

# Factores que Afectan la Excreción Nitrogenada en Teleósteos y Crustáceos

Sadasivam J. Kaushik

Fish Nutrition Laboratory, Unité Mixte INRA-IFREMER, Station d'Hydrobiologie, INRA  
64310 Saint-Pée-sur-Nivelle, France, Tel: 33 559 515 900  
E-Mail:kaushik@st-pee.inra.fr

---

## Resumen

Los crustáceos y teleósteos son amoniotéticos, comprendiendo el amonio entre el 70 y el 90% de los catabolitos nitrogenados. La ureagénesis y excreción de urea es relativamente pequeña en ambos grupos. La excreción de nitrógeno endógeno (ENE) bajo condiciones de ayuno es relativamente constante para una especie dada, a ciertas condiciones medioambientales. Varios factores del medio ambiente, así como los factores bióticos afectan la excreción de nitrógeno amoniacal. En animales alimentados, las proporciones de excreción de nitrógeno amoniacal están relacionadas directamente a los niveles de proteína digerible consumida y a la calidad de la proteína. En cultivos donde se usa alimentación, la optimización de la tasa proteína digerible y energía digerible, así como el perfil de aminoácidos dietéticos, son esenciales para reducir las pérdidas de nitrógeno y mejorar la utilización de la proteína. El enfoque nutricional ha demostrado ser eficaz para reducir las descargas de nitrógeno en el cultivo de salmónidos. Ese tipo de enfoques son muy aplicables a otros teleósteos y crustáceos.

## Introducción

En el cultivo de organismos acuáticos, la toxicidad de algunos de los compuestos nitrogenados como el amonio y especialmente de nitritos es un problema mayor que debe ser tratado (Colt y Armstrong, 1981). El rango de tolerancia varía entre las especies. Niveles subletales de esos compuestos en el ambiente acuático incluso pueden provocar un crecimiento reducido, daño a branquias y tejidos epidérmicos y por consiguiente mayor susceptibilidad a patógenos. Dado que los peces y los crustáceos son principalmente amoniotéticos, los estudios sobre el metabolismo y la excreción del nitrógeno cobran importancia para el mantenimiento de la calidad del agua en acuicultura. El sustentabilidad de la acuicultura depende del conocimiento más preciso de la dinámica de flujo de nutrientes, sobre todo bajo condiciones de cultivo en estanques. Varias revisiones que tratan sobre el metabolismo y excreción de nitrógeno en crustáceos (Claybrook, 1983; Regnault, 1987) y en teleósteos (Van Waarde, 1983; Cowey y Walton, 1989; Wilkie, 1997) están ya disponibles. En las páginas que siguen, se hace un esfuerzo por resumir y posiblemente actualizar la información disponible desde un punto de vista comparativo para estos dos grupos de animales acuáticos. Se presta atención especial a la importancia de factores nutricionales en la excreción de nitrógeno.

## Síntesis y excreción de catabolitos del metabolismo del nitrógeno

La degradación de las proteínas y ácidos nucleicos, endógenos o dietéticos, llevan a la formación y excreción de diferentes compuestos nitrogenados. El amonio es el mayor producto final del catabolismo de nitrógeno en teleósteos y crustáceos, y representa aproximadamente del 70 al 95% del nitrógeno total excretado. En ambos grupos, la excreción de nitrógeno (N) en forma de urea es relativamente baja (< 10-15% de la excreción total de N). Trazas de otros compuestos tales como ácido úrico y el óxido de trimetil-amina (TMAO) también se han encontrado en la excretas de peces y crustáceos, aunque su significado cuantitativo es limitado. En los primeros trabajos sobre crustáceos (Delaunay, 1931), se consideraba que los aminoácidos eran el mayor grupo de catabolitos nitrogenados. A pesar de que se encuentran cantidades pequeñas de aminoácidos libres en las excretas de ambos grupos, es claro que esto es debido a un inadvertido exceso en el suministro de nitrógeno dietario y que la excreción de los aminoácidos tiene un papel más de osmoregulador, que reflejar el catabolismo de la proteína en estos animales acuáticos.

### Amoniogénesis y eliminación

El amonio se forma principalmente del catabolismo de aminoácidos. La mayoría del  $\text{NH}_3$  producido aparece en el hígado o el hepatopáncreas. Tres principales procesos (desaminación directa, trans-desaminación de aminoácidos y ciclo de nucleótidos de purina) están envueltos en la formación del amonio en teleósteos y crustáceos. La desaminación directa se limita a algunos aminoácidos. El proceso de trans-desaminación involucra un traslado del grupo amino a un aceptor ceto-ácido con la formación de un ceto-ácido y ácido glutámico que son oxidativamente desaminados por la glutamato deshidrogenasa (GDH) para formar amonio. Este proceso es generalmente reconocido como el más importante en la amoniogénesis en teleósteos (Cowey y Walton, 1989). A pesar de controversias muy tempranas, un esquema similar parece también ser válido en crustáceos (Regnault, 1987). En algunas especies de crustáceos (*Crangon crangon*), la directa desaminación oxidativa del glutamato por la glutamato deshidrogenasa (GDH) es suficiente para explicar toda la excreción del amonio (Batrel y Regnault, 1985).

En teleósteos, se forma también amonio en músculo esquelético por el ciclo de nucleótidos de purina, la importancia es relativa ya que puede ser modificado por los niveles de oxígeno ambiental (Van Waarde, 1983). También se conocen crustáceos que poseen el sistema uricolítico completo, aunque su contribución para la producción total del amonio sería pequeña (Regnault, 1987). Algunos estudios también han indicado que la purina dietaria y nucleótidos de pirimidina afectan la tasa de excreción del amonio en *Artemia* (Hernanoderona y Kaushik, 1983; 1985), aunque juegan un papel menor en la producción total del amonio.

### Ureagénesis

En teleósteos y crustáceos, cuantitativamente, la excreción de urea es pequeña. También se conocen tres vías diferentes para la formación de urea: ciclo ornitina-urea, catabolismo de arginina y degradación de nucleótidos de purina. Ambos grupos parecen carecer de un ciclo de urea totalmente funcional. Aunque las actividades de algunas de las enzimas involucradas por el ciclo de la ornitina-urea se han detectado en ambos grupos (Schoeffeniels y Gilles, 1970; Goldstein, 1972), la ureagénesis a través de este ciclo, es dudosa. Además, la arginina es un aminoácido esencial en teleósteos (NRC, 1993) y crustáceos (Millamena *et al.* 1998b). En teleósteos, el rompimiento de nucleótidos purina ha sido propuesto como la principal fuente de urea (Vellas y Serfaty, 1974).

Bajo algunas condiciones (alcalinidad alta), la síntesis de urea se ha demostrado en algunos teleósteos (ver abajo). En todos los teleósteos y crustáceos estudiados hasta ahora, la tasa de excreción del amonio muestra patrones postprandiales definidos, mientras que la excreción de urea no varía mucho durante el día, independientemente de los cambios en las condiciones tróficas. Una excepción a esto se ha visto en el turbot (rodaballo), un pez plano marino en el que la excreción de urea, aunque cuantitativamente pequeña, parece mostrar un patrón nocturno definido y difiere notoriamente de los patrones de excreción de urea de otros teleósteos estudiados hasta ahora (Dosdat *et al.* 1995;1996).

### **Eliminación de productos de excreción**

La mayor parte del amonio producido se excreta a través del epitelio branquial en teleósteos y crustáceos, utilizando alguno de los tres posibles procesos: a) la difusión pasiva de iones  $\text{NH}_4^+$  contra un gradiente de concentración, b) mecanismos de intercambio que involucran captación de  $\text{Na}^+$  y eliminación de  $\text{NH}_4^+$ , y c) la difusión pasiva de  $\text{NH}_3$ . En ambos grupos, teleósteos y crustáceos, se sabe que existe el transporte activo de cationes y aniones. Mecanismos específicos de intercambio, situados sobre el borde apical y/o basal de las membranas del epitelio branquial, uniendo  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  externos con la excreción de cationes ( $\text{NH}_4^+$ ) y aniones ( $\text{HCO}_3^-$ ) también han sido establecidos (Maetz, 1972; Claybrook, 1983; Regnault, 1987). Sin embargo, falta por determinarse la importancia cuantitativa de tales mecanismos de intercambio en la eliminación del amonio formado. Actualmente, se reconoce que la difusión pasiva de  $\text{NH}_3$  por las branquias es cuantitativamente la ruta más importante de eliminación en teleósteos, y parecería que también en crustáceos. Se ha demostrado la excreción de amonio a través de la orina en teleósteos. Datos cuantitativos en cuanto al papel que juegan la piel (en el caso de peces) o la glándula antenular y región anterior del intestino (en el caso de crustáceos) en la eliminación de productos finales de nitrógeno son escasos (Kaushik *et al.* 1998). La excreción de urea también es continua y parece ocurrir principalmente a través de las branquias y secundariamente a través de la orina. Sin embargo, los datos de Dosdat *et al.* (1995) en el patrón nocturno de excreción de urea en un pez plano sugiere que, por lo menos en esta especie, la excreción urinaria de urea podría ser predominante.

### **Factores que afectan la excreción de nitrógeno**

#### **Ambiente Físico-Químico**

##### *Salinidad:*

Las diferencias básicas en la estructura y función de las branquias de peces de agua dulce y peces adaptados a agua de mar se reflejan probablemente en mecanismos distintos de excreción de amonio. Según Wilkie (1997), la probable ausencia del intercambio electroneutral de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  en el epitelio apical, hace el intercambio branquial de  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  improbable en peces de agua dulce. En peces marinos, la alta permeabilidad catiónica de las branquias permite mayor difusión de  $\text{NH}_3$ , así como de  $\text{NH}_4^+$ . En la trucha arco iris eurihalina, estudios de Wilson y Taylor (1992) indican que el intercambio activo  $\text{NH}_4^+/\text{H}^+$  predomina en agua dulce considerando que  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$  es el principal sistema de intercambio en agua de mar.

Mientras hay mucha información sobre los efectos de la salinidad en la excreción del amonio en crustáceos, hay muy pocos datos sobre teleósteos. También se necesita estudiar si los teleósteos estenohalinos responden de manera similar a las especies eurihalinas. Recientes

datos comparativos (Dosdat *et al.* 1996), sugieren que las tasas de excreción del N de amonio endógeno, así como los patrones postprandiales de excreción de amonio no muestran diferencias entre especies estenohalinas (besugo, cherna, gurrubata) o eurihalinas (trucha arco iris, trucha café) bien adaptadas al agua de mar. Almendras (1994b) encontró que la tasa peso-específica de excreción de amonio de juveniles de la cherna asiática (*Lates calcarifer*) en agua dulce fue más alta que la de aquellos mantenidos en agua de mar. Wood y Kelly (1995) observaron que el consumo de oxígeno y las tasas de excreción de amonio del besugo (*Sparus sarba*) cultivado en agua a una salinidad de 15 ‰ fue más bajo que aquellos a 7 ó 35 ‰ acompañado por un aumento en las tasas de crecimiento y de eficiencia proteica, sugiriendo que existe una reducción en el costo metabólico de osmoregulación a la salinidad intermedia.

Se ha reportado en *Penaeus monodon* (Chen *et al.* 1994) que la excreción de N-amonio disminuye al aumentar de la salinidad. Los crustáceos que viven en la zona de intermareas están sujetos a una fluctuación diaria en la salinidad. En *Crangon crangon*, las tasas de excreción de amonio aumentan durante las mareas del menguante, cuando hay un descenso en la salinidad de 35 a 25 ‰, y disminuyen cuando el perfil de salinidad se invierte (Regnault, 1983). Ella también observó que el efecto de un aumento en la salinidad, sobre la tasa de excreción de amonio, fue más marcado que el efecto de una disminución en la salinidad, sugiriendo probablemente la conservación de la proteína bajo condiciones de estrés. Dado que a bajas salinidades las tasas de excreción de amonio son altas, cualquier otro factor ambiental o nutricional adquiere un papel más importante a salinidades bajas, que en agua de mar (ver abajo).

Debería hacerse una distinción entre los efectos del desafío hiposmótico y aquellos debidos a una transferencia a medios hiperosmóticos. Transferir crustáceos marinos a agua dulce conlleva a incrementar las tasas de excreción de amonio, como respuesta al estrés hipotónico. Pero, en crustáceos de agua dulce sujetos a un aumento en la salinidad, las respuestas en términos de excreción de N son menos consecuentes. Según la mayoría de los datos de la literatura, parece ser que cambios agudos en la salinidad, inducen cambios notables en las concentraciones de aminoácidos libres en el plasma (los cuales juegan un papel importante de osmoregulación en peces y camarón) y por tanto en la tasa de excreción del amonio, mientras que en animales bien adaptados, los cambios en la respuesta llegan a ser menos notables. De manera similar, en situaciones en las que las tasas de excreción de amonio se incrementan significativamente, por ejemplo: después de la ablación unilateral del pedúnculo ocular, los efectos de cambios en salinidad del medio ambiente parecen tener poco efecto en juveniles de *Penaeus japonicus* (Chen y Chia, 1996). En consecuencia a lo anterior, y como lo sugirió Regnault (1987), la capacidad osmoreguladora de los animales determina los mayores cambios en las tasas de excreción de amonio.

#### *Temperatura:*

Generalmente, un aumento en la temperatura del agua lleva a un aumento en la tasa metabólica basal en todos los ectodermos. Bajo condiciones de ayuno, un aumento en la tasa catabólica, debido a un ascenso en la temperatura, se refleja en niveles mayores de excreción de N-amonio en teleósteos (Guérin-Ancey *et al.* 1976; Kaushik, 1980) y en crustáceos (Gerhardt, 1980; Chen y Kou, 1996b). Bajo condiciones de alimentación, dado que la ingesta voluntaria del alimento aumenta, consecuentemente hay un aumento en el gasto de energía, así como en la excreción de nitrógeno. Cuando la pérdida relativa de nitrógeno se corrige, considerando el consumo de N, esta no parece ser muy diferente en la trucha arco iris engordada a 8 ó 18°C (Kaushik, 1980). Schmitt *et al.* (1992) reportaron que en *Crangon crangon*, el efecto crónico de un cambio de temperatura sobre las tasas de excreción de

nitrógeno era más evidente a salinidades bajas (18 y 25 ‰) que en agua marina. Estos datos, así como aquellos de Wilson y Taylor (1992) en trucha arco iris, sugieren fuertemente que el perfil natural de salinidad tiene que ser considerado al analizar datos de los efectos de otros parámetros ambientales sobre la excreción del amonio.

#### *pH:*

La excreción branquial de amonio, dióxido de carbono y de bicarbonatos son el resultado del catabolismo de aminoácidos que puede llevar a cabo los cambios perceptibles en pH a nivel de la interfase branquia-agua. Tales cambios en el pH pueden inducir cambios en las proporciones relativas de amonio ionizado o no ionizado liberado. Hay pocos datos sobre los efectos del cambio de pH ambiental (agudo o crónico) en la excreción de amonio. Cuando el langostino del agua dulce, *Macrobrachium rosenbergii*, se transfiere a aguas con niveles de pH altos, se ha observado un aumento en la tasa de excreción de urea (Chen y Kou, 1996a). Sin embargo, el langostino sigue siendo amoniotélico principalmente. En el caso de los peces, sólo una especie de tilapia *Oreochromis alcalicus*, que vive permanentemente en un ambiente alcalino (Lake Magadi, pH ~ 10), se le ha encontrado ser predominantemente ureotélica (Randall *et al.* 1989) con un aumento significativo en las actividades de las enzimas involucradas en la ureagénesis. Nuestros estudios (Kaushik *et al.* 1997) con otra especie de tilapia (*Tilapia niloticus*) mostraron que el pH del agua del medio tenía sólo un efecto menor en la excreción del amonio; sin embargo, una inducción de la actividad hepática de carbamil fosfato sintetasa (CPS) y de glutamina sintetasa (GNS) bajo condiciones alcalinas se detectó, conllevando a un aumento ligero en la excreción de urea. La información de los efectos de los niveles del pH en el ambiente acuático sobre la excreción de catabolitos nitrogenados y las actividades enzimáticas ureagénicas para otros peces y crustáceos cultivados bajo condiciones semi-intensivas en estanque serían de especial interés, sobre todo cuando las condiciones de pH del estanque pueden cambiar de manera significativa diurnamente, estacionalmente o debido a las prácticas de cultivo que involucran fertilización con nitrógeno orgánico e inorgánico.

#### *Amonio ambiental:*

Desde hace mucho tiempo se sabe que un aumento en los niveles de amonio ambiental lleva a un aumento en las concentraciones de amonio en la sangre o hemolinfa de teleósteos (Fromm y Gillette, 1968) y de crustáceos (Needham, 1957). Mientras que la captación de amonio del agua circundante está relacionada linealmente con la calidad de agua, los datos sobre los efectos consecuentes en las tasas de excreción de N-amonio en crustáceos son un poco polémicas. Altas concentraciones de amonio ambiental llevan a un trastorno de los sistemas de intercambio branquial de  $\text{Na}^+$  -  $\text{NH}_4^+$  en crustáceos (Chen *et al.* 1993) así como en teleósteos (Maetz, 1972). Algunos autores han observado que las tasas de excreción de N-amonio no son afectadas por los niveles de amonio ambiental (Regnault, 1987). Sin embargo a muy altas concentraciones de amonio ambiental, en algunas especies de peneidos se ha observado una inhibición en la excreción del amonio (Chen *et al.* 1994). Con el incremento del N-amonio ambiental, las concentraciones de otros catabolitos de nitrógeno además del amonio (urea, niveles de aminoácidos libres totales y taurina) también aumentaron en crustáceos (Chen *et al.* 1994). Un aumento en la ureagénesis y la excreción de urea se ha reportado en teleósteos (Wright, 1993), aunque en el turbot (rodaballo), la concentración de urea en el plasma disminuye con el incremento de los niveles de amonio ambiental no ionizado (Rasmussen y Korsgaard, 1998).

Tales cambios en las concentraciones de catabolitos internos y las tasas de excreción también reflejan hasta cierto punto los cambios en la permeabilidad de la membrana branquial a los cationes. Estudios de Cameron (1986) esclarecieron esto desde una perspectiva comparativa; bajo condiciones de altas concentraciones de amonio en el ambiente, los niveles de amonio interno (sangre, hemolinfa) aumentan rápidamente tanto en un teleósteo de agua dulce (bagre) como en un crustáceo marino, el cangrejo azul (*Callinectes sapidus*), con una disminución en la excreción de amonio. En este último sin embargo, ocurre una alcalosis rápida, mostrando que ningún sistema de intercambio de cationes es operacional en esta especie.

También parece existir una interacción entre la salinidad del agua y las concentraciones de amonio ambiental. En la trucha arco iris, la carga total de amonio en el plasma aumentó, durante la exposición a amonio ambiental, al incrementar la salinidad (Wilson y Taylor, 1992). Además, la difusión trans branquial de  $\text{NH}_4^+$  es considerada más importante como una ruta para la excreción del amonio en agua de mar que en trucha de agua dulce. Los incrementos de permeabilidad a  $\text{NH}_4^+$  también implicarían que la toxicidad del amonio será mayor en agua marina que en los peces de agua dulce o crustáceos.

Bajo condiciones *in situ* de cultivo de camarón en estanques, donde la densidad de la biomasa y las tasas de recambio de agua son conservadas dentro de los niveles normales, probablemente no hay ningún peligro de exceso en los niveles de amonio ambiental. Sin embargo, algunas consideraciones deben ser dadas para los posibles efectos por acumulación de amonio, especialmente cuando la salinidad del agua, la temperatura y los niveles de pH pueden variar considerablemente, afectando la proporción de amonio no ionizado (Trussell, 1972; Bower y Bidwell, 1978), y cuando las tasas de recambio de agua son pobres. El rango seguro de amonio no ionizado para diferentes camarones varía entre 0.02 y 0.24 mg  $\text{NH}_3\text{-N/L}$  (Ostrensky y Wasielesky, 1995) y para teleósteos marinos entre 0.1 a 3.4  $\text{NH}_3\text{-N/L}$  (Handy y Poxton, 1993).

Los niveles de N-nitrito ambiental igualmente modifican las tasas metabólicas y la excreción de N-amonio. En *Penaeus monodon* y *Penaeus japonicus*, la excreción de N-amonio y la presión parcial de oxígeno de la hemolinfa aumenta, mientras el pH de la hemolinfa,  $\text{HCO}_3^-$ , oxyhemocianina y los niveles de proteína disminuyen con el incremento de N-nitritos ambientales (Chen y Cheng, 1995). Bajo tales condiciones, los nitritos acumulados tras una exposición a nitritos ambientales afecta el metabolismo de nitrógeno y el equilibrio ácido-base a bajo pH de la hemolinfa.

#### *Los niveles de oxígeno disuelto y respiración aérea:*

En langostinos marinos y de agua dulce, las tasas de excreción de amonio no parecen ser modificadas por los niveles de oxígeno ambiental (Laxminarayana y Kutty, 1982). Sus datos muestran que dado que niveles bajos de oxígeno disuelto llevan a una disminución en la captación de oxígeno, la contribución de sustratos nitrogenados como fuente de energía aumenta significativamente. En teleósteos, bajo condiciones hipóxicas, la contribución del hígado a la producción de amonio total parece ser reducida, mientras que la del músculo esquelético es incrementada (Van Waarde, 1983). En especies como la carpa dorada, tolerante a la hipoxia, bajo condiciones anaeróbicas, a través de los diferentes mecanismos de amoniogénesis: (la desaminación de adenilatos vía desaminasa adenilato, desaminación del aspartato vía el ciclo de nucleótido purina, ruptura de alanina al etanol,  $\text{CO}_2$  y  $\text{NH}_3$ , y oxidación del glutamato) se mantiene a una tasa equivalente a la observada bajo las condiciones normóxicas.

Los crustáceos y algunos peces que viven en la zona de intermareas están sujetos a fluctuaciones en la exposición al aire. Bajo tales condiciones, algunos crustáceos parecen combatir el estrés hiperosmótico provocado por el incremento en las concentraciones de amonio en los fluidos corporales y la excreción disminuida de amonio, por la formación de glucosamina (Regnault, 1994). No hay este tipo de datos disponibles para peces de la zona de intermareas, pero los datos compilados por Saha y Ratha (1998) con teleósteos que respiran del aire, claramente muestran que el ureotelismo es una manera de contrarrestar un aumento excesivo de amonio dentro del cuerpo bajo circunstancias adversas por falta de suficiente agua.

### **Factores Bióticos**

#### *Peso del cuerpo:*

Desde hace mucho tiempo la relación entre peso del cuerpo y las tasas metabólicas se han demostrado en peces y crustáceos. Clifford y Brick (1978) observaron que las tasas de excreción de nitrógeno amonio peso-específico disminuyeron con el incremento del peso del cuerpo en *Macrobrachium rosenbergii* con un coeficiente de -0.764, casi similar a valores encontrados en teleósteos (0.6 a 0.8). Datos de Marangos *et al.* (1990) mostraron un peso-específico muy alto en la tasa de excreción del amonio en la post-larva de *Penaeus japonicus* comparada con camarones mas grandes. Incluso en crustáceos pequeños como la *Artemia*, se ha reportado una relación inversa entre el peso del cuerpo y las tasas de excreción del amonio (Nimura *et al.* 1991).

#### *Fases fisiológicas:*

Pocos estudios han medido la excreción de nitrógeno durante la embriogénesis, crianza y desarrollo larval de peces o crustáceos. Nuestros estudios (Kaushik *et al.* 1982 y Dabrowski *et al.* 1984) han mostrado que durante la crianza, hay una alza en la descarga de amonio. Este esquema parece válido para salmónidos, así como para larvas de peces marinos (Roennestad *et al.* 1992). Ningún dato cuantitativo parece estar disponible sobre crustáceos. La fase de intermuda es de particular interés en el caso de crustáceos, particularmente en términos de la proteína, y crecimiento, por consiguiente una tasa de excreción de N-amonio muy alta antes y después de la muda (Regnault, 1987).

Actualmente no hay en absoluto información sobre los posibles efectos del desarrollo gonadal en el metabolismo del nitrógeno y excreción en teleósteos. En crustáceos, se han estudiado con poco detalle los mecanismos neuroendocrinos involucrados con la ablación del pedúnculo ocular. La ablación del pedúnculo ocular o inyección de extractos del pedúnculo ocular parecen inducir a cambios significativos en la excreción de amonio (Raman *et al.* 1981) principalmente en relación con los cambios de otros parámetros osmoreguladores (Santos y McNamara, 1996).

#### *Factores de estrés relacionados:*

En animales cultivados, el manipuleo es un factor que se conoce como causante de cambios significativos en diversas funciones metabólicas. En crustáceos, el manipuleo ha mostrado un incremento significativo en los requerimientos de oxígeno y la tasa de excreción del amonio (Almendras, 1994a). De manera similar, en *Crangon crangon*, el estrés relacionado con el manipuleo provoca, dentro de los primeros minutos, un incremento en las concentraciones totales de amonio en la hemolinfa, así como un incremento de cinco veces la tasa de excreción de amonio (Hunter y Uglow, 1993). Otro punto digno de mencionarse, y que ha sido planteado

ya por Regnault (1987), es que bajo las condiciones experimentales, se presta muy poca atención a los efectos del ruido ambiental sobre los parámetros metabólicos. Datos cuantitativos sobre este aspecto en teleósteos aún no existen.

## **Cambios inducidos por la dieta**

### *Disponibilidad de comida o ayuno:*

Las tasas de excreción de nitrógeno endógeno (ENE) medidas generalmente en animales después de un corto período de ayuno son más bajas que en animales alimentados y representan el “turnover” o utilización de proteína del cuerpo para el mantenimiento de las funciones vitales. Esta tasa de ENE se sitúa entre 100 y 200 mg N/kg de peso corporal/día en la mayoría del teleósteos afectados por dos factores mayores: el peso del cuerpo y la temperatura del agua. Datos de Koshio *et al.* (1993) con el camarón kuruma (*P. japonicus*) sugiere que esta cantidad de ENE sería de aproximadamente 240 mg N/kg de peso corporal /día.

Cuando el período de ayuno es demasiado largo, el catabolismo de proteína del cuerpo lleva a grandes pérdidas de nitrógeno en teleósteos y crustáceos. En algunos casos, las tasas de ENE en crustáceos en ayuno resultaron ser más altas que en aquellos animales alimentados (Schmitt y Santos, 1998). Según Regnault (1987), en todos los crustáceos decápodos bajo condiciones de inanición, las tasas de excreción de N-amonio permanecen más altas que en los animales normales. Batrel y Regnault (1985) observaron en *Crangon crangon* que tras 7 días de ayuno, disminuyó significativamente (50%) la actividad de la glutamato deshidrogenasa (GDH), pero que no se notó ninguna disminución mayor en la actividad de la GDH cuando el período de ayuno se extendió a 17 días. La información referente al efecto de los factores dietarios sobre la actividad de la GDH está lejos de ser clara (Kaushik y Cowey, 1991). Se sabe que el historial nutricional reciente también influye en la tasa ENE de teleósteos (Kaushik y Médale, 1994) y de crustáceos (Koshio *et al.* 1993).

### *Suministro cuantitativo de la proteína:*

En teleósteos y crustáceos, se ha demostrado una relación directa entre la ingestión de N y la excreción de N-amonio. Bajo condiciones de alimentación, la excreción de nitrógeno total aumenta con la ingestión creciente de N en casi todos los teleósteos de agua dulce y marinos (Kaushik, 1980; el Dosdat *et al.* 1995; el Kaushik *et al.*, 1995; Forsberg, 1997; Chakraborty y Chakraborty, 1998). Datos de Rosas *et al.* (1996) y de Schmitt y Santos (1998) también muestran que la tasa de excreción de nitrógeno de amonio de *Penaeus sp.* Sigue a los niveles de proteína en la dieta, aunque la amplitud de las respuestas pudiera ser diferente entre las especies dependiendo de sus requerimientos proteicos y de sus capacidades de usar proteínas dietarias como fuente de energía. Incluso en especies como *Artemia*, estudios de Tanaka (1993) muestran una relación directa entre la ingestión de N y la excreción de N-amonio. Nosotros mostramos que en esta especie en particular, la excreción de N-amonio es afectada por el suministro dietario de purinas y pirimidinas. Tales efectos del nitrógeno no proteico de la dieta sobre la excreción de nitrógeno han sido poco estudiado en peces.

Los patrones postprandiales de la excreción de N-amonio también son comparables entre los teleósteos y los crustáceos. Koshio *et al.* (1993) observó que después de un período de alimentación de una hora, la excreción acumulada de amonio en un período subsecuente de 5 horas aumentó a medida que aumentó el contenido en proteína de la dieta, y que la excreción de amonio alcanzó un máximo dentro del primer período de 3 horas en todos los grupos de



organismos. En contraste, las tasas de excreción de amonio de camarones alimentados inicialmente con dietas conteniendo diferentes niveles de proteína, y privados de alimento por 24 h, fue constante, indicando que un período de inanición de 24 h eliminó las diferencias en las tasas de excreción de amonio debidas a la variación en el contenido de proteína en la dieta. Esto es sobre todo de interés particular al emprender estudios sobre los efectos de factores dietarios en las tasas de excreción de N-amonio. De hecho, algunos estudios (Cockroft y McLachlan, 1987) han reportado que no hay ninguna relación entre la ingestión de N y la excreción de N en camarón, probablemente estos resultados están ligados a problemas de control de la ingestión del alimento, así como a mediciones hechas después del pico máximo postprandial en la tasa de excreción del N-amonio.

*Calidad de la proteína del alimento y equilibrio de aminoácidos:*

La calidad de la proteína dietaria afecta significativamente la utilización de la proteína en todos los animales. Existe abundante información sobre dicho efecto, en términos de crecimiento y utilización de N en ambos grupos de animales acuáticos. El valor biológico de diferentes fuentes de proteína está íntimamente ligado a la composición en aminoácidos esenciales (AAE). Los peces y los crustáceos requieren los mismos diez aminoácidos esenciales. Con respecto a los requerimientos cuantitativos de crustáceos, la información disponible se limita más bien a pocos aminoácidos individuales tal como la lisina o la arginina (Fox *et al.* 1995; Millamena *et al.* 1998b). Una serie de datos sobre los requerimientos cuantitativos para los diez aminoácidos esenciales apenas se obtuvo recientemente para *Penaeus monodon* (Millamena *et al.* 1998a). Sus estudios también sugieren que un exceso en el suministro de aminoácidos en la dieta puede llevar a una disminución del crecimiento, con una definida respuesta cuadrática. Una comparación de datos disponibles sobre la composición general de aminoácidos del cuerpo del camarón muestran que no son muy diferentes de los de peces teleósteos.

En la trucha arco iris, los niveles de aminoácidos dietarios y desequilibrios de estos (Kaushik *et al.* 1988), afectan las tasas de excreción de amonio y urea. La inclusión de proteínas vegetales modifica el equilibrio de aminoácidos esenciales en las dietas de peces, y de esta manera se afecta la excreción de N-amonio en la trucha (Médale *et al.* 1998) y en la cherna (Díaz *et al.* 1998). Una mejoría en el equilibrio de aminoácidos, a través del suplemento con aminoácidos cristalinos, se ha observado desde hace tiempo en teleósteos y crustáceos. En salmónidos, se ha mostrado que una reducción significativa en las pérdidas de N (y también de fósforo) pueden ser logradas por el uso de dietas en las que la harina de pescado es reemplazada por proteínas vegetales, pero adecuadamente complementada con aminoácidos (Rodehutsord *et al.* 1994). Trabajos recientes en la evaluación de la calidad de la proteína en camarón también sugieren que la composición en aminoácidos de la dieta tiene un gran impacto en la utilización de la proteína. Datos de Ezquerro *et al.* (1998) mostraron que el crecimiento de *Penaeus vannamei* es muy influenciado por niveles de arginina dietaria. En este contexto, valdría la pena comprobar que si los niveles de arginina dietarios modifican las tasas de excreción de urea en éstos camarones.

Otros factores dietarios que mejoren la utilización de la proteína dietaria pueden afectar consecuentemente las tasas de excreción de nitrógeno. Estudios recientes por Giri *et al.* (1997) también han mostrado el pobre crecimiento del camarón kuruma (*P. japonicus*) observado en la ausencia de un suministro dietario de piridoxina, el cual también fue acompañado por una baja excreción de N-amonio. Cuando el suministro dietario de esta vitamina B se restauró por arriba de los niveles del requerimiento, la mejora global en la utilización de nitrógeno dietario fue acompañada por un aumento en la excreción de N-amonio.

### **Optimización de las proporciones de proteína digerible - energía digerible (PD/ED):**

La relación lineal entre la ingesta de N y la excreción de N tiene que ser considerada, bajo la luz de posibles efectos de los niveles dietarios de energía digerible, tomando en cuenta que la excreción de N-amonio es muy influenciada por la tasa PD:ED (Kaushik y Oliva Teles, 1986; Kaushik y Cowey, 1991). En estudios con trucha arco iris Médale *et al.* (1995) han mostrado que las pendientes de regresión entre nitrógeno ingerido y nitrógeno excretado, así como los niveles de la excreción basal de nitrógeno son afectados por la tasa proteína digerible/energía digerible (PD/ED). La retención de nitrógeno en teleósteos varía entre 25 y 45%. Valores para el crecimiento del camarón bajo condiciones de cultivo, muestran que esto pudiera ser mucho menor (Funge-Smith y Briggs, 1998; Martin *et al.* 1998).

En años recientes, se ha logrado un gran progreso en la nutrición del salmón por la optimización de las proporciones de PD/ED en el alimento, desarrollando dietas extruídas con alto nivel de energía (de hecho, ricas en grasas) que han llevado a disminuir la descarga de nitrógeno en el ambiente. Información disponible sobre la cherna (Ballestrazzi *et al.* 1994) y el besugo (Médale, comunicación personal) también muestran que la excreción de N es reducida con la disminución en las proporciones de PD/ED. Los datos sobre las proporciones óptimas de PD/ED en la dieta para *Penaeus sp.* son extremadamente divergentes. De los datos resumidos por Cuzon y Guillaume (1996), el rango para una sola especie como *P. monodon* está entre 20 y 49 mg proteínas/kJ de energía digerible; el rango es más alto cuando uno toma en cuenta los datos de otras especies de peneidos. Datos más recientes, obtenidos bajo condiciones de alimento y medioambientales bien controladas, tienden a mostrar que los niveles óptimos serían cercanos a 20 mg/kJ (ver Cuzon y Guillaume, 1996), no muy diferente a lo que se sugiere actualmente para teleósteos. Puesto que los crustáceos parecen no tolerar niveles altos de grasas en sus dietas, la optimización de la proporción de PD/ED necesariamente involucra la inclusión de niveles altos de hidratos de carbono digeribles además de la reducción de niveles de la proteína dietaria. Capuzzo y Lancaster (1979) reportaron efectos benéficos por hidratos de carbono digeribles en términos del ahorro de proteína y excreción de N-amonio en la langosta americana (*Homarus americanus*). Más recientemente, Cousin *et al.* (1996) encontraron que la gelatinización de los hidratos de carbono de la dieta mejoraron la utilización de N en *Penaeus vannamei* y *P. stylirostris*, tanto como en los teleósteos (Jeong *et al.* 1992).

### **Conclusión**

Los teleósteos y los crustáceos comparten mecanismos muy similares de producción y excreción de catabolitos nitrogenados. Con respecto a los efectos de factores abióticos, la gran cantidad de datos sugiere que la capacidad osmoreguladora de los animales dicta los cambios mayores en las tasas de excreción de amonio. Con respecto a los factores bióticos, hay muchas necesidades de aprender sobre la utilización del nitrógeno y el catabolismo en las fases fisiológicas específicas como reproducción y la ontogénesis temprana. Los efectos de factores dietarios son menos conocidos en crustáceos que en teleósteos, aunque existe evidencia que sugiere respuestas muy similares de los animales a los factores nutricios. Sin embargo, para una estimación precisa del flujo de nitrógeno bajo los sistemas de cultivo en estanques semi-intensivos, se debe generar más conocimiento, sobre todo en las interacciones del nitrógeno y específicamente el sedimento.

## Referencias:

- Almendras, J.M.E.**, 1994a. Ammonia excretion in *Penaeus monodon* postlarvae during handling and transfer. *Isr. J. Aquacult.*, (Bamidgeh), 46 : 33-39.
- Almendras, J.M.E.**, 1994b. Ammonia excretion rates of the sea bass, *Lates calcarifer*, in fresh and sea water. *Isr. J. Aquacult.*, (Bamidgeh), 46 : 76-82.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., D'Agaro, E., Mion, A.**, 1994. The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 127 : 197-206.
- Batrel, Y., Regnault, M.** 1985. Metabolic pathways of ammoniogenesis in the shrimp *Crangon crangon* L. : possible role of glutamate dehydrogenase. *Comp-Biochem-Physiol.*, 82B : 217-22 .
- Bower, C.E., Bidwell, J.P.**, 1978. Ionization of ammonia in seawater : effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res. Bd Can.*, 35 : 1012 -1016.
- Cameron, J. N.**, 1986. Responses to reversed NH sub(3) and NH sub(4) super(+) gradients in a teleost (*Ictalurus punctatus*), an elasmobranch (*Raja erinacea*), and a crustacean (*Callinectes sapidus*): Evidence of NH sub(4) super(+)/H super(+) exchange in the teleost and the elasmobranch. *J. Exp. Zool.*, 239 : 183-195 .
- Capuzzo, J.M., Lancaster, B.A.** 1979. The effects of dietary carbohydrate levels on protein utilization in the American lobster (*Homarus americanus*). *Proc. Ann. Meet. World Maricult. Soc.*, pp.689-700.
- Chakraborty, S.C., Chakraborty, S.**, 1998. Effect of dietary protein level on excretion of ammonia in Indian major carp, *Labeo rohita*, fingerlings. *Aquacult. Nutr.*, 4 : 47-51.
- Chen, J.-C., Cheng, S.-Y.**, 1995. Hemolymph oxygen content, oxyhemocyanin, protein levels and ammonia excretion in the shrimp *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. *J. Comp. Physiol.*, 164B : 530-535.
- Chen, J.-C., Chia, P.-G.**, 1996. Effects of unilateral eyestalk ablation on oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate at different salinity levels. *J. Crust. Biol.* 15 : 434-443.
- Chen, J.-C., Nan, F.-H., Cheng, S.-Y., Sheen, S.-S.**, 1993. Effects of ambient ammonia on ammonia-N and protein concentrations in hemolymph and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 98 : 203-208.
- Chen, J.-C., Chen, C.-T., Cheng, S.-Y.**, 1994. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 110 : 85-95.
- Chen, J.-C., Kou, T.-T.** 1996a. Nitrogenous excretion in *Macrobrachium rosenbergii* at different pH levels. *Aquaculture*, 144 : 155-164.
- Chen, J.-C., Kou, T.-T.** 1996b. Effects of temperature on oxygen consumption and nitrogenous excretion of juvenile *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 145 : 295-303.
- Claybrook, D.L.**, 1983. Nitrogen metabolism. In *The biology of Crustacea. Vol. 5, Internal anatomy and physiological regulation*. pp. 163-213, Academic Press, New York.
- Clifford, H. C., Brick, R. W.**, 1978. Protein utilization in the freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. *Proc. Annu. Meet. World Maricult. Soc.* 1978, pp.195-208.
- Cockroft, A. C., McLachlan, A.**, 1987. Nitrogen regeneration by the surf zone penaeid prawn *Macropetasma africanus*. *Mar. Biol.*, 96 : 343-348.
- Colt, J. E., Armstrong, D. A.**, 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish, and molluscs. *Proc. Bio-Engg Symp. Fish Culture*, pp.34-47.
- Cousin, M., Cuzon, G., Guillaume, J.**, 1996. Digestibility of starch in *Penaeus vannamei*: in vivo and in vitro study on eight samples of various origin. *Aquaculture*, 140: 361-372.
- Cowey, C. B., Walton, M. J.**, 1989. Intermediary metabolism. In : (J.E. Halver, Editor), *Fish Nutrition, second edition*, Academic Press, New-York, pp. 259-329.
- Cuzon, G., Guillaume, J.**, 1996. Energy and protein : energy ratio. In : *Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture*. (L. d'Abramo, D.E. Conklin, D.M. Akiyama, Eds), WAS Publication, Vol. 6, pp 51-70.
- Dabrowski K., Kaushik S.J., Luquet P.**, 1984. Metabolic utilization of body stores during early life of whitefish (*Coregonus laveratus* L.). *J. Fish Biol.*, 24, 721-729.
- Delaunay, H.**, 1931. L'excrétion azotée des invertébrés. *Biol. Rev.*, 6 : 265-301.

- Dias, J., Arzel, J., Desbruyere, E., Kaushik, S.J.**, 1998. Nitrogen and phosphorus excretion as affected by dietary protein quality in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour.*, 11, in press.
- Dosdat, A., Métailler, R., Tetu, N., Servais, E., Chartois, H., Huelvan, C., Desbruyeres, E.** 1995. Nitrogenous excretion in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), under controlled conditions. *Aquacult. Res.*, 26 : 639-650.
- Dosdat, A., Servais, F., Métailler, R., Huelvan, C., Desbruyères, E.**, 1996. Comparison of nitrogenous losses in five teleost fish species. *Aquaculture*, 141 : 107-127.
- Ezquerro, J.M., Garcia-Carreño, F.L., Carrillo, O.** 1998. In vitro digestibility of dietary protein sources for white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 163 : 123-136.
- Forsberg, O. I.**, 1997. The impact of varying feeding regimes on oxygen consumption and excretion of carbon dioxide and nitrogen in post-smolt Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquac. Res.*, 28 : 29-41.
- Fox, J.M., Lawrence, A.L., Li-Chan, E.**, 1995. Dietary requirement for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid sources. *Aquaculture*, 131 : 279-290.
- Fromm, P.O., Gillette, J.R.**, 1968. Effect of ambient ammonia on blood ammonia and nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 26 : 887-896.
- Funge-Smith, S.J., Briggs, M.R.P.**, 1998. Nutrient budgets in intensive shrimp ponds : implications for sustainability. *Aquaculture*, 164 : 117-133.
- Gerhardt, H. V.**, 1980. Nitrogen excretion by the juvenile prawn *Penaeus indicus* Milne Edwards at various temperatures. *S. Afr. J. Sci.*, 76 : 39-40 .
- Giri, I.N.A., Teshima, S.-I., Kanazawa, A., Ishikawa, M.**, 1997. Effects of dietary pyridoxine and protein levels on growth, vitamin B6 content and free amino acid profile of juvenile *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 157 : 263-275.
- Goldstein, L.**, 1972. Urea metabolism in aquatic vertebrates. In : *Nitrogen metabolism and the environment*. (J.W. Campbell and L. Goldstein, Eds), Academic Press, pp. 55-77.
- Guerin-Ancey, O.**, 1976. Etude expérimentale de l'excrétion azotée du bar (*Dicentrarchus labrax*) en cours de croissance. II. Effets du jeûne sur l'excrétion d'ammoniaque et d'urée. *Aquaculture*, 9 : 71-80.
- Handy, R.D., Poxton, M.G.**, 1993. Nitrogen pollution in mariculture : toxicity and excretion of nitrogenous compounds by marine fish. *Rev. Fish. Biol. Fish.*, 26 : 887-896.
- Hernandorena A., Kaushik S.J.**, 1983. Effects of quantity and quality of dietary purines on ammonia excretion rates by *Artemia* sp. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76B, 637-641.
- Hernandorena A., Kaushik S.J.**, 1985. Effect of quantity and quality of dietary pyrimidines on ammonia excretion rates by *Artemia* sp. *Comp. Biochem. Physiol.*, 82B, 365-369.
- Hunter, D.A., Uglow, R.F.**, 1993. Handling-induced changes in haemolymph ammonia concentration and ammonia excretion rate of *Crangon crangon* (L.). *Ophelia*, 38 : 137-147.
- Jeong, K., S. , Takeuchi, T., Okamoto, N., Watanabe, T.** 1992. The effect of dietary gelatinized ratios at different dietary energy levels on growth and characteristics of blood in carp fingerlings. *Nippon Suisan gakkaiishi*, 58 : 945-951.
- Kaushik S.J.**, 1980. Influence of a rise in temperature on the nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). In: *Aquaculture in Heated Effluents and Recirculated Systems*, (K. Tiews, ed). Heenemann GmbH, Berlin, vol. I, 77-89.
- Kaushik S.J., Cowey C.B.**, 1991. Ammoniogenesis and dietary factors affecting nitrogen excretion. In : *Nutritional Strategies & Aquaculture Waste*, (C.B. Cowey & C.Y. Cho, eds), Univ. Guelph, Guelph, Canada. pp 3-19.
- Kaushik S.J., Oliva Teles A.**, 1986. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. *Aquaculture* 50, 89-101.
- Kaushik, S.J., Médale, F.**, 1994. Energy requirements, utilization and supply to salmonids. *Aquaculture*, 124 : 81-97.
- Kaushik S.J., Dabrowski K., Luquet P.**, 1982. Patterns of nitrogen excretion and oxygen consumption during ontogenesis of common carp (*Cyprinus carpio*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39, 1095- 1105.
- Kaushik S.J., Fauconneau B., Terrier L., Gras J.**, 1988. Arginine requirement and status assessed by different biochemical indices in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture* 70: 75-95.
- Kaushik, S.J., Doudet, T., Médale, F., Aguirre, P., Blanc, D.**, 1995. Protein and energy needs for maintenance and growth of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) using different criteria. *J. Appl. Ichthyol.*, 11 : 290-296.

- Kaushik, S.J., Vellas, F., Parent, J.P., Blanc, D.**, 1997. Effects of environmental pH on ureagenic capacity and urea excretion in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. EAS, 7-10 mai 1997, Martinique, Abstract, 4p.
- Kaushik, S.J., Saglio, P., Brèque, J., Blanc, D.**, 1998. Possible consequences of density and nutritional-related changes in branchial, urinary and epidermal N losses for social chemocommunication in goldfish. *Fish. Sci.*, 64, 216-223.
- Koshio, S., Teshima, S.-I., Kanazawa, A., Watase, T.**, 1993. The effect of dietary protein content on growth, digestion efficiency and nitrogen excretion of juvenile kuruma prawns, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 113 : 101-114.
- Laxminarayana, A., Kutty, M. N.**, 1982. Oxygen consumption, ammonia excretion and random activity in *Penaeus semisulcatus*, *Macrobrachium malcolmsonii* and *Paratelphusa hydrodromus* with reference to ambient oxygen. *Proc. Symp. Coastal Aquaculture (Cochin, India)*, 1 : 117-122 .
- Maetz, J.**, 1972. Interaction of salt and ammonia transport in aquatic organisms. In : *Nitrogen metabolism and the environment*. (J.W. Campbell and L. Goldstein, Eds), Academic Press, pp. 105-154.
- Marangos, C., Alliot, E., Brogren, C.-H., Ceccaldi, H.J.**, 1990. Nycthemeral variations of ammonia excretion in *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Aquaculture*, 84: 383-391.
- Martin, J.-L. M., Veran, Y., Guelorget, O., Pham, D.**, 1998. Shrimp rearing : stocking density, growth, impact on sediment, waste output and their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. *Aquaculture*, 164 : 135-149.
- Médale, F., Brauge, C., Vallée, F., Kaushik, S. J.**, 1995. Effects of dietary protein/energy ratio, ration size, dietary energy source and water temperature on nitrogen excretion in rainbow trout. *Wat. Sci. Tech.*, 31 : 185-194.
- Médale, F., Vallée, F., Blanc, D., Mambrini, M., Roem, A., Kaushik S.**, 1998. Voluntary feed intake, nitrogen and phosphorus losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed increasing dietary levels of soy protein concentrate. *Aquat. Living Res.*, 11 (in press).
- Millamena, O.M., Teruel, M.B., Kanazawa, A., Teshima, S.**, 1998a. Requirements of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon* for essential amino acids. VIII. Int. Symp. Nutrition and Feeding of Fish, Las Palmas, Spain, 1-4 June 1998, pp. 25.
- Millamena, O.M., Teruel, M.B., Reyes, O.S., Kanazawa, A.**, 1998b. Requirements of juvenile marine shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) for lysine and arginine. *Aquaculture*, 164 : 95-104.
- NRC (National Research Council)**, 1993. Nutrient requirements of fish. National Academy Press, Washington D.C., 114 pp.
- Needham, A.E.**, 1957. Factors affecting nitrogen excretion in *Carcinides maenas* (Pennant). *Physiol. Comparata Oceanologia*, 4: 209-239.
- Nimura, Y., Miah, M.I.**, 1991. Nitrogen excretion by *Artemia franciscana*. *Nippon Suisan Gakkaishi.*, 57 : 837-844.
- Ostrensky, A., Wasielesky, W.**, 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Péres-Farfante, 1967. *Aquaculture*, 132 : 339-347.
- Raman, K.V., Shakuntala, K., Reddy, S.R.**, 1981. Influence of Endogenous Factors on the Pattern of Ammonia Excretion in the Prawn *Macrobrachium lanchesteri* (de Man). *Indian J. Exp. Biol.*, 19 : 42-45.
- Randall, D.J., Wood, C.M., Perry, S.F., Bergman, P.A.**, 1989. Urea excretion as a strategy for survival in a fish living in a very alkaline environment. *Nature*, 337 : 165-166.
- Rasmussen, R.S., Korsgaard, B.**, 1998. Ammonia and urea in plasma of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in response to external ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.*, 120A : 163-168.
- Regnault, M.**, 1983. Influence des variations de salinité consécutives au cycle de marée sur l'excrétion ammoniacale de *Crangon crangon* L. *Océanol. Acta.*, 6 : 297-302.
- Regnault, M.**, 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. *Biol. Rev.*, 62 : 1-24.
- Regnault, M.**, 1994. Effect of air-exposure on ammonia excretion and ammonia content of branchial water of the crab, *Cancer pagurus*. *J. Exp. Zool.*, 268 : 208-217.
- Rodehutschord, M., Mandel, S., Pfeffer, E.** 1994. Reduced protein content and use of wheat gluten in diets for rainbow trout: Effects on water loading with N and P. *J. Appl. Ichthyol.*, 10 : 271-273.
- Roennestad, I.F., Fynn, H. J., Gravningen, K.** 1992. The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Mar. Biol.* 114: 517-525 .

- Rosas, C., Sanchez, A., Diaz, E., Soto, L. A., 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. World. Aquacult. Soc.*, 27 : 92-102.
- Saha, N., Ratha, B.K.**, 1998. Ureogenesis in Indian air-breathing teleosts : adaptation to environmental constraints. *Comp. Biochem. Physiol.*, 120A : 195-208.
- Santos, F.H., McNamara, J.C.**, 1996. Neuroendocrine modulation of osmoregulatory parameters in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann) (Crustacea, Decapoda). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 206: 109-120.
- Schmitt, A.S.C., Santos, E.A.** 1998. Ammonia-N efflux rate and nutritional state of juvenile pink shrimp, *Penaeus paulensis* (Perez-Farfante), in relation to food type. *Aquaculture Res.*, 29 : 495-502.
- Schmitt, A. S. C., Hodds, A., Uglow, R. F.**, 1992. Salinity and temperature effects on ammonia effluxes in *Crangon crangon* (L.), *Proc. Eur. Crustacean Conf. Paris*, pp.138-139.
- Schoeffeniels, E., Gilles, R.**, 1970. Nitrogenous constituents and nitrogen metabolism in Arthropods. In : *Chemical zoology*, vol 5. (M. Florin and B.T. Scheer, Eds), pp. 199-227. Academic press, New York.
- Tanaka, Y.**, 1993. Influence of body weight and food density on kinetics of ammonia excretion by the brine shrimp *Artemia franciscana*. *J. World Aquacult. Soc.*, 24 : 499-503 .
- Trussell, R.P.**, 1972. The percent of un-ionized ammonia in aqueous ammonia solutions at different pH levels and temperatures. *J. Fish. Res. Bd Can.*, 29 : 1505-1507.
- Van Waarde, A.** 1983. Aerobic and anaerobic ammonia production by fish. *Comp-Biochem-Physiol.*, 74B : 675-684.
- Vellas, F., Serfaty, A.**, 1974. L'ammoniaque et l'urée chez un téléostéen d'eau douce : la carpe (*Cyprinus carpio*). *J. Physiol.*, Paris, 68 : 591-614.
- Wilkie, M.P.** 1997. Mechanisms of ammonia excretion across fish gills. *Comp. Biochem. Physiol.*, 118 A : 39-50.
- Wilson, R., Taylor, E.**, 1992. Transbranchial ammonia gradients and acid-base responses to high external ammonia concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) acclimated to different salinities. *J. Exp. Biol.*, 166 : 95-112.
- Woo, N.Y.S., Kelly, S.P.** ,1995. Effects of salinity and nutritional status on growth and metabolism of *Sparus sarba* in a closed seawater system. *Aquaculture*, 135 : 229-238.
- Wright, P.A.**, 1993. Nitrogen excretion and enzyme pathways for ureagenesis in freshwater tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Phys. Zool.*, 66 : 881-901.