

TASA DE EXCRECION DE AMONIO DEL CAMARON DE ROCA
RHYNCHOCINETES TYPUS EN CONDICIONES DE LABORATORIO
(CRUSTACEA: DECAPODA: RHYNCHOCINETIDAE)

Oscar Zúñiga, Rodolfo Wilson y Enrique Oyarce*

ABSTRACT. The excretion of ammonia in rock shrimp *Rhynchocinetes typus* under laboratory condition (Crustacea: Decapoda: Rhynchocinetidae).

Ammonia excretion ($\text{NH}_4^+ - \text{NH}_3$) of individual rock shrimp *Rhynchocinetes typus* between 0.6 and 4.0 g wet weight was evaluated in response to ingestion of pelletized meals with different protein concentration at salinity of 35‰ and temperature of 20°C.

Ammonia excretion was also monitored for individual shrimp which had been starved. The rate of ammonia excretion (between 2.10 - 3.27 mg/g dry weight per day), was higher for fed than for starved individuals (1.33 mg/g dry weight per day). The ammonia production rate, was not influenced by diet (concentration of protein), but was related to the weight of individual. The O:N ratio was 5.37 pointing a protein catabolism. Probably the ammonia excretion was influenced by diet type more than nitrogen content of the diet.

Key words: Physiology; ammonia excretion; *Rhynchocinetes typus*; diets; rock shrimp.

INTRODUCCION

Los crustáceos decápodos marinos son considerados amoniotélicos, debido a que más del 50% de los productos catabólicos terminales del nitrógeno es amonio, teniendo menor importancia la úrea, ácido úrico y una proporción relativa de otros compuestos aminados (Parry 1960, Campbell 1973, Kinne 1976). La

* Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad de Antofagasta, Casilla 1240, Antofagasta, Chile.

excreción de dichas sustancias nitrogenadas se realiza, de acuerdo a lo expresado por Parry (1960), a través del epitelio branquial o por aberturas excretoras especiales ubicadas en la base de las antenas, pereiópodos, tegumentos y otras partes del organismo.

El amonio se encuentra como una solución primaria del ión NH_4^+ y de la molécula no ionizada NH_3 , dependiendo sus proporciones del pH del medio (Whitfield 1974).

En la composición de los fluidos del cuerpo, el amonio juega un papel importante en la estabilización del equilibrio ácido-base, rigiendo las tasas de varios procesos metabólicos e implicando que éstos, están íntimamente relacionados a su toxicidad (Spaargaren 1982). Durante la actividad metabólica, los organismos acuáticos liberan el NH_4^+ al medio en función de la tasa que éstos la producen.

La toxicidad del amonio en los organismos acuáticos generalmente se atribuye a la molécula de NH_3 (Spotte 1979). También Campbell (1973), establece evidencias de que el NH_4^+ afecta algunas funciones fisiológicas. Sin embargo, los mecanismos de toxicidad del amonio no están muy esclarecidos, pero se ha constatado que elevados niveles en el ambiente, interfiere, de algún modo, con la habilidad de la hemoglobina para retener y transportar el oxígeno (Spotte 1979) o en una inhibición del sistema de transporte activo de Na^+ , Cl^- y HCO_3^- (Gupta et al. 1977).

En los ambientes acuáticos la concentración de amonio es baja, ya que rápidamente es transformado en compuestos nitrogenados oxidados (NO_2^- , NO_3^-). Pero en un proceso de cultivo intensivo, donde los sistemas deben sostener altas densidades de individuo y la tasa de renovación de agua es baja, la acumulación de los desechos nitrogenados es altamente dañina, en especial si se utilizan dietas ricas en proteínas (Kinne 1976). Debe considerarse además que estos desechos también son originados por la descomposición de los restos orgánicos (fecas, restos de alimentos, cadáveres, etc.).

La remoción de estas sustancias tóxicas puede constituir un factor determinante en el cálculo de la rentabilidad del cultivo, si es que se desea reciclar el agua en un sistema de cultivo intensivo.

Pese a la importancia que reviste conocer las tasas de excreción, toxicidad y los niveles de concentración de amonio

en los sistemas de cultivo, son escasos los estudios realizados sobre crustáceos (Takahashi & Ikeda 1975, Biggs 1977, Nelson et al. 1977, Moffett & Fisher 1978). En especial, los trabajos se han referido a organismos mantenidos en ayuno o recién alimentados, lo que podría implicar una sobrestimación de las tasas de excreción (Ikeda 1977). Nelson et al. (1979) han indicado que la tasa de excreción es afectada por la calidad y la tasa de ingestión de los alimentos.

Por esta razón se ha propuesto evaluar en *Rhynchocinetes typus*, los efectos de alimentos con diferentes concentraciones proteicas en las tasas de excreción de amonio y su análisis comparativo en condiciones de ayuno.

R. typus, es el único camarón comercial que habita las zonas costeras rocosas del litoral norte y central de Chile (Martínez & Arana 1983) y en experimentos preliminares sobre cultivo (Lay et al. 1983), se ha demostrado la factibilidad de mantenerlos en cautiverio, aceptando diferentes tipos de alimentos concentrados y frescos.

MATERIALES Y METODOS

Los ejemplares de *Rhynchocinetes typus* utilizados para las determinaciones de tasas de excreción de amonio, se colectaron mediante trampas en el molo de abrigo (lado expuesto) del puerto de Antofagasta, Chile (Lat. 23°39'S, 70°25'W), desde donde fueron trasladados a los laboratorios en bidones plásticos con agua de mar y suficiente aireación, mediante un compresor portátil. Allí se les confinó en acuarios de acrílico de 100 l de capacidad, con una densidad de 100 ind/m³ y provistos de aireación constante (suministrado con un compresor). El agua se recirculó a través de un filtro de arena (conchilla calcárea de 2 mm de diámetro).

Se mantuvo constante la temperatura ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) y salinidad ($35 \pm 1\%$), reguladas mediante ajuste térmico con calefactores y agregando agua destilada respectivamente. El fotoperíodo correspondió a las variaciones diarias de luz natural (aproximadamente 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad).

Se evitó el canibalismo característico de esta especie, en especial durante los períodos de muda, acondicionando los acuarios con piedras y conchas vacías del gasterópodo *Concholepas*

concholepas, las cuales les sirvieron de refugio.

La aclimatación a estas condiciones se prolongó durante una semana, previo a las mediciones de la tasa de excreción de amonio.

En las determinaciones sólo se utilizaron individuos juveniles y adultos de machos y hembras entre 0,6 y 4,0 g peso húmedo, excluyendo aquellos en proceso de muda y hembras ovígeras. Los sexos se diferenciaron examinando directamente los primeros pares de pleópodos, bajo una lupa binocular.

Las mediciones de las tasas de excreción de amonio, se realizaron en camarones sujetos a ayuno y alimentados. En el primer caso, los ejemplares se introdujeron individualmente en matraces Erlenmeyer de 500 ml, provistos con agua de mar filtrada, durante 24 horas. Posteriormente, cada ejemplar se transfirió a su respectivo matraz con 300 ml de agua de mar filtrada con membranas de 0,45 μ , se cubrió la boca de los recipientes con papel aluminio para evitar la contaminación externa y se suministró aireación continua. Todo el set se colocó en un baño termostático a temperatura constante de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, por un lapso de 3 horas. Luego se tomaron alícuotas de 50 ml de cada matraz para las mediciones de la concentración de amonio, según el método de Solorzano (Strickland & Parsons 1972). Cada grupo experimental constó de sus respectivos controles (matraces con agua de mar filtrada, sin individuos). Para determinar la tasa de excreción de amonio en camarones alimentados, éstos se colocaron individualmente en matraces con 500 ml de agua de mar filtrada y aireada durante un período de ayuno de 24 horas. Luego los animales fueron alimentados con el equivalente al 10% de su peso corporal, con una de las tres dietas experimentales, dejándoseles en estas condiciones por 12 horas. Una vez alimentados, cada individuo fue trasladado a matraces con 300 ml de agua de mar filtrada por un tiempo de 3 horas, extrayéndose después muestras de agua (50 ml) y evaluándose la concentración de amonio según el método descrito anteriormente. Este procedimiento se realizó para cada una de las dietas.

Paralelamente a las mediciones de amonio, se realizaron controles de pH con un peachímetro Orion modelo 211.

Al final de las experiencias, los camarones se pesaron en una balanza Sartorius con una precisión de $\pm 0,1$ g, secando previamente el exceso de humedad con papel absorbente. Finalmente se sacrificaron, para deshidratarlos en una estufa

a 70°C hasta peso constante. Se estableció, de esta manera, la relación peso húmedo y peso seco, por medio de una ecuación de mínimos cuadrados: $\text{Peso seco} = a + b P. \text{ húmedo}$; donde a y b son coeficientes de regresión.

La tasa de excreción individual se expresó en $\text{mg NH}_4^+ - \text{NH}_3/\text{g/h}$ (mg de amonio-nitrógeno por unidad gramo peso seco por hora), considerándose el amonio como la suma de NH_4^+ y NH_3 .

Los resultados de las tasas de excreción de amonio en individuos ayunados y alimentados se compararon estadísticamente mediante análisis de varianza (Snedecor & Cochran 1967).

El contenido de lípidos y proteínas (tabla 1), para las distintas dietas, se obtuvieron por los métodos de Soxhlet y Kjeldahl respectivamente (Strickland & Parsons 1972).

TABLA 1. Composición basal en porcentaje de las dietas suministradas a *Rhynchocinetes typus*.

Dietas	Proteínas	Lípidos	Cenizas
1	55,68	1,74	11,07
2	44,59	2,80	24,74
3	66,68	5,02	6,96

Las dietas suministradas a los camarones durante las experiencias, fueron concentrados (pellets) de 2 mm de diámetro, elaborados según la metodología descrita en Stickney (1979).

RESULTADOS

El modelo estadístico usado para el análisis de la excreción de amonio de *R. typus*, fue la regresión geométrica representada por $E = a P^b$, donde E es la tasa de producción de amonio en mg/g/h y P el peso seco en g de los camarones; a y b son coeficientes de regresión. Cuando la tasa de excreción se expresa como unidad de "peso específico" la relación se puede describir por $E/P = a P^{b-1}$.

La tabla 2 muestra los estadísticos para la regresión de la excreción de amonio sobre el peso seco de los camarones para cada una de las dietas experimentales e individuos en ayuno.

El efecto del peso sobre la producción de amonio fue significativa ($P < 0,01$), tanto para los individuos alimentados como para los mantenidos en ayuno [$F(3;9) = 10,27$]. En la figura 1 se puede apreciar que la tasa de producción de amonio ($\text{mg NH}_4^+ - \text{NH}_3/\text{g peso seco/h}$), se relaciona inversamente con el peso seco de los organismos. Los coeficientes de correlación (r) de las tasas de excreción sobre el peso seco de los individuos oscilaron entre 0,503 y 0,837 valores significativos al 5% ($P < 0,05$), demostrándose la estrecha relación existente entre ambos parámetros.

Para comparar la producción de amonio entre dietas caracterizadas por las regresiones de la tabla 2 (con diferentes números de individuos y pesos promedios de muestras), se optó por hacerlo a través de un análisis de covarianza. Este test corrigió la producción de amonio para los efectos de la regresión sobre el peso y relacionó los promedios ajustados entre dietas. Los resultados demostraron que las pendientes (b) entre dietas, no son significativamente diferentes [$F(3;140) = 52,883$; $P < 0,05$]. Esto permite establecer que las líneas de regresión son paralelas para las dietas suministradas, demostrándose que la tasa de excreción de amonio es independiente de la naturaleza o composición de la dieta.

Es necesario indicar que

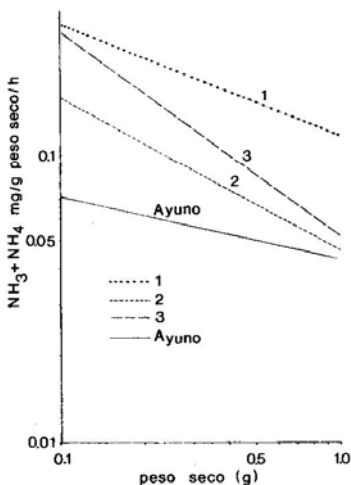


Fig. 1. Curvas de regresión estadística de la producción de amonio ($\text{NH}_4^+ - \text{NH}_3$), de *Rhynchocinetes typus*, relacionando los individuos en ayuno con los alimentados con las dietas 1, 2 y 3.

las tasas de excreción corresponden a machos y hembras en conjunto, habiéndose probado previamente por combinación estadística que no existen diferencias entre sexos, en relación a este parámetro ($P > 0,01$).

TABLA 2. Regresión estadística que describe la relación entre la excreción de amonio ($\text{mg NH}_4^+ - \text{NH}_3/\text{g peso seco/h}$) y el peso seco (g) de *Rhynchocinetes typus* alimentados con diferentes dietas y en ayuno. r = correlación; a y b , coeficientes de regresión; N = número de muestras.

Dietas	N	r^*	a (intercepto)	b (pendiente)
Ayuno	81	0,503	0,0431	- 0,2221
1	27	0,837	0,1187	- 0,3906
2	44	0,572	0,0502	- 0,5036
3	30	0,530	0,0562	- 0,6883

* Significativo al 5% ($P < 0,05$).

El promedio de excreción de amonio ajustado fue de 0,0250 mg/g peso seco/h, para los camarones en ayuno, mientras que para los alimentados osciló entre 0,0356 y 0,0481 mg/g peso seco/h (tabla 3).

Los datos de pH no variaron significativamente, tanto en organismos alimentados como en ayunados, en relación a los controles durante las 3 horas que duró la experiencia, detectándose disminuciones de 0,03 - 0,30 unidades de pH respecto a los controles (pH 7,9).

TABLA 3. Promedios de tasas de excreción de amonio ($\text{mg NH}_4^+ - \text{NH}_3/\text{g/h}$) de *Rhynchocinetes typus* en ayuno y alimentados. Los promedios ajustados fueron corregidos para las diferencias de peso entre grupos.

Dietas	Promedio Peso seco (g)	Excreción de amonio		Tamaño muestra
		Promedio	Promedio ajustado*	
Ayuno	0,506	0,0553	0,0250	81
1	0,640	0,1658	0,0455	27
2	0,419	0,0873	0,0356	44
3	0,309	0,1362	0,0481	30

* El promedio ajustado se determinó corrigiendo a través de las líneas de regresión del logaritmo de la producción de amonio, sobre los logaritmos de los pesos secos (0,5 g).

Mediante un test múltiple de Scheffé (Sokal & Rohlf 1969), se puso en evidencia que la tasa de excreción de amonio de los camarones alimentados, fue notoriamente mayor que la de los individuos sin alimentar ($P < 0,05$), ratificándose esta apreciación con análisis individual de varianza, comparando la excreción por efecto de cada dieta con los organismos ayunados (tabla 4).

TABLA 4. Análisis de varianza para examinar las diferencias entre las tasas de excreción de amonio de cada dieta con los organismos en ayuno de *Rhynchocinetes typus*.

Relación	F_b (pendiente)*	F_a (intercepto)*
Ayuno-dieta 1	$F(1'104) = 4,788$	$F(1'105) = 372,300$
Ayuno-dieta 2	$F(1'121) = 6,236$	$F(1'122) = 58,773$
Ayuno-dieta 3	$F(1'107) = 5,310$	$F(1'108) = 169,506$

* Diferencias significativas al 5% ($P < 0,05$).

DISCUSION

Son numerosos los factores internos y externos que pueden incidir en la tasa de excreción de amonio en crustáceos, destacando la naturaleza de la dieta, época de muda, volumen del medio, temperatura, edad de los individuos y proximidad de otros animales (Parry 1960). Se ha establecido que el análisis directo del agua en la cual los organismos han vivido, no es el método más confiable para la estima de tasas de productos excretorios, ya que ocurre una significativa dilución de estas sustancias por efecto bacterial. Además, las valoraciones de nitrógeno total pueden incluir secreciones en elevadas proporciones, de proteínas unidas a mucopolisacáridos (Allen & Garret 1971).

En las mediciones de excreción en *R. typus*, se redujo al máximo el efecto de estos factores, manteniendo constante algunos parámetros (temperatura, concentración de oxígeno y salinidad), y usando las medidas de nitrógeno total como expresión del amonio excretado. Además, se redujo el tiempo de incubación para evitar la acción de las bacterias nitrificantes

y se filtró el agua de mar con filtros de $0,45 \mu$, no apreciándose variaciones notorias del pH.

La tasa de excreción de amonio en *R. typus*, fue significativamente superior (4 a 6 veces) en los individuos alimentados en relación a los sostenidos en ayuno. El incremento de ésta y, en general, del metabolismo por acción alimenticia, denominada efecto calorígeno del alimento o acción dinámica específica (SDA), se atribuye generalmente a la pérdida energética en la deaminación de los aminoácidos, representando una forma del costo energético de alimentación (Kleiber 1975).

Nelson et al. (1979), establecieron que el incremento de la tasa de excreción en *Crangon franciscorum* es variable, siendo hasta 7 veces mayor a la de los ayunados. Sin embargo, al parecer este comportamiento no es general a todos los crustáceos, ya que Mayzaud (1976) y Corner & Newell (1967), han podido establecer que las tasas de excreción de amonio decrecen en individuos alimentados, o no es significativamente diferente a la de los ayunados (Moffett & Fisher 1978).

Pero, es necesario considerar que la condición de ayuno implica una catabolización de las proteínas en cantidades relativamente grandes, reflejado en la tasa de excreción relativamente alta de los individuos. Esta situación ha sido planteada por Raymont et al. (1968), señalando que *Neomysis integer* en ayuno, emplea proteínas de su curso energético. Igualmente Cowey & Corner (1963), demostraron que *Calanus finmarchicus* bajo las mismas condiciones de ayuno, cataboliza proteínas de sus reservas para los requerimientos energéticos.

Considerando que *R. typus* tiene un consumo de oxígeno en ayuno (respiración) de $8,15 \text{ mg O}_2/\text{g peso seco/día}$, según Zúñiga et al. (en prensa) y la tasa de excreción de amonio en similares condiciones (temperatura de 20°C y salinidad de 35‰), es de $1,327 \text{ mg NH}_4^+ - \text{NH}_3/\text{g/día}$, se puede emplear la razón O:N como índice para reconocer el sustrato catabolizado (Jawed 1969), lo cual da una relación de 5,37. Este valor sugiere una alta catabolización de las proteínas durante el estado de ayuno.

Al igual que los resultados obtenidos por Nelson et al. (1977) en *Macrobrachium rosenbergii*, se comprobó en *R. typus*, que la tasa de excreción de amonio entre dietas no era significativamente diferente ($P > 0,05$), aunque el promedio ajustado osciló entre $0,0356$ y $0,481 \text{ mg/g/h}$. Este resultado

reafirma lo expresado por estos autores en el sentido de que el SDA, no se debe al catabolismo de las proteínas como se ha sugerido para otros organismos. Lo esperado en el presente trabajo, sería que dietas con un alto contenido de proteínas deberían producir un aumento en la tasa de producción de amonio. Sin embargo, al parecer las diferencias observadas (tabla 3), se podrían atribuir a la distinta asimilación del nitrógeno (calidad de la dieta) y a la digestibilidad de las proteínas (Nitzan & Liener 1975). Es posible también, que la tasa de excreción de amonio, dependa de los niveles y disponibilidad del alimento, situación que fue analizada por Ikeda (1977), en zooplancton marino.

La tabla 5 muestra las tasas de excreción de amonio medidas por varios autores en diferentes especies, apreciándose que los datos obtenidos en *R. typus* no difieren mayormente con aquellos.

TABLA 5. Tasas de excreción de amonio en diferentes especies de crustáceos.

Especie	mg NH_4^+ - NH_3 /g peso seco/día		Autor
	Ayuno	Alimentados	
<i>Neomysis rayii</i>	1,03-2,63		Jawed (1969)
<i>Palaemonetes pugio</i>	4,56		Welsh (1975)
<i>Callinectes sapidus</i>	0,87-2,45		Mangum et al. (1976)
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>		0,82-0,91	Nelson et al. (1977)
<i>Crangon franciscorum</i>	1,03	3,86-5,74	Nelson et al. (1979)
<i>Rhynchocinetes typus</i>	1,33	2,10-3,27	Presente trabajo

La toxicidad del amonio en invertebrados marinos no ha sido ampliamente evaluado (Wickins 1976, Armstrong 1978, Spotte 1979), evidenciándose en estos trabajos, que su efecto está ligado al pH de la solución, concentración de amonio y a la proporcionalidad de NH_4^+ - NH_3 (Whitfield 1974). Indudablemente otros factores como salinidad, temperatura y concentración de oxígeno, permiten variar los niveles de toxicidad de este producto nitrogenado.

Armstrong et al. (1978), encontraron que la toxicidad del amonio en larvas de *M. rosenbergii*, varía entre 14 y 80 mg de amonio/l, incrementándose con el aumento del pH, estos

autores dan límites de seguridad entre 1 mg de amonio/l a pH 8,34 y de 3,2 mg/l a pH bajos.

Analizando los datos promedios de excreción en *R. typus* con un máximo de 3,27 mg/g/día, podemos suponer que esta especie puede tolerar un rango amplio de las concentraciones de amonio en medios restringidos (acuarios). Esto se ha podido comprobar en observaciones "in situ", al tener altas densidades y biomesas en acuarios con 80 l de agua de mar, con sistemas de doble fondo (filtro biológico nitrificante), el cual reduce el efecto tóxico del amonio, sobreviviendo los ejemplares más de 60 días sin recambio de agua. En todo caso Spotte (1979) recomienda como límite de seguridad 0,1 mg de amonio/l. La mortalidad ocurre principalmente por el canibalismo, al presentarse los procesos de mudas. Sin embargo, es necesario hacer notar que altas concentraciones de amonio, restringen el crecimiento tal como lo señala Wickins (1976), situación que afectaría el cultivo de *R. typus* en sistemas de circulación cerrado sin reciclaje del agua, siendo conveniente profundizar sobre estos aspectos si se quiere justificar el cultivo de la especie.

AGRADECIMIENTOS. Deseamos agradecer a la Dirección de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Antofagasta, por el aporte financiero al proyecto IO-10, del cual forma parte el presente trabajo.

Igualmente agradecemos al Dr. Barney Venables de North Texas State University, por sus valiosas sugerencias y críticas al dactiloescrito.

LITERATURA CITADA

- Allen, J.A. & M.R. Garret. 1971. The excretion of ammonia and urea by *Mya arenaria* L. (Mollusca: Bivalvia). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 39 A: 633-642.
- Armstrong, D.A.; Chippendale, D.; Knight, A.W. & J.E. Colt. 1978. Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biological Bulletin*, 154: 15-31.
- Biggs, D.C. 1977. Respiration and ammonium excretion by open water gelatinous zooplankton. *Limnology and Oceanography*, 22: 108-177.

- Campbell, J.W. 1973. Nitrogen excretion. In: Prosser, C.L. (ed), Comparative Animal Physiology, 1: 279-316. W.B. Saunders Co, Philadelphia.
- Corner, E.D.S. & B.S. Newell. 1967. On the nutrition and metabolism of zooplankton. IV. The forms of nitrogen excretion by *Calanus*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 47: 113-120.
- Cowey, C.B. & E.D. Corner. 1963. Aminoacids and some other nitrogenous compounds in *Calanus finmarchicus*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 43: 488-493.
- Gupta, B.L.; Oschman, J.L. & B.J. Wall. 1977. Transport of ions and water in animals, 817 p. Academic Press, London.
- Ikeda, I. 1977. The effect of laboratory conditions on the extrapolation of experimental measurements to the ecology of marine zooplankton. IV. Changes in respiration and excretion rates of boreal zooplankton species maintained under fed and starved conditions. Marine Biology, 41: 241-252.
- Jawed, M. 1969. Body nitrogen and nitrogenous excretion in *Neomysis rayii* Murdoch and *Euphausia pacifica* Hansen. Limnology and Oceanography, 14: 748-754.
- Kinne, O. 1976. Cultivation of marine organisms: Water quality management and technology. In: Kinne, O. (ed), Marine Ecology, 3 (2): 79-300. John Wiley & Sons, Chichester.
- Kleiber, M. 1975. Metabolic turnover rate: A physiological meaning of the metabolic rate per unit body weight. Journal of Theoretical Biology, 53: 199-204.
- Lay, A.S.; Zúñiga, O.A.; Labbé, A.J.; Rivas, P.E. & W.A. Salas. 1983. Efectos de dietas en el crecimiento de *Rhynchocinetes typus* (Crustacea, Decapoda, Caridea). Memorias Asociación Latinoamericana de Acuicultura, 5 (2): 339-346.
- Mangum, C.P.; Silverthorn, S.U.; Harris, J.L.; Towle, D.W. & A.R. Krall. 1976. The relationship between blood pH, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab *Callinectes sapidus*. Journal Experimental Zoology, 195: 129-136.
- Martínez, G. & P.M. Arana. 1983. Crecimiento del camarón de roca (*Rhynchocinetes typus*, Milne Edwards 1837) en la zona de Valparaíso. Chile. Ciencia y Tecnología del Mar. CONA 7: 85-107.
- Mayzaud, P. 1976. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. IV. The influence of starvation on the metabolism and the biochemical composition of some species. Marine Biology, 37: 47-58.

- Moffet, W.L. & W.S. Fisher. 1978. Ammonia production rates of *Artemia salina* under various culture conditions. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35: 1643-1648.
- Nelson, S.G.; Knight, A.W. & H.W. Li. 1977. The metabolic cost of food utilization and ammonia production by juvenile *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea: Palaemonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 57: 67-72.
- Nelson, S.G.; Simmons, M.A. & A.W. Knight. 1979. Ammonia excretion by the benthic estuarine shrimp *Crangon franciscorum* (Crustacea: Crangonidae) in relation to diet. *Marine Biology*, 54: 25-31.
- Nitzan, A. & I.E. Liener. 1975. Levels of urea in the blood and urine of rats fed raw and heated soybean meal. *Nutritional metabolism*, 18: 240-244.
- Parry, G. 1960. Excretion. In: Waterman, T.A. (ed), *The Physiology of crustacea*, 1: 341-366. Academic Press, New York.
- Raymont, J.E.; Austin, J. & E. Linford. 1968. Biochemical studies on marine zooplankton. V. The composition of major biochemical fractions in *Neomysis integer*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 48: 735-760.
- Snedecor, G.W. & W.G. Cochran. 1967. *Statistical methods*, 539 p. Iowa State University Press, Iowa.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1969. *Biometry*, 776 p. W.H. Freeman and Co, San Francisco.
- Spaargaren, D.H. 1982. The ammonium excretion of the shore crab, *Carcinus maenas*, in relation to environmental osmotic conditions. *Netherlands Journal of Sea Research*, 15: 273-283.
- Spotte, S. 1979. *Fish and invertebrate culture water management in closed systems*, 179 p. Wiley Interscience Publication, New York.
- Stickney, R.R. 1979. *Principles of warmwater aquaculture*, 376 p. Wiley Interscience Publication, New York.
- Strickland, J.D. & T.R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada*, 167: 87-89.
- Takahashi, M. & T. Ikeda. 1975. Excretion of ammonia and inorganic phosphorus by *Euphausia pacifica* and *Metridia pacifica* at different concentrations of phytoplankton. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32: 2189-2195.
- Welsh, B.L. 1975. The role of grass shrimp, *Palaemonetes pugio* in a tidal marsh ecosystem. *Ecology*, 56: 513-530.

- Whitfield, M. 1974. The hydrolysis of ammonium ions in seawater a theoretical study. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 54: 565-580.
- Wickins, J.F. 1976. The tolerance of warmwater prawns to recirculated water. *Aquaculture*, 9: 19-37.
- Zúñiga, O.A.; Wilson, R. & E.A. Oyarce. "En prensa". Efectos de la temperatura y salinidad en la tasa metabólica de *Rhynchocinetes typus* (Crustacea: Caridae: Rhynchocinetidae). *Estudios Oceanológicos*, 3 (1).