

El Metabolismo del Nitrógeno y su Relación con los Requerimientos Nutricionales de los Camarones Peneidos.

Carlos Rosas¹, Gabriela Gaxiola¹ y Adolfo Sánchez²

- 1.-Laboratorio de Biología Marina Experimental, Fac. de Ciencias UNAM
Apdo. Post 69, Cd. del Carmen, Camp. México
- 2.-El Colegio de la Frontera Sur, Calle 10, No 264, Centro, Campeche, Camp.

Los compuestos que contienen nitrógeno son de importancia fundamental en la organización estructural y las capacidades fisiológicas de los crustáceos. El uso de la gran variedad de constituyentes nitrogenados: ácidos nucleicos, enzimas y otras proteínas, aminoácidos, las purinas y pirimidinas y co-enzimas están determinadas por la capacidad genética, el control metabólico y las necesidades de energía de estos organismos. El metabolismo del nitrógeno, esto es, el origen, acción y destino de los compuestos nitrogenados es una pre-condición y una consecuencia de la nutrición, crecimiento, desarrollo, flujo de energía y ajustes fisiológicos de variables endógenas y exógenas. Un detallado conocimiento de los constituyentes nitrogenados, de las vías metabólicas y de los mecanismos regulatorios los cuales controlan la cantidad y distribución de los productos nitrogenados es esencial para comprender la nutrición de los crustáceos decápodos y por ende de los camarones peneidos. En trabajos recientemente publicados se ha observado que el metabolismo del nitrógeno es un buen indicador del estado fisiológico de los organismos y ha sido utilizado para interpretar, junto con el consumo de oxígeno, el efecto de las características de la dieta en la fisiología del camarón blanco del Golfo de México *Penaeus setiferus* (Rosas *et al.*, 1995; Rosas *et al.*, 1996; García *et al.*, 1998; Rosas *et al.*, 1998a, Rosas *et al.*, 1998b; Taboada *et al.*, 1998). En este trabajo se presenta una revisión de los mecanismos de síntesis y excreción de los productos nitrogenados así como de las formas de desecho. Algunos ejemplos de trabajos realizados recientemente se presentan con el fin de demostrar la relación existente entre la dieta y el metabolismo del nitrógeno en algunas especies de camarones peneidos de interés comercial.

1.-Ocurrencia y distribución de los compuestos nitrogenados

a. Los aminoácidos libres.

La concentración de aminoácidos libres (AAL) en la mayoría de los crustáceos es del doble de la concentración que normalmente se encuentra en los vertebrados. Desde principios de siglo Fredericq (1901) notó que, en comparación con la hemolinfa, los tejidos de los crustáceos presentaban deficiencias en aniones inorgánicos, lo cual lo llevó a postular que para mantener el balance osmótico los animales deberían tener un gran pool intracelular de aniones orgánicos. Años más tarde estos aniones orgánicos fueron identificados como AAL (Silber, 1941).

Rosas, C.; G., Gaxiola y A., Sánchez. 2000. El metabolismo del nitrógeno y su relación con los requerimientos nutricionales de los camarones peneidos. pp 166-186 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.

Tomando en cuenta que los lípidos y los carbohidratos tienen poca participación en el metabolismo energético de los camarones peneidos (Barclay *et al.*, 1983; Smith y Dall, 1991) y en general de los crustáceos (Claybrock; 1983), algunos autores han sugerido que una parte importante de las proteínas de la dieta deben de ser metabolizadas para la obtención de energía directa. Dall y Smith (1986) demostraron que son precisamente los aminoácidos (aa) los que contribuyen con la mayor parte de la energía metabólica procedente de las proteínas. La evaluación de los cambios en el pool de AAL y de los aa ligados al músculo llevó a estos autores a concluir que los aa del músculo son liberados para la producción de energía vía el pool de AAL.

Con el fin de satisfacer no sólo los requerimientos de proteínas sino de aproximarse a los requerimientos de aa, algunos autores se han dedicado al estudio tanto de los requerimientos dietéticos como de las concentraciones presentes en el músculo de diferentes especies de crustáceos. En la Tabla 1 se presenta la composición de aa del músculo de diferentes especies de camarón, las cuales han sido contrastadas con los niveles encontrados en *Callinectes sapidus*.

Tabla 1. Composición de los aa del músculo de diferentes especies de crustáceos decápodos.

Amino Ácidos g/100 g	<i>P. schmitti</i> (Gallardo et al., 1989)	<i>P. aztecus</i> (Shewbart et al., 1972)	<i>P. japonicus</i> (Teshima et al., 1986)	<i>P. monodon</i> (Millamema et al., 1997; Chen, 1998)	<i>C. sapidus</i> (Gerard y Gilles, 1972)
Alanina		5.6			26.58
Arginina*	9.06	5.1	9.06	6.57	
Acido Aspártico		10.9			5.52
Cisteina		3.3			
Ácido Glutámico		13.4			7.19
Glicina		5.7			255.89
Histidina*	3.01	3.1	2.90	2.04	
Hydroxi prolina		0.3			
Isoleucina*	4.45	4.4	5.86	3.66	1.25
Leucina*	8.97	9.6	7.79	6.29	2.42
Lisina*	8.43	6.0	8.80	6.23	
Metionina*		3.4		2.34	4.17
Fenil alanina*		5.6		3.45	3.00
Prolina		3.1			52.31
Serina		5.0			3.7
Taurina					49.06
Treonina*	3.00	5.3	3.79	3.25	
Triptofano*	1.06	1.0	4.06	0.92	
Tirosina		2.7			1.41
Valina*	5.64	5.0	5.64	4.24	3.75

* Amino ácidos esenciales: Metionina, Treonina, Valina, Isoleucina, Leucina, Fenil alanina, Histidina, Lisina, Triptofano y Arginina.

Como se puede apreciar, los valores entre los camarones peneidos son similares entre sí sobre todo al comparar los aa esenciales. La Lisina, la Arginina y la Metionina son usualmente los aa esenciales en las dietas comerciales de los camarones peneidos (Akiyama

et al., 1991). La Arginina, Glicina y Prolina son los aa más abundantes. De éstos, únicamente la Arginina es esencial la cual representa el 20% de los aa esenciales en *P. schmitti*, 13% en *P. aztecus*, 19% en *P. japonicus* y 20.98% en *P. monodon*. Una de las funciones importantes de la arginina en el músculo es como fosfo-arginina, la cual es utilizada como fuente de energía muscular. Este aa en particular se ha encontrado en altas concentraciones en el músculo de la que la de la langosta *Homarus americanus* (Claybrook, 1983).

La Prolina es oxidada rápidamente en las mitocondrias del músculo, produciendo 2 oxoglutaratos los cuales aceleran el funcionamiento del ciclo de Krebs, produciendo también Alanina en cantidades estequiométricas. Resultados obtenidos en *P. keratulus* han demostrado que la Alanina es precursor de la Prolina, lo cual sugiere que estos dos aa pueden servir como fuente de moléculas de 2 carbonos útiles para la oxidación muscular (Torres, 1973). Así mismo, las drásticas modificaciones en el contenido de la Prolina las cuales acompañan los ajustes al estrés osmótico implican que este aa, al igual que la Glicina y la Alanina, son los principales solutos en los procesos de osmorregulación muscular.

Debido a lo importante de su papel, existen numerosos trabajos publicados los cuales se han enfocado a determinar el requerimiento dietético de diferentes aa para camarones peneidos, adicionados a la dieta en forma en su forma cristalina. Los aa más estudiados han sido la Arginina (Teshima *et al.*, 1986; Chen *et al.*, 1992), mezclas de aa esenciales (Treonina, Valina, Metionina, Isoleucina, Leucina, Fenil Alanina, Lisina, Histidina, Arginina y Triptofano; Teshima *et al.*, 1986; Divakaran, 1994), Metionina (Teshima *et al.*, 1992), Lisina (Hew y Cuzon, 1982; Fox *et al.*, 1995), Treonina (Millamena *et al.*, 1997), Prolina (Smith y Dall, 1991). La mayoría de estos autores coinciden en que los aa cristalinos son asimilados con mayor eficiencia que los aa ligados a los péptidos de una proteína. La concentración de estos aa suplementarios puede aumentar la concentración de AAL los cuales pueden ser rápidamente utilizados como fuente de energía (Cowey y Forster, 1971; Cowey y Sargent, 1979). El pool de AAL en decápodos es comparable al de los vertebrados con intervalos que van de 2 a 6 $\mu\text{mol/mL}$ (Dall, 1975; Chen *et al.*, 1994), los cuales además de su papel energético tienen una participación importante en la regulación del volumen intracelular donde ellos sustituyen a los iones orgánicos los cuales son los primeros efectores osmóticos en la hemolinfa (Claybrook, 1983). Aunque faltan estudios en camarones peneidos existen evidencias de que el 50% de los AAL se encuentran en los hemocitos de algunos decápodos lo cual ha sido interpretado en relación con la utilidad que pueden tener estas moléculas como efectores osmóticos compartimentalizados (Miller *et al.*, 1973). Así, los aa tanto como precursores de proteínas, como efectores osmóticos o como fuentes de energía metabólica son moléculas críticas en el metabolismo de los camarones peneidos. Entender las formas de adquisición y metabolización son aspectos fundamentales para comprender cuales son las condiciones nutricionales y ambientales adecuadas para obtener el mejor desempeño de los camarones en cultivo.

Tabla 2. Contenido de proteínas en diferentes tejidos de crustáceos decápodos

Tejido	% en Base Seca
Gónadas	61
Músculo	76
Glándula Digestiva	36
Branquias	38
Exoesqueleto	6

2. Las proteínas

Las proteínas son constituyentes abundantes en los crustáceos, las cuales varían entre 38 y 75%. En *P. aztecus* el músculo de la cola tiene un contenido protéico de 72.6% en base seca (Shewbart *et al.*, 1972). El análisis de las proteínas de algunos tejidos revelan que las gónadas y el músculo son los sitios más ricos (Tabla 2).

Tabla 3. Requerimientos de proteínas publicados para diversas especies de camarones Peneidos

Especie	Requerimiento de Proteína (% de materia seca)	Referencias
<i>Penaeus setiferus</i>	Postlarvas PL10 -PL30: 50% Postlarvas PL30-PL50: 40% Juveniles : 30%	Gaxiola, 1994 García et al 1998 Sick y Andrews, 1973; Andrews et al., 1972; Chen et al., 1985; Taboada et al., 1998.
<i>P. indicus</i>	43%	Colvin, 1976; Allan y Smith, 1998
<i>P. monodon</i>	Camarones(g): proteínas 0.5-1.8g: 46% 0.5-.06g: 35-40% 1.3g: 40% 0.6-0.8g: 40-50% 0.9g: 40-44% 0.9 g: 36-40%	Lee, 1971 Lin et al., 1982 Alava y Lim, 1983 Bautista, 1986 Shiau et al., 1991 Shiau y Chou, 1991
<i>P. japonicus</i>	casína: 52% Proteína de cangrejo: 40%	Deshimaru y Yone, 1978 Koshio et al., 1993
<i>Penaeus aztecus lves</i>	45% 40%	Hysmith, et al., 1972 Venkataramiah et al., 1975
<i>P. merguensis</i>	< 3 g: 27-50% 0.3-4.8g: 16.6-50.9%	Aquacop, 1978 Sedgwick, 1979, Boonyaratpalin, 1998
<i>P. indicus</i>	0.95-3.06g: 43% PL1-PL10: 37% PL11-PL25: 28- 46% PL27-PL42: 28% 12-15 mm: 30-40% Juveniles: 24 - 29.3%	Colvin, 1976 Bhaskar y Ali, 1984 Gopal y Raj, 1993 Ali, 1994
<i>P. duorarum</i>	PL10-PL30: 50%	Gaxiola, 1994; García et al., 1998
<i>P. schmitti</i>	Postlarvas: 60%	García y Galindo, 1990
<i>Metapenaeus macleayi</i>	27%	Maguire y Hume, 1982
<i>Metapenaeus monoceros</i>	55%	Kanazawa et al., 1981
<i>P. vannamei</i>	38% 40% 38-40%	Smith et al., 1985 Pedrazzoli et al., 1998
<i>P. esculentus</i>	40%	Hewitt, 1992
<i>P. plebejus</i>	47%	Aquacop y Cuzon, 1992
<i>P. stylirostris</i>	Postlarvas: 44% Juveniles de 0.5g: 30-35% Juveniles > 1g: 30%	Cuzon y Aquacop, 1998 Colvin y Brand, 1977

Debido a que las proteínas son el componente más costoso de las dietas los requerimientos de proteínas de varias especies de camarones peneidos han sido estudiados ampliamente.

En los últimos años se ha demostrado que los camarones peneidos tienen requerimientos altos de proteínas los cuales están entre 30 y 45% (Tabla 3).

La concentración de proteínas reportadas en la hemolinfa varía entre 28 y 116 mg/mL. En general en los macrocrustáceos la hemocianina es entre el 80 y 95% de las proteínas de la hemolinfa aunque su concentración fluctúa durante el ciclo de muda. Así mismo se ha observado que las proteínas de la hemolinfa no son reguladas muy estrechamente en los camarones cambiando en relación a los cambios de la salinidad y del tipo de alimento.

3. Otros compuestos nitrogenados.

a. Taurina. La Taurina (ácido 2-aminoetanesulfónico) es relativamente abundante en los crustáceos. Al igual que los α -aminoácidos la taurina está fuertemente concentrada en los compartimentos intracelulares. En los decápodos se han reportado niveles menores de 5 $\mu\text{mol/mL}$ mientras que en los tejidos se han encontrado entre 8 a 43 $\mu\text{mol/g}$ de peso (Charmantier *et al.*, 1976). Esta sustancia ha sido identificada como un agente emulsificante de los jugos gástricos de cangrejos, langostinos, camarones y langostas (Collatz y Mommsen, 1974).

b. Ornitina. La ornitina es un aminoácido no proteico el cual ha sido detectado en el tejido de los crustáceos decápodos. Se ha reportado que el músculo de *Callinectes sapidus* contiene entre 3 y 6 $\mu\text{mol/g}$ y mientras que en la glándula antenal de *Astacus leptodactylus* se han encontrado niveles de 1.6 $\mu\text{mol/g}$. Ya que el ciclo de la urea es limitado en crustáceos se ha especulado que la presencia de la ornitina en decápodos pudiera tener un origen dietético o estar asociada con el catabolismo de la arginina. La síntesis *de novo* en los decápodos aún no ha sido demostrada.

c. Beta alanina. La β alanina es un constituyente esencial de la co-enzima A en los crustáceos la cual se encuentra en forma libre en la sangre y en el sistema nervioso de los decápodos. Algunas investigaciones sugieren que la β alanina puede ser un sub producto de la degradación del uracilo el cual tiene un papel osmótico importante en los estadios larvales de los decápodos (Claybroock, 1983).

d. Betaína. La betaína o trimetil glicina es un compuesto cuaternario del amonio ampliamente distribuido entre los crustáceos decápodos aunque en baja concentración. Desde los trabajos de Beers (1967) se han detectado cantidades significativas en decápodos marinos y terrestres con intervalos de concentración entre 5 y 15 $\mu\text{mol/g}$, aunque su papel metabólico aún no ha sido determinado.

e. Homarina. La homarina ó ácido N-metil picolínico se encuentra en prácticamente todos los decápodos marinos aunque es aparentemente ausente en los crustáceos dulce acuícolas. Concentraciones de 10 a 25 $\mu\text{mol/g}$ han sido reportadas en el tejido de los decápodos (Dall, 1971). La homarina no solamente es retenida del alimento sino también puede ser sintetizada por el músculo de los camarones peneidos (Netherton y Gurin, 1980), posiblemente en respuesta a estrés osmótico.

4.-Metabolismo de los constituyentes del Nitrógeno.

El metabolismo de proteínas y amino ácidos ha sido ampliamente estudiado. En general se ha asumido que las vías metabólicas para la biosíntesis de los aa en crustáceos son las mismas que las presentes en los mamíferos. Entre los 10 aa no esenciales, nueve pueden normalmente ser sintetizados directamente de la glucosa. El décimo (tirosina) es derivada de un aa esencial, la fenil alanina (Claybrook, 1983). El ácido aspártico y el ácido glutámico son sintetizados desde los intermediarios del ciclo de Krebs el oxaloacetato y el 2-oxoglutarato, por medio de la reacción de aminotransferasa. El ácido glutámico puede ser formado por una aminación reductiva del 2-oxoglutarato.

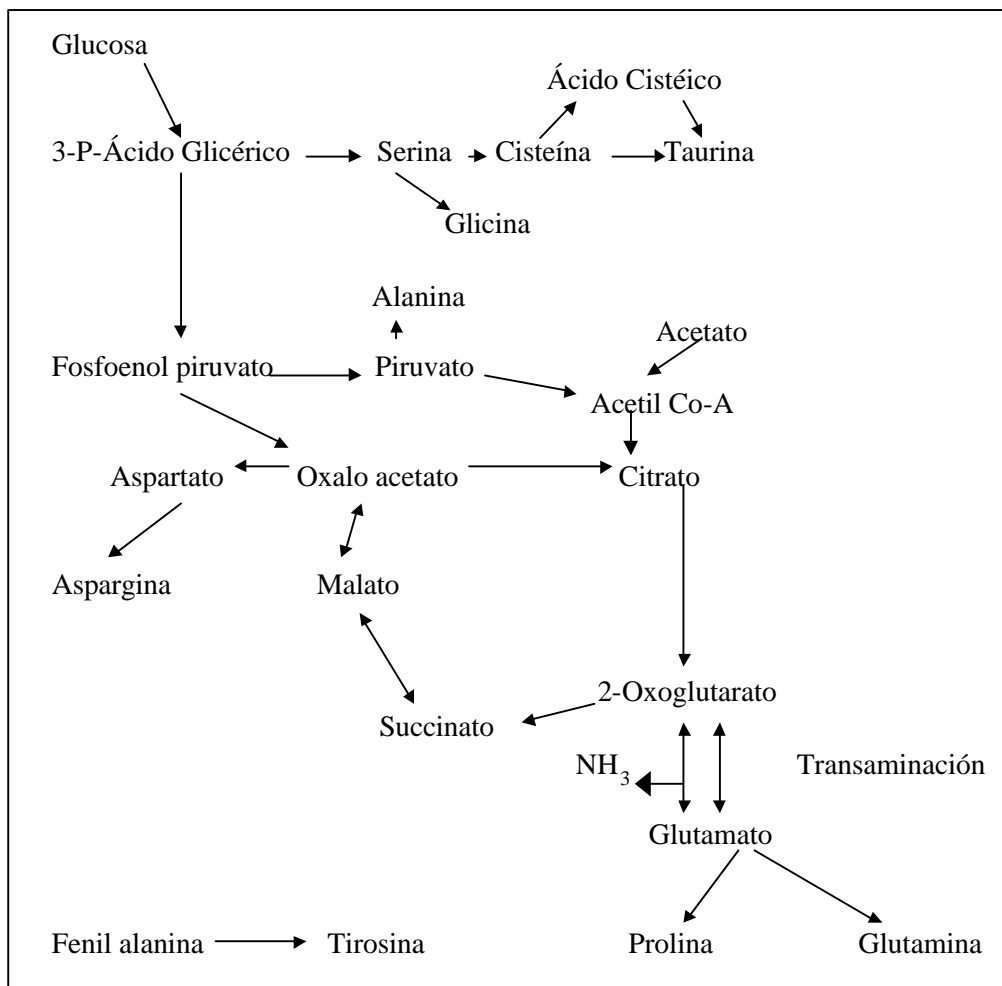


Figura. 1. Principales vías para la biosíntesis de aa en Crustáceos

La Alanina es derivada del piruvato en crustáceos por transaminación de los ceto ácidos con glutamato. La síntesis de glutamato desde 2-oxoglutarato puede también ocurrir por una amino-reducción :



La captación de amonio en esta reacción es generalmente considerada la primera fuente de amino nitrógeno para la síntesis de aa no esenciales en animales, con el glutamato como un donador del grupo amino vía la transaminación. La Glutamato des-hidrogenasa (GDH) está ampliamente distribuida en crustáceos y está representada en diferentes tejidos (Tabla 4).

Debido a su papel en el control de la incorporación o remoción de amonio las propiedades de la GDH han estado sujetas a extensivos estudios en diferentes fila, incluyendo los crustáceos (véase Claybrook, 1983).

Tabla 4. Concentración de GDH en diferentes tejidos de Crustáceos Decápodos

Tejido	Actividad Enzimática	
	mU/mg proteína	mU/g peso vivo
Corazón	500	12,500
Glándula Digestiva	350	9,800
Glándula Antenal	330	11,500
Branquias	135	5,130
Sistema Nervioso	48	720
Músculo	43	1,032

La Prolina es el más abundante de los aminoácidos en crustáceos, especialmente en el músculo, el cual puede presentar grandes cambios durante ajustes osmóticos. La Prolina es sintetizada del glutamato en la mayoría de los animales, con la glutamato- γ -semi aldehído como intermediario. La Arginina y la oOrnitina pueden servir como precursores de la Prolina ya que la glutamato- γ -semi aldehído es un intermediario de su catabolismo. La formación de la serina, glicina y cisteína esta interrelacionada en la mayoría de los organismos con la serina derivada de los intermediarios de la glicólisis. Por ejemplo se ha demostrado que el 2 ó el 3- fosfoglicerato es un precursor para la formación de glicina y cisteína. La Glicina es generalmente el más abundante de los amino ácidos libres en el músculo de los crustáceos. Los precursores de glicina más abundantes son la glucosa, el acetato y el glutamato. La vía aceptada para la biosíntesis de la cisteína en animales superiores involucra a la serina acoplada con la homocisteína (proveniente de la metionina) para formar cistationina.

5. El Catabolismo de los aminoácidos

El catabolismo de los aminoácidos y las proteínas puede servir como una fuente significativa de energía metabólica en los decápodos ya que estas substancias son los mayores constituyentes de los tejidos de los crustáceos. La transaminación es la vía de degradación capaz de convertir el glutamato, aspartato y alanina en ceto ácidos y es al parecer la vía más común de degradación de aa en crustáceos. La serina dehidratasa la cual amina la serina para producir piruvato y amonio ha sido encontrada en camarones y langostinos en los cuales

la glándula antenal presentó la mayor concentración de tejidos activos. Esta enzima ha sido considerada como una enzima clave en la ruta por la cual el amonio puede ser formado desde los aa en crustáceos. La prolina es degradada a 2-oxoglutarato vía la oxidación del glutamato con la reacción inicial catalizada por la prolina oxidasa.

6. La formación de los productos de excreción nitrogenada

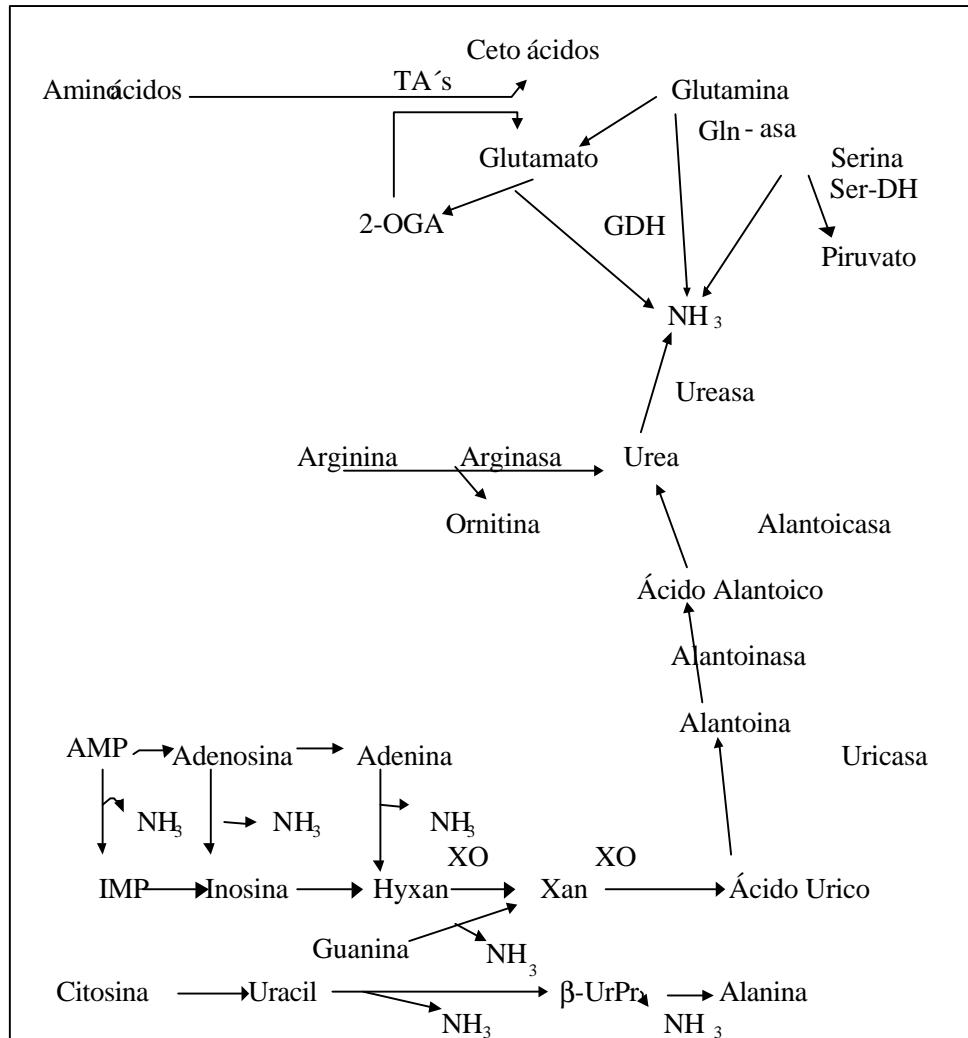
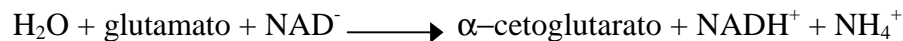


Figura. 2. Formación metabólica de los productos de excreción en crustáceos. GSH= glutamato deshidrogenasa, Gln-as = glutaminasa, Hyxan = hypoxantina, 2-OGA = 2-oxoglutarato, SerDH = serina deshidratasa, TA = transaminasa, - UrPr = Uredopropionato, Xan = Xantina, XO = Xantina Oxidasa.

Los crustáceos como grupo excretan el nitrógeno metabólico mayormente como amonio, independientemente si estos ocupan el ambiente marino, salobre, dulce acuícola o terrestre. La urea, el ácido úrico y otros productos nitrogenados son también excretados en diferentes cantidades por diferentes especies.

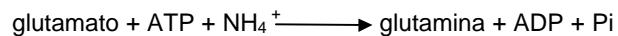
Se han reportado concentraciones de amonio por arriba de 1 $\mu\text{mol/ml}$ en la hemolinfa de *Eriochir sinensis*, 68 $\mu\text{mol/ml}$ en *P. keratulus*, y entre 0.2 y 1.0 $\mu\text{mol/ml}$ en *Nephrops norvegicus* (Schmitt y Uglow, 1997a y b). Las vías metabólicas por las cuales el amonio, la urea y el ácido úrico son formados en los decápodos se cree que es el típico mecanismo conocido en otros grupos animales. El amonio es formado por una variedad de reacciones involucrando los aminoácidos como también las bases púricas y las pirimidinas.

Otras probables rutas para la excreción de amonio desde la degradación de los aminoácidos incluye las reacciones que involucran a la glutamina y a la serina. La L-glutaminasa ha sido detectada en algunos decápodos de agua dulce y en isópodos terrestres, aunque no existen reportes en camarones peneidos. La L-serina dehidratasa, la cual convierte la serina a piruvato y amonio ha sido reportado en cangrejos. Aunque la urea es excretada en cantidades significativas, ésta puede contribuir a la excreción de amonio a través de la ureasa. Aunque algunas enzimas son capaces de la deaminación hidrolítica y oxidativa de aminoácidos específicos y otros compuestos nitrogenados en crustáceos marinos, el esquema de la transaminación (Figura. 2) para el metabolismo nitrogenado es ampliamente aceptado como el mecanismo más importante para la producción de amonio. En este esquema catabólico el aminoácido específico es ligado para su transaminación a la glutamato deshidrogenasa, donde el nitrógeno es canalizado desde el grupo amino hacia el glutamato. El glutamato es subsecuentemente oxidado por la glutamato deshidrogenasa (GDH) produciendo amonio intracelular, α -cetoglutarato y nicotin adenin dinucleotido reducido (NADH^+):



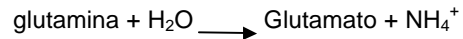
El transporte y la forma en que el amonio llega a las branquias ha sido ampliamente discutido, lo cual ha conducido a la propuesta de diversos mecanismos. Uno de los mecanismos establece que el amonio es disuelto en la hemolinfa y transportado disuelto hacia las branquias (Kormanik y Cameron, 1981 a y b). Un segundo mecanismo es el que postula que el amonio es convertido en una forma intermedia y de esa forma es transportado a las branquias donde es liberado a través de una reacción enzimática (King, *et al.*, 1985). Una tercera hipótesis es la que conjuga ambos mecanismos proponiéndolos como alternativos para la detoxificación del amonio en los crustáceos decápodos (Regnault, 1986).

De acuerdo con King *et al.*, (1985) la formación de glutamina a partir de glutamato y amonio es catalizada por la glutamina sintetasa la cual es transportada a través de la sangre hacia las branquias (Figura 3):



En este esquema la glutamina sintetasa juega un papel muy importante en la detoxificación del amonio y en el almacenamiento y transporte del nitrógeno. La glutamina puede jugar un papel en la detoxificación del amonio en los invertebrados amoniotéticos, mecanismo

análogo al de la urea en los vertebrados urotélicos. Este esquema pudiera requerir de la participación de la glutaminasa en las branquias para facilitar la excreción del grupo amida de la glutamina como amonio:



En la figura 3 se presenta el esquema catabólico del metabolismo del nitrógeno propuesto por King *et al.*, (1985) para decápodos marinos. En este esquema el amino-nitrógeno es liberado como amonio en la mitocondria celular desde diferentes aminoácidos vía la actividad combinada de la transaminación (A) y la glutamato deshidrogenasa (B). La toxicidad del amonio es disminuida debido a que es incorporado en el grupo amida de la glutamina, vía la glutamina sintetasa (C). La glutamina es transportada a las branquias a través del sistema circulatorio donde esta es hidrolizada por la glutaminasa (D) para formar glutamato y amonio. El glutamato puede ser circulado hacia el tejido muscular y ser transformado en glutamina nuevamente por la glutamino sintetasa. En este esquema el amonio es excretado en las branquias a través de difusión pasiva.

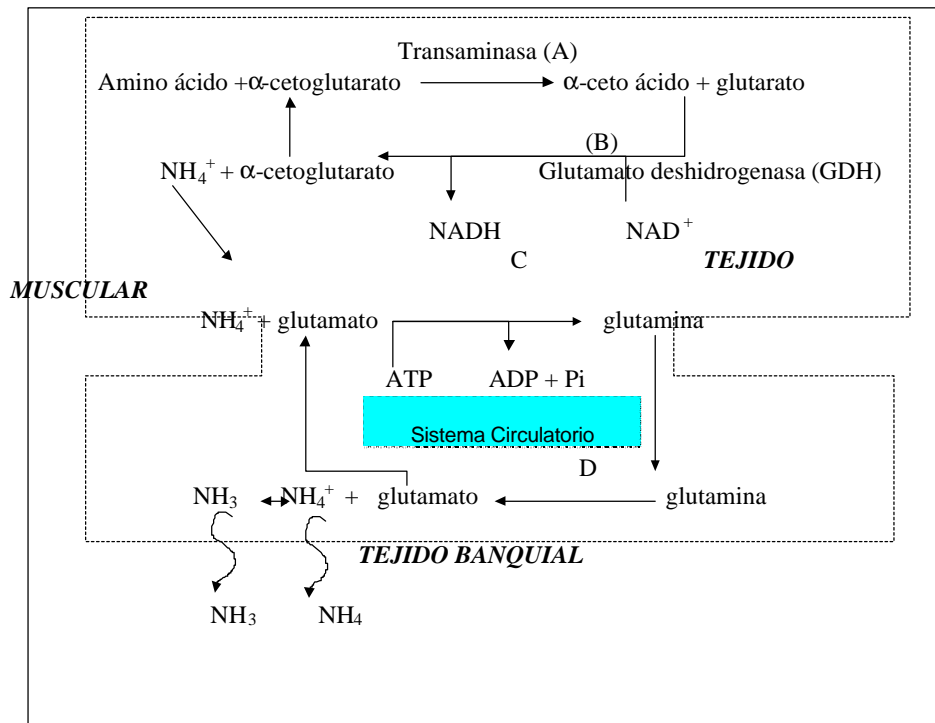
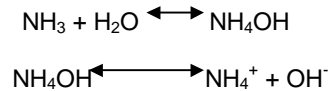


Figura. 3. Esquema propuesto por King *et al* (1985) para explicar el catabolismo del nitrógeno en crustáceos decápodos.

6.-Mecanismos de Excreción de Amonio.

a. Difusión simple

El NH_3 en el agua tiene una reacción reversible de hidratación y una subsecuente disociación de acuerdo a la ecuación:



Debido a que el pK de este equilibrio es aproximadamente 9, a pH fisiológico la mayoría del amonio está presente como NH_4^+ . Tomando en cuenta como y en que forma el amonio se mueve a través de las membranas biológicas, la cantidad exacta de la relación entre NH_3 y NH_4^+ debiera ser conocida.

Ya que el amonio existe en solución acuosa en valores de pH fisiológico la difusión del NH_3 y del NH_4^+ a través de las branquias puede presentarse en forma independiente pero por vías paralelas. El NH_3 , una molécula pequeña y lipofílica, puede difundir fácilmente a través de los lípidos de la membrana en una forma similar a los movimientos del CO_2 o del O_2 respiratorio. Por otro lado, el NH_4^+ tiene un radio mayor y una carga neta. Como tal, a difusión del NH_4^+ pudiera esperarse a través de rutas que son utilizadas por otros cationes donde éste pudiera estar sujeto a cargas eléctricas a través de las membranas. La contribución potencial de cada vía puede ser estimada ya que está sujeta a las constantes físicas conocidas. Así, la presión parcial del gradiente que forma el amonio durante la difusión hacia el interior o hacia el exterior puede ser calculada de la ecuación:

$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{pK} + \log \left(\frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]} \right) \\ P_{\text{NH}_3} &= [\text{NH}_3] \cdot (22.09) \end{aligned}$$

donde las concentraciones son dadas en mM L^{-1} , P_{NH_3} es la presión parcial del amonio en torr y 22.09 ($\text{l} \cdot \text{M}^{-1}$) es una corrección para convertir el volumen del amonio en ml a unidades de mM l^{-1} , es el coeficiente de solubilidad de Bunsen expresado en $\text{ml NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$. Usando estas ecuaciones y los datos publicados por Cameron y Batterton (1978) para *Callinectes sapidus*, la P_{NH_3} fue calculada en 0.037×10^{-3} torr en la sangre (medio interno) y 0.013×10^{-3} en el medio externo utilizando valores medidos de pH en el medio externo, sangre y las concentraciones de amonio. Tomando en cuenta estos datos y el coeficiente de permeabilidad del NH_4^+ , el cual es 3 veces la permeabilidad del Na^+ estos autores calcularon el flujo por difusión del NH_4^+ branquial, obteniendo un valor de $10 \text{ Eq} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, el cual es mucho menor al flujo registrado de $530 \mu\text{Eq} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Con esta información es evidente que la excreción de NH_4^+ en las jaibas es de alrededor del 7% del total de amonio excretado, lo cual implica que, en los crustáceos decápodos acuáticos marinos la excreción de los productos del metabolismo nitrogenado que son liberados por difusión es prácticamente NH_3 (Kormanik y Cameron, 1981b) (Figura. 4).

b. Intercambio iónico.

La mejor evidencia contra la difusión pasiva como única vía de excreción de NH_3 y/o NH_4^+ es la demostración de que la excreción de amonio se realiza en contra de un gradiente de concentración, intercambiando amonio por Na^+ . Este intercambio necesita un transportador específico (bomba $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$), la $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPasa. El mecanismo fue primero descrito por Maetz y García-Romeu (1964) en peces de agua dulce y confirmado posteriormente en crustáceos y peces marinos (Kormanik y Cameron, 1981a; Mangum *et al.*, 1976; Regnault, 1986) (Fig. 4). Diversos autores han señalado que este mecanismo puede estar representado de dos maneras. La primera consiste en el intercambio de NH_4^+ disuelto o el amonio transportado por la glutamina por Na^+ en el margen interno de las células branquiales. En este sitio la enzima acarreadora puede ser la $\text{Na}^+-\text{NH}_4^+$ ATPasa. En el interior de la célula branquial el NH_4^+ es transformado a NH_3 , el cual difunde hacia el exterior a favor de un gradiente de concentración.

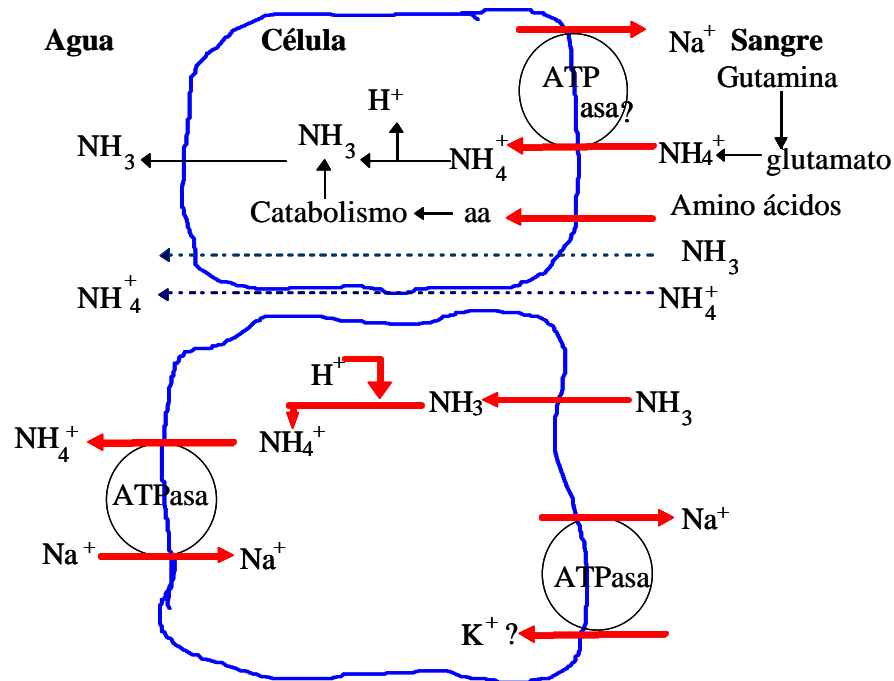


Figura. 4. Ilustración de las vías que la excreción de amonio puede tener a través de las branquias de los crustáceos decápodos..... Difusión pasiva, — Transporte activo.

También el catabolismo de los aa en la célula branquial es una fuente de NH_3 . Se ha demostrado una fuerte actividad catabólica en las células branquiales de los decápodos, fundamentalmente asociada con cambios en la salinidad. La difusión del NH_3 disuelto en la

sangre hacia el interior de la célula branquial es otro mecanismo. En el interior de la célula el NH_3 es convertido a NH_4^+ mediante la participación de un protón proveniente de la reacción entre el CO_2 y el H_2O ($\text{HCO}_3^- + \text{H}^+$), por intermediación de la anhidrasa carbónica. En este caso el NH_4^+ es intercambiado por Na^+ mediante la $\text{Na}^+-\text{NH}_4^+$ ATPasa, la cual se encuentra ubicada en el margen externo de la célula branquial. El Na^+ es acumulado en la célula branquial y enviado al medio interno a través de la $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa. Este mecanismo se ha observado en decápodos que son mantenidos en ambientes diluidos, donde la captación activa de iones es un mecanismo asociado al mantenimiento del equilibrio hidromineral (Pequeux y Gilles, 1981).

Como se puede notar, los mecanismos involucrados en la excreción del amonio están involucrados con las variaciones internas de las moléculas y los iones osmóticamente activos como el Na^+ , el K^+ y los AAL. Esta situación hace que las variaciones en la excreción de amonio y el papel de los AAL en el metabolismo energético de los camarones peneidos funciona como un mecanismo multi propósito a través del cual los animales pueden obtener energía desde las proteínas y efectores osmóticos importantes como los AAL.

7. Efecto de los niveles del tipo de dieta en la excreción nitrogenada de camarones peneidos: un ejemplo con el camarón blanco del Golfo de México *Penaeus setiferus*.

a. Efecto del tipo de alimento en la excreción nitrogenada de las larvas y primeras postlarvas de *P. setiferus* (Roberto Brito, Ma. Eugenia Chimal y Carlos Rosas).

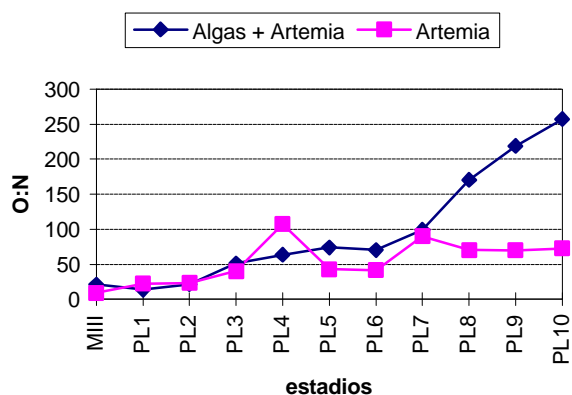
De acuerdo con Mayzaud y Conover (1988) la razón O:N puede ser usada para identificar el sustrato energético utilizado por los organismos acuáticos bajo una condición determinada. Con base en las rutas bioquímicas de la degradación de nutrientes, estos autores propusieron que una razón O:N entre 3 y 16 representa el uso de proteínas como sustrato energético. Conforme la razón O:N aumenta el sustrato energético cambia apareciendo los lípidos y disminuyendo progresivamente el uso de las proteínas. Cuando los valores de O:N están entre 50 y 60 se indica que existe una relación de 50-50% proteínas-lípidos como sustrato energético. Valores mayores representan sustratos mezclados donde las proteínas disminuyen paulatinamente mientras aumentan los lípidos y los carbohidratos. Cuando este tipo de criterio se aplica a los animales en cultivo es posible establecer, desde el punto de vista fisiológico las capacidades metabólicas que son desplegadas para procesar los nutrientes provenientes de los diferentes tipos de alimentos.

Recientemente en nuestro Laboratorio se realizaron una serie de experimentos con el fin de determinar el efecto del tipo de alimento sobre el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada entre mysis 3 (MIII) y postlarvas 10 (PL10) de camarón blanco *P. setiferus*. Se utilizaron larvas y postlarvas provenientes de un sólo desove y cultivadas con una combinación de algas y nauplios de *Artemia franciscana* (Tratamiento 1: diatomeas: 40 mil cel/mL, flagelados: 3 mil cel/mL; 2 nauplios/mL) y sólo con nauplios de *A. franciscana* (Tratamiento 2: 2 nauplios/mL). Se utilizó un electrodo de oxígeno de alta sensibilidad (tipo Clark) acoplado a un amplificador Stratkelvin (Rosas *et al.*, 1995), así como un colorímetro (Hunter y Uglow, 1993), acoplado a una válvula de flujo para la medición de los niveles de amonio en cámaras respirométricas de 250 L donde fueron colocadas las larvas individualmente. Los resultados obtenidos demuestran el sustrato metabólico cambia en

dependencia del tipo de dieta (Figura 5a). Como se puede apreciar, este cambio es particularmente más importante después de PL7, donde la combinación de algas y artemia favorecen sustratos metabólico mezclados. Tal y como se esperaba, los resultados pusieron también en evidencia que a medida que los organismos se desarrollan la excreción nitrogenada disminuye, indicando que los camarones alimentados con alimento vivo canalizan de manera más efectiva las proteínas hacia la formación de biomasa (Fig. 5b).

A

Relación O:N experimentos 1 y 2



B

Pesos secos (mg) experimentos 1 y 2

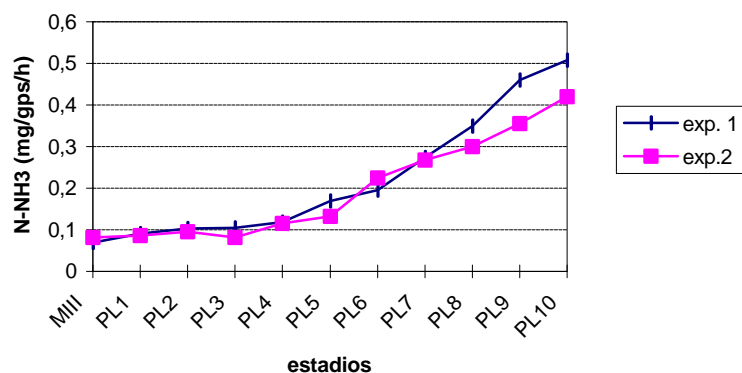


Figura 5. Variaciones de la relación O:N (A) y de la excreción nitrogenada (B) de larvas y postlarvas de camarón blanco *P. setiferus* alimentados con dos tipos distintos de alimento vivo. Combinación de algas y nauplios de artemia y nauplios de artemia

En estudios recientes se ha demostrado que las larvas Misis y los primeros estadios de Postlarva pasan por un periodo de transición en el cual los animales experimentan una serie de cambios en la actividad enzimática de las enzimas digestivas. Estos ajustes están representados por una disminución de las proteasas y un aumento de las lipasas las cuales son las principales responsables del aumento del O:N en estos estadios (Lovett y Felder 1990; Rosas et al., 1995).

8. Efecto de los niveles de carbohidratos en la excreción nitrogenada de juveniles *P. stylirostris*.

(Carlos Rosas¹, Gerard Cuzon², Pierret Trilles², Claud Soyez²; 1. Fac. de Ciencias, UNAM; 2. Aquacop, IFREMER Tahiti).

Tal y como se mencionó anteriormente, los carbohidratos juegan un papel importante en el metabolismo energético de los camarones y están vinculados muy estrechamente con el metabolismo de las proteínas. En los crustáceos decápodos los carbohidratos son los precursores para la formación de la quitina y a través del metabolismo de la glucosa se forman diversos aminoácidos (Fig. 1). Esta reacción es reversible pudiendo formar glucosa a partir de la degradación de aminoácidos a través de vías gluconeogénicas. Debido a que los camarones no cuentan con muchos sitios en los cuales puedan almacenar las sustancias de reserva, los carbohidratos son procesados para formar primero glucógeno desde el cual la glucosa es utilizada para la formación de aa, como fuente de energía metabólica o como quitina. En general se sabe que los camarones peneidos tienen una capacidad limitada para usar los carbohidratos de la dieta, fundamentalmente debido al efecto que producen en la absorción de los aa de origen dietético (Alava y Pascual., 1987; Shiao y Peng, 1992). Estudios recientes han demostrado que la asimilación de los carbohidratos depende del origen, habiéndose obtenido mejores resultados en dietas formuladas con almidón (Cousin, 1995).

Con el objeto de establecer la relación entre niveles de carbohidratos y la excreción nitrogenada juveniles de *P. stylirostris* fueron alimentados por 20 días con cuatro dietas prácticas diferentes las cuales tenían concentraciones de 1, 10, 21 y 33% de carbohidratos, 40, 33, 26 y 18 % de proteínas y 7% de lípidos. La excreción nitrogenada fue medida en cámaras cerradas de flujo continuo y por diferencia entre los niveles de amonio en el agua a la entrada y a la salida de cada cámara. Las mediciones se hicieron en animales mantenidos por 12 horas en ayuno (pre-prandial) y después de haber alimentado (post-prandial).

Los resultados indican que el metabolismo nitrogenado de los animales está estrechamente vinculado con el nivel de proteínas de la dieta, mostrando valores más altos en los animales alimentados con las dietas bajas en carbohidratos y altas en proteínas (Fig. 6). Así mismo se observó que la diferencia entre los niveles de excreción pre y post-prandial disminuye en relación al aumento de los carbohidratos de la dieta. Estos resultados ponen en evidencia que los camarones utilizan las proteínas dietéticas cuando estas se encuentran en exceso en la dieta.

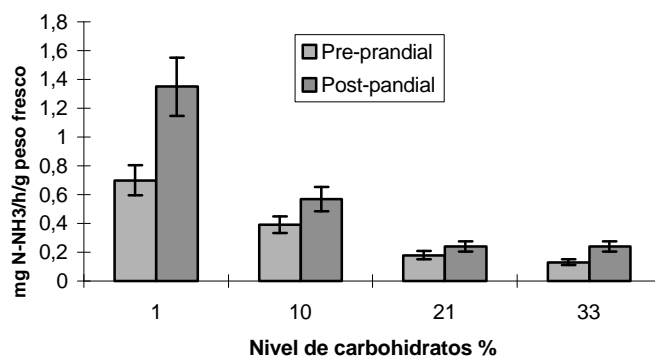


Figura 6. Efecto de los niveles de carbohidratos dietéticos en la excreción nitrogenada de juveniles de camarón azul *P. stylirostris*

9. Efecto de los niveles de carbohidratos dietéticos en la excreción nitrogenada de juveniles *P. setiferus* y *P. vannamei*. (Carlos Rosas¹, Gabriel Taboada¹, Gerard Cuzon², Gabriela Gaxiola¹ y Alain Van Wormdut³. 1. Fac. de Ciencias, UNAM; 2. Aquacop, IFREMER Tahiti, 3. Laboratoire de Biologie Marine du College de France, France).

Siguiendo un diseño experimental similar al anterior se elaboraron cuatro dietas con diferentes niveles de carbohidratos (6, 15, 23 y 32%, en base seca). Estas dietas fueron suministradas a juveniles de *P. setiferus* y *P. vannamei* de 1.5 g de peso vivo en promedio durante 3 semanas, después de las cuales se evaluaron algunas respuestas fisiológicas. Los animales fueron colocados individualmente en respirómetros de flujo de 250 mL y mantenidos a 28°C y salinidad de 35o/oo. El consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada fue evaluada tanto en animales en ayuno (12 h) como en camarones alimentados. Estas mediciones permitieron calcular el sustrato energético que los animales utilizan en relación al tipo de dieta suministrada. De acuerdo con Mayzaud y Conover (1988) la razón O:N puede ser usada para identificar el sustrato energético utilizado por los organismos acuáticos bajo una condición determinada. Con base en las rutas bioquímicas de la degradación de nutrientes, estos autores propusieron que una razón O:N entre 3 y 16 representa el uso de proteínas como sustrato energético. Conforme la razón O:N aumenta el sustrato energético cambia apareciendo los lípidos los cuales llegan a ser el 50% del sustrato energético cuando los valores de O:N están entre 50 y 60. Valores mayores representan sustratos mezclados donde, en la medida que el O:N aumenta las proteínas disminuyen y aumentan los lípidos y los carbohidratos. Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el O:N de los animales alimentados con los diferentes tipos de alimento está en función de los niveles de carbohidratos y proteínas de la dieta (Figura 7.)

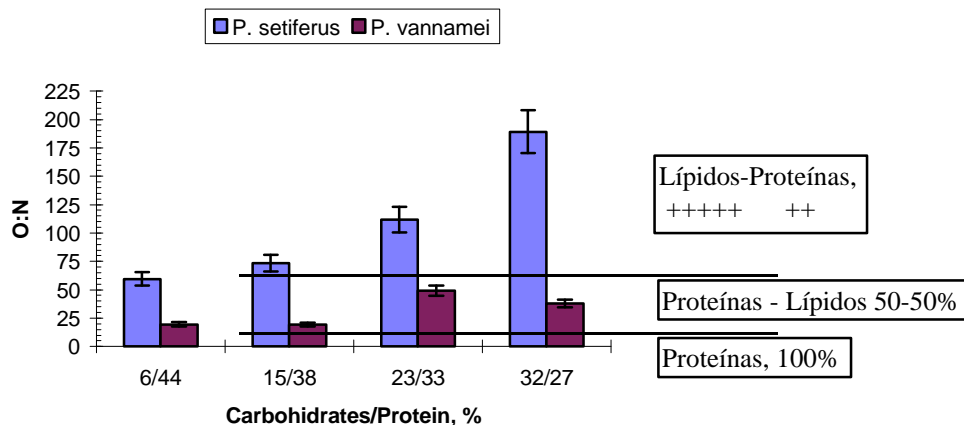


Figura 7. Efecto de los niveles de carbohidratos y proteínas dietéticas en la razón O:N de juveniles de *P. setiferus* y *P. vannamei*

En ambas especies se observó que el sustrato metabólico de los animales cambia en función de los niveles de carbohidratos y proteínas de la dieta. En *P. setiferus* se observó un cambio entre sustratos energéticos mezclados de proteína-lípidos a lípidos proteína, con los valores más altos en los camarones alimentados con una proporción de 32% de carbohidratos y 27% de proteína. En *P. vannamei* aunque también el sustrato metabólico cambia con la dieta en esta especie fue más evidente el uso de sustratos energéticos mezclados con predominancia proteica.

Las diferencias entre especies ha sido interpretada en el sentido tanto de las diferencias en los requerimientos como de la forma en que cada una de ellas utilizan los aminoácidos como fuente de energía. Al parecer *P. stiferus* tiene la tendencia a utilizar mejor los sustratos energéticos vinculados a la mezcla lípidos-proteínas lo cual pudiera estar bien relacionado con los hábitos preferentemente omnívoro-herbívoros de la especie.

10.-Conclusiones

La excreción nitrogenada, al igual que otras respuestas fisiológicas cambia con el tipo de alimento, debido principalmente a que en los crustáceos y en particular en los camarones peneidos, las proteínas y su metabolismo son esenciales para la vida de estos organismos. La constitución proteica del cuerpo de los camarones es una evidencia directa de la importancia que tiene el metabolismo del nitrógeno. Aunque el metabolismo nitrogenado ha sido poco considerado en los estudios fisiológico-nutricionales es evidente que los datos que reportan pueden coadyuvar a una mejor comprensión de los requerimientos nutricionales de las especies comerciales de camarones peneidos. El uso de métodos de medición precisos que permitan la evaluación confiable del amonio producido por organismos aclimatados en cámaras respirométricas adecuadas, seguramente permitirá avanzar con pasos sólidos en la comprensión del metabolismo del nitrógeno y de su integración hacia el crecimiento. Por otro

lado, es evidente que se requiere de una mayor cantidad de estudios básicos que aborden los mecanismos bioquímicos que intervienen en la síntesis, degradación, transporte, y excreción de los productos nitrogenados. A la fecha muchos de los mecanismos han sido descritos en insectos o en mamíferos. La comprensión adecuada de estos mecanismos seguramente permitirá establecer con mayor precisión las vías metabólicas, coadyuvando al manejo de los factores de crecimiento proteico que tanto interesan a los productores de crustáceos cultivables.

Referencias:

- Akiyama, D.M., Dominy, W.G., and Lawrence A.L.**, 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. Am Soybean Assoc., AQ32: 35 pp
- Alava, V.R., y Lim, C.**, 1983. The quantitative dietary protein requirements of *penaeus monodon* juveniles in controlled environment. Aquaculture, 30: 53-61.
- Alava, V.R., y Pascual F.P.**, 1987. Carbohydrate requirements of *penaeus monodon* (*Fabricius*) juveniles. Aquaculture 61: 211-217.
- Allan G.F., y Smith D.S.**, 1998. Recent nutrition research with Australian penaeids. Reviews in Fisheries Science 6(1&2): 113-127.
- Ali, S.A.**, 1994. Comparative evaluation of four purified dietary protein for juvenile *Penaeus indicus*. J. Aqua. Trop. 9: 95-108
- Andrews, J.W., Sick, L.V. and Baptiste, G.J.**, 1972. The influence of dietary protein and energy level on growth and survival of penaeid shrimp. Aquaculture, 1: 341-347.
- Aquacop**, 1978. Study of nutrition requirements and growth of *Penaeus merguensis* in tanks by means of purified and artificial diets. Proc. World Mariculture. Soc., 9: 225-234.
- Aquacop y Cuzon, G.**, 1992. Preliminary experiments on nutritional requirements of the Australian penaeid *Penaeus esculentus*. In: Proc. Aquaculture Nutrition Workshop, Salamander Bay, April 15-17, 1991: 92-94
- Bautista, M.N.**, 1986. The response of *Penaeus monodon* juveniles to varying protein/energy ratio in test diets. Aquaculture 53: 229-242.
- Beers, J. R.**, 1967. The species distribution of some naturally occurring quaternary ammonium compounds. Comp. Biochem. Physiol., 21:11-21.
- Bhaskar, T.I.C.J. and Ali S.A.**, 1984. Studies on the protein requirements of postlarvae of the penaeid prawn *Penaeus indicus* H. Milne Edwards, using purified diets. Indian J. Fish 31(1): 74-81
- Boonyaratpalin M.**, 1998. Nutrition of *penaeus merguensis* and *P. indicus*. Reviews in Fisheries Science 6(1&2): 69-78
- Cameron J. N., Batterton C.V.**, 1978. Antennal gland function in the fresh water crab *Callinectes sapidus*: water, electrolyte, acid base and ammonia excretion. J. Comparative Physiol. 123b: 143-148.
- Charmantier, G., Charmantier M., Voss-Foucart M.F., and Jeuniaux C.**, 1976. Les acides aminés libres de l'hémolymphe des isopods marins *Sphaeroma hookeri*, *Sphaeroma serratum* (Flabellifera) et *Idotea balthica* (Valvifera). Arch. Int. Physiol. Biochim. 84: 989-996.
- Chen, H.Y., Zein-Eldin Z. y Aldrich D.V.**, 1985. Combined effects of shrimp size and dietary protein source on the growth of *Penaeus setiferus* and *P. vannamei*. Journal of The World Mariculture Society 16: 288-29
- Chen H.Y., Leu Y.T., Roelants I.**, 1992. Quantification of arginine requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon*, using microencapsulated arginine. Marine Biology 114: 229-233.
- Chen H.Y., Wu F.C., and Tang S-Y.**, 1994. Sensitivity of transketolase to the thiamin status of juvenile marine shrimp (*Penaeus monodon*). Comp. Biochem. Physiol., 109A: 655-659.
- Chen H.Y.**, 1998. Nutritional requirements of the black tiger shrimp: *Penaeus monodon*. Reviews in Fisheries Science 6(1&2): 79-95.
- Claybrook, D.L.**, 1983. Nitrogen metabolism. In Mantel L.H. (ed). The biology of Crustacea Vol 5. Internal Anatomy and physiological regulation. Academic Press, New York: 163-213.
- Colvin, P.M.**, 1976. The effect of selected seed oils on the fatty acid composition and growth of *Penaeus indicus*. Aquaculture, 8: 81-89.

- Collatz, K.G., and Mommsen T.**, 1974. The structure of the emulsifying substances in several invertebrates. *J.Comp. Physiol* 94B: 339-352.
- Cowey C.B., and J.R.M., Forster.** 1971. The essential amino-acid requirements of the prawn *Palaemon serratus*. The growth of prawns on diets containing proteins of different amino-acids composition. *Marine Biology* 10: 77-81.
- Cowey C.B., y Sargent, J.R.,** 1979. Nutrition. In: Hoar W., and Randall D. eds. *Fish Physiology Vol VIII*. Academic press, London: 1-69.
- Cuzon, G., y Aquacop.,** 1998. Nutritional review of *Penaeus stylirostris*. *Reviews in Fisheries Science* 6(1&2): 129-141.
- Dall, W.,** 1971. The role of homarine in decapod crustacea. *Comp. Biochem. Physiol.*, 39(B): 31-41.
- Dall, W.,** 1975. The role of ninhydrin-positive substances in osmoregulation in the western rock lobster *Panulirus longipes* (Milne Edwards). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 19: 43-58.
- Dall, W., and D.M. Smith,** 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture* 55: 23-33.
- Divakaran, S.,** 1994. An evaluation of polyamino acids as an improved amino acid source in marine shrimp *Penaeus vannamei* feeds. *Aquaculture* 128: 363-366.
- Deshimaru, O. y Yone Y.,** 1978. Optimum level of dietary protein for prawn. *Bull. Jpn., Soc., Sci. Fish.*, 44(12): 1395-1397.
- Fox J.M., Lawrence A.L., Li-Chan E.,** 1995. Dietary requirements for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid source. *Aquaculture* 131: 279-290.
- Gallardo N., González R., Carrillo O., Valdés O., Forrelat A.,** 1989. Una aproximación a los requerimientos de amino ácidos esenciales de *Penaeus schmitti*. *Revista de Investigaciones Marinas* 10: 259-267.
- García, T. and Galindo J.** 1990. Requerimiento de proteína en las postlarvas de camarón blanco *Penaeus schmitti*. *Revista de Investigaciones Marinas* 11: 247-250.
- García T., G. Gaxiola, T. García-Galano, Pedroza R., Soto L.A., López N., y Rosas C.,** 1998. Influencia de las proteínas dietéticas sobre el crecimiento, la sobrevivencia y el rendimiento de las postlarvas del camarón blanco (*Penaeus setiferus*) y del camarón rosado (*P. duorarum*) del Golfo de México. *Aquatic 2: Revista Electrónica*.
- Gaxiola, G.** 1991. Requerimientos nutricionales de las postlarvas del camarón blanco *Penaeus schmitti*: Relaciones Proteína/Energía y Proteína Animal/Vegetal. Tesis de Maestría Universidad de La Habana, Cuba: 150 pp.
- Gaxiola, G.,** 1994. Requerimientos nutricionales de las postlarvas de *Penaeus setiferus* y *P. duorarum* (Crustacea: Penaeidae). Ph. D. Thesis. Facultad de Ciencias, UNAM: 110 p.
- Gerard, J.F., and Gilles R.,** 1972. Free amino acids pool in *Callinectes sapidus* (Rathbun) tissue and its role in the osmotic intracellular regulation. *J. exp. Mar. Biol. Ecol* 10: 125-136.
- Gopal, C., y Raj R.,** 1993. Nutritional studies in juvenile *Penaeus indicus* with reference to protein and vitamin requirements. *CMFRI Special publication* 56: 15-23.
- Hew, M., and G. Cuzon.** 1982. Effects of dietary lysine and arginine levels and their ratio on the growth of *Penaeus japonicus* juveniles. *J. World Maricult. Soc.*, 13: 154-156.
- Hewitt, D.R.,** 1992. Effects of dietary protein level on protein turnover in the brown tiger shrimp *Penaeus esculentus*. In: *Proc. Aquaculture Nutrition Workshop, Salamander Bay, April 15-17, 1991*: 77-81.
- Hunter D.A., and Uglow R.F.,** 1993. A technique for the measurement of total ammonia in small volumes of seawater and hemolymph. *Ophelia* 37(1): 41-50
- Hysmith, B.T., Booth, J.R., Cook, H.L. y Mies W.L.** 1972. A study of the effects of feeding synthetic diets to brown shrimp (*Penaeus aztecus*). *Proceedings of The World Mariculture Society*. 3: 365-387.
- Kanazawa, A., Teshima S., Matsumoto S., y Nomura T.,** 1981. Dietary protein requirement of the shrimp *Metapenaeus monoceros*. *Bull Jpn., Soc., Sci. Fish* 47(10): 1371-1374.
- King., F.D., Cucci, T.L., and R.R. Brigidare.,** 1985. A pathway of nitrogen metabolism in marine decapod crabs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 80B: 401-403
- Koshio, S., Teshima S., Kanazawa A., and Watase, T.,** 1993. The effect of dietary protein content on growth, digestion efficiency and nitrogen excretion of juvenile kuruma prawns, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 113: 101-104.
- Kormanik G.A., and Cameron, J.N.,** 1981a. Ammonia excretion in the sea-water blue crab (*Callinectes sapidus*) occurs by diffusion and not $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ exchange. *J. Comp. Physiol.* 141: 457-462.

- Kormanik G.A., and Cameron, J.N.**, 1981b., Ammonia excretion in animals that breath water: A review. *Marine Biology Letters*, 2: 11-23
- Lee, D.L.**, 1971. Studies on protein utilization related to growth in *Penaeus monodon*. *Aquaculture (Tungkang marine Laboratory, Taiwan)* 1: 1-13
- Lin, C.S., Chang B.G., Su M.S., y Shitada K.**, 1982. Requirement of white fish meal protein in diet of grass shrimp, *Penaeus monodon*. *China Fish Monthly* 337: 13-15.
- Maetz J., and F. García Romeu**, 1964. The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a freshwater fish *Carassius auratus*. II Evidence for $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$ and $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanges. *J. Gen. Physiol.*, 47: 1209-1227.
- Magnum, C.P., Silverthorn, S.U., Harris J.L., Towle, D.W., and Krall, A.R.**, 1976. The relationship between blood pH, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *J. expe. Zool.* 195: 129-136.
- Maguire, G.B., y Hume I.D.**, 1982. A study of the nutritional requirements of school shrimp *metapenaeus macleayi* (haswell) in some Australian brackish water farming ponds. *Aquaculture* 29: 261-278.
- Mayzaud P., and R.J. Conover**, 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology (progress series)* 45: 289-302.
- Millamema O.M., Bautista M.N., Reyes O.S., y Kanazawa A.**, 1997. Threonine requirements of juvenile marine shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 151: 9-14.
- Miller R., Leaf G., and Usherwood P.N.R.**, 1973. Blood glutamate in arthropods. *Comp. Biochem. Physiol* 44A: 991-996.
- Netherton, J.C. and Gurin S.** 1980. Biosynthesis in vivo of homarine and pyridine carboxylic acids in amrine shrimp. *J. Biol. Chem.* 255: 9549-9551.
- Pequeux, A., and Gilles R.**, 1981. Na^+ fluxes across isolated perfused gills of the chinese crab *Ericheir sinensis*. *J. Exp. Biol.*, 92: 173-186.
- Pedrazzoli A., Molina C., Montoya N., Townsend S., León-Hing A., Paredes Y., y Calderón J.**, 1998. Recent advances on nutrition research of *Penaeus vannamei* in Ecuador. *Reviews in Fisheries Science* 6(1&2): 143-151.
- Regnault, M.**, 1986. Excretion d'azote chez les crustacés influence de l'état physiologique. *Cahiers de Biologie Marine* 27: 361-377.
- Rosas C., Sanchez A., Díaz E., Soto L.A., Gaxiola G., Brito R., Baes M.I., y Pedroza R.**, 1995. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effects of protein level on substrate metabolism. *Aquatic Living Resources* 8: 161-169
- Rosas C., Sanchez A., Díaz E., Gaxiola G., Brito R.**, 1996. Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae. *J. of the World Aquaculture Soc.*, 27(1): 92-102
- Rosas C., Martínez E., Gaxiola G., Brito R., Sánchez A., and Soto L.A.**, 1998. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* juveniles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* (in press).
- Rosas C., Martínez E., Gaxiola G., Brito R., Díaz-Iglesia E., y Soto L.A.**, 1998. The Effect Of Dissolved Oxygen On The Energy Balance And Survival Of *Penaeus setiferus* Juveniles. *Merine Ecology (progress series)*. In press.
- Sedgewick, R.W.**, Influence of dietary protein and energy on growth, food consumption and feed conversion efficiency in *penaeus merguensis* de Man. *Aquaculture* 16: 7-30.
- Shiau S-Y., Lin S-F., Lu L-J.**, 1991. Effects of different types of wheat flour in feed for grass prawn *Penaeus monodon*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57(4): 705-710.
- Shiau S-Y., and Peng, C-Y.**, 1992. Utilization of different carbohydrates at different dietary protein levels in grass prawn, *Penaeus monodon*, reared in sea water. *Aquaculture* 101: 241-250.
- Shiau, S.Y., y Chou B.S.**, 1991. Effects of dietary protein and energy on growth performance of tiger shrimp *Penaeus monodon* reared in seawater. *Nippon Suisan gakkaiishi* 57: 2271-2276
- Shewbart, K.L., Mies, W.L., and Ludwig., P.D.**, 1972. Identification and quantitative analysis of the amino acids present in protein of the brown shrimp *Penaeus aztecus*. *Marine Biology* 16: 64-67
- Schmitt A.S.C. and Uglow R.F.**, 1997b. Hemolymph constituent levels and ammonia efflux rates of *Nephrops norvegicus* during emersion. *Marine Biology* 127: 403-410.

- Schmitt A.S.C., and Uglow R.F.**, 1997a. Effect of ambient ammonia levels on blood ammonia, ammonia excretion and herat and scaphogathite of *Nephrops norvegicus*. *Marine Biology* 127: 411-418.
- Sick, L.V., Andrews J.W y White D.B.** 1972. Preliminary studies of selected environmental and nutritional requirements for the culture of penaeid shrimp. *Fisheries Bulletin* 70, 101-109.
- Sick, L.V., y Andrews J.W.** 1973. The effect of selected dietary lipids, carbohydrates and protein on the growth, survival and body composition of *Penaeus duorarum*. *Proceedings of the World Mariculture Society* 4, 263-276.
- Smith D.M., and W. Dall.**, 1991. Metabolism of proline by tiger prawn *Penaeus esculentus*. *Marine Biology* 110: 85-91.
- Taboada G., Gaxiola G., Garcia T., Pedroza R., Sánchez A., Soto L.A. y Rosas C.**, 1998. Oxygen Consumption And Ammonia-N Excretion Related To Protein Requirements For Growth Of *Penaeus setiferus* (L) Juveniles. *Aquaculture Research*: in press.
- Teshima, S., Kanazawa A., y Yamashita M.**, 1986. Dietary value of several proteins and supplemental aminoacids for larvae of the prawn *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 51: 225-235.
- Teshima S., Kanazawa A., y Koshio S.**, 1992. Supplemental effects of methionine enriched plastein in *Penaeus japonicus* diets. *Aquaculture*, 101: 85-93.
- Torres C.**, 1973. Variations du pool des acides aminés de muscle abdominal de *Penaeus keraturus* au curs du cycle d'intermu, et au curs du jêune. *Comp. Biochem. Physiol* 45: 1-12.
- Venkataramiah, A., G.J. Lakshmi and G. Gunter**, 1975. Effect of protein level and vegetable matter on growth and food conversion efficiency of brown shrimp. *Aquaculture* 6: 115-125.