiabilidad que los del original (38%) (Tabla 1). No se determinó diferencias significativas entre los coeficientes de regresión del original y la réplica (Chi^2: 0,33).

La acción de las soluciones hipertónicas de NaCl es particularmente físico-química, es decir, que dependiendo de las concentraciones puede causar una acción fisiológica y estimuladora del metabolismo (procesos osmorreguladores) (Einsele, 1963; 1966; Anwand, 1964). La solución de cloruro de sodio fuertemente hipertónica, a manera de presión osmótica, actúa como un irritante de la piel y estimulador de la inflamación y los caloides cutáneos, y finalmente el sodio posee un efecto tóxico, ya que es destoxicado por el correspondiente aumento de interacción con ion potasio o calcio tal como se presenta en el agua de mar.

Los valores de los tiempos letales mínimos, medianos y máximos de cloruro de sodio en juveniles de *A. rhomboidalis* son mostrados en la Tabla 4.

El tiempo letal disminuyó a medida que aumentó la concentración de cloruro de sodio. De tal manera que para las concentraciones mayores (60 ‰) se produce la respuesta letal en el correspondiente porcentaje de la población (1%, 50% y 99%) en menores períodos de tiempo que para concentraciones menores de 60 ‰. El rango de tiempos estimados entre los cuales se observa 99 % de mortalidad, va desde las concentraciones de 70 ‰ y 75 ‰ de cloruro de sodio, los cuales se encuentran entre siete y una hora aproximadamente.

TABLA 4. Tiempos letales mínimos (TL1), medianos (TL50) y máximos (TL99) estimados (h) para seis concentraciones de cloruro de sodio en juveniles de *A. rhomboidalis* (original y réplica).

CONCENTRACION (‰)		TL1 (h)	TL50 (h)	Tl99 (h)
50	Original	48,28	–o–	–o–
	Réplica	48,28	–o–	–o–
55	Original	14,65	–o–	–o–
	Réplica	14,82	–o–	–o–
60	Original	14,05	18,12	24,54
	Réplica	13,75	18,03	24,03
65	Original	0,83	6,71	18,38
	Réplica	0,87	2,12	7,05
70	Original	0,83	2,15	7,05
	Réplica	0,88	0,62	7,02
75	Original	0,44	0,62	1,17
	Réplica	0,15	0,74	1,29

REFERENCIAS

ANWAND, K. 1964. The effect of sodium chloride baths on the common carp. *Osterreichs Fischerei* 19: 24 – 28.

ALVIZU, R. 1985. *Toxicidad de amonio no ionizado en juveniles de lisa Mugil curema* (VALENCIENNES, 1836) *bajo condiciones experimentales.* Trab. Grad. Lic. Biología, mención Acuacultura. Universidad de Oriente 99 pp.

BILLS, T; L. MARKING & J. CHANDLER. 1977. Formalin its toxicity to nontarget aquatic organism, persistence and counteraction. *Serv. Invest. Fish.* 73: 1-7.

BUHLER, D. & D. WILLIAMS. 1988. The role of biotransformation in toxicity of chemicals. *Aquat. Toxicol.* 11:19 - 28.

CERVIGÓN, F. 1993. *Los Peces Marinos de Venezuela.* Volumen II. Estación de Investigaciones Marinas de Margarita. Fund. La Salle Cs. Nat., Venezuela, 497 pp.

DÍAZ, M. 1988. *Ensayos de cultivo con juveniles de cagalona Archosargus rhomboidalis* Linnaeus (1978) *(Sparidae) en estanques de concreto.* Trab. Grad. Lic. Cs. Aplic. del Mar, mención Acuacultura. Univ. de Oriente, 120 pp.

EINSELE, W. 1963. Common salt baths for curative treatment and for general hygiene of fishes. *Osterreich Fischerei* 16: 50 – 53.

EINSELE, W. 1966. On the difference in the behavior of trout and carp with regard to common salt baths. *Osterreich Fischerei* 19: 28 -31

FABRE, R; R. TRUHAUT & M. GRANIER-DOYEUX. 1962. *Compendio de Toxicología.* Tomo 1. Edit. U.C.V., 1964 pp.

FINNEY, D. 1971. *Probit Analyses.* Cambridge Univ. Press, London, 333 pp.

GÓMEZ, A. & F. LÁREZ. 1985. Cultivo experimental de *Archosargus rhomboidalis* (Pices, Sparidae), en la Isla de Margarita, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente* 24: 105 - 110.

GONZÁLEZ, A. 1976. *Aspectos biológicos de los juveniles de Archosargus rhomboidalis* (L) *en la Laguna de La Restinga y sus alrededores, Estado Nueva Esparta (Pisces: Sparidae).* Trab. Grad. Lic. Biolog., Univ. de Oriente, 49 pp.

GOODMAN, L & A. GILMAN. 1978. *Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* 5ta Ed., Nueva Edit. Interamericana, México, 1969 pp.

LITTER, M. 1978. *Compendio de Farmacología*. 2da Ed., Edit. El Ateneo S. A. España, 687 pp.

MARTIN, E. E. COOK, E. LEWALLEN, A. OSOL, L. TICE, C. VAN METER & J. HOOVER. 1985. *Farmacia Práctica de Reminghton*. 2da Ed. Edit. Hispanoamericana, México, 2047 pp.

PEQUIGNOT, J. & A. MOGA. 1975. Effect the different toxiques (Pb, Cu, Formol, NH_4) chez la carpe: Alterations histologiques des organes excreteurs et hematopoietiques. *Europ. J. Toxicol.* 8: 361 - 369.

SMITH, C. & R. PIPER. 1972. Pathological effects, in formalin treated raimbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Canada* 29: 328 - 329.

SPRAGUE, J. 1969. Measurement of pollutant toxicity to fish. I. Bioassay methods for acute toxicity. *Water Res.* 3: 793 - 821.

SPRAGUE, J. 1970. Measurement of pollutant toxicity to fish. II. Utilizing and applying bioassay results. *Water Res.* 4: 3 - 32.

SPRAGUE, J. 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish. III. Subletal effects and "safe" concentration. *Water Res.* 5: 245 - 266.

VALDIVIESO, D. 1981. Aspectos de la reproducción de *Archosargus unimaculatus* (Pisces: Sparidae). Trab. Grad. Univ. de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, 66 pp.

WALKER, C. 1987. Kinetic models for predicting bioaccumulation of pollutants in ecosystems. *Envir. Pollut.* 44: 227 - 240.

WARD, G. & PARRISH, P. 1982. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 6. Ensayos de toxicidad. *FAO. Doc. Téen. Pesca* 185: 25 pp.

WEDEMEYER, G. 1971. The stress of formalin treatments in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and Salmo (*Onchorhynchus kitsutch*). *J. Fish. Res. Bd. Canada* 28: 1899 - 1904.

WIEDENHOFER, H. 1966. *The estimation of equipotent concentrations in replicated single-subject bioassays*. Tesis M. Sc. Iowa State University, EE.UU., 76 pp.