

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL, ECOLOGIA Y  
GENETICA. UNIDAD DE FISIOLOGIA ANIMAL

EL AMONIACO EN LOS PECES. I. ASPECTOS METABOLICOS Y  
EXCRECION

Cardenete, G. y Moyano, F. J.

RESUMEN

Se hace una revisión de la información existente sobre los aspectos metabólicos y la excreción de amoníaco en peces. Se describen las distintas vías metabólicas de producción de amoníaco y su contribución a la amoniogénesis total, así como los mecanismos de excreción a nivel branquial y diversos factores que influyen sobre ella.

SUMMARY

A review of the existing information about metabolic aspects and excretion of ammonia in fish is done. Different metabolic pathways and their respective contribution to total ammoniogenesis are described, thus branchial excretion mechanisms and the different factors affecting it.

INTRODUCCION

El medio acuático en el que los peces se hallan inmersos, permite que éstos sean, en su mayoría, amoniotéticos; el amoníaco es el principal producto del catabolismo proteico. La extrema toxicidad de este compuesto se ve compensada por su alta capacidad de difusión y solubilidad en agua que facilitan su excreción al medio. De esta forma, la tasa de producción se equilibra con la excreción del mismo.

Sin embargo, aumentos aún leves, de amoníaco en el medio acuático alteran este equilibrio, ocasionando un incremento en los niveles corporales de  $\text{NH}_3$  del pez que dan lugar a la aparición de efectos nocivos. (1).

En la actualidad, el gran desarrollo de los cultivos piscícolas ha hecho prestar gran atención a todas las variables que puedan influir en su rendimiento, especialmente en el caso de los cultivos intensivos. En este contexto, el control de los niveles de amoníaco en la explotación, que pueden verse alterados por variaciones del

caudal, tipo de alimento suministrado, alteraciones del pH del medio o contaminaciones con aguas residuales, se convierte en una medida de suma importancia.

No obstante, la información que existe referente tanto a los procesos metabólicos de producción y excreción de amoníaco, como a sus efectos tóxicos en los peces, es amenudo fragmentaria y dispersa, y no permite con facilidad una comprensión global de los mecanismos implicados.

En este primer trabajo se pretende dar una visión de la relación entre amoníaco y peces centrada en los procesos metabólicos y de excreción; el siguiente artículo describirá los posibles efectos tóxicos de este compuesto sobre los peces, una vez excretado al medio.

## LA PROTEINA COMO SUSTRATO ENERGETICO EN LOS PECES

Gran parte de los peces actualmente cultivados, así como los potencialmente cultivables, son carnívoros; lo que implica el uso de dietas altamente proteicas para cubrir sus elevados requerimientos. Este hecho es válido aún para especies que, como la carpa, son consideradas omnívoras. Por consiguiente, existen numerosas adaptaciones a este régimen alimentario, que abarcan desde las puramente morfológicas a las metabólicas.

En efecto, la mayor parte de los peces muestra una considerable capacidad para usar la proteína dietaria, así como la corporal, ya sea como sustrato gluconeogénico, lipogénico o energético. El catabolismo proteico puede aportar más del 40% de las necesidades energéticas en peces que desarrollan una actividad normal (2) e incluso, llega a cubrir casi completamente los requerimientos metabólicos basales en la trucha (3). Si bien, el porcentaje de la proteína absorbida que se destina al metabolismo energético puede variar dependiendo de la proporción en la dieta de otros nutrientes energéticos (4). Es por esto, por lo que la relación proteína/energía de una dieta se convierte en un parámetro de especial importancia, determinante del aprovechamiento de la proteína dietaria y del crecimiento de los propios animales (5).

Muchas especies de peces se ven sometidas en su medio natural a ayunos prolongados, especialmente en invierno. En estas condiciones el comportamiento bioquímico es muy distinto del de mamíferos, ya que a diferencia de éstos, las reservas de glucógeno se ven muy poco alteradas. Probablemente, su uso preferencial se realizaría bajo condiciones de hipoxia (6). Son los lípidos y las proteínas las principales fuentes energéticas durante el ayuno (7) (8). La contribución relativa de ambos al mantenimiento del animal depende de la especie del mismo, según se trate de peces grasos o magros. En cualquier caso, los peces muestran, una vez agotadas las reservas lipídicas, una marcada capacidad para consumir sus propias proteínas estructurales durante los periodos de privación del alimento, llegando a metabolizar la albúmina,  $\alpha$  y  $\beta$  globulinas sanguíneas (9), así como, fundamentalmente, la miosina muscular (10).

Así pues, tanto en animales alimentados o no, una buena parte de la producción de energía se cubre en los peces mediante el catabolismo proteico.

## PRODUCTOS DEL CATABOLISMO PROTEICO EN LOS PECES

El amoníaco es, con mucho, el principal producto final del catabolismo nitrogenado en teleosteos. Usualmente representa más del 70% del nitrógeno excretado, llegando en ocasiones hasta el 90% (2) (11). Del resto de la fracción, la mayor parte la constituye la urea, aunque también se excretan otros compuestos nitrogenados tales como ácido úrico, aminoácidos, trimetilamina, óxido de trimetilamina, creatina y creatinina.

El origen metabólico de la urea en peces no es totalmente uniforme. Así, el ciclo de la ornitina-urea parece ser completamente funcional en elasmobranquios (12) (13) (14), en los que la urea juega un importante papel en los procesos de osmorregulación. No ocurre así en telósteos. Si bien la mayor parte de ellos posee todas las enzimas implicadas en el ciclo de la ornitina (15) (16), tan sólo la arginasa presenta una actividad significativa, por lo que no parece ser esta vía la principal responsable de la formación de urea en estos peces (17) (18), aunque la acción de la arginasa sobre la arginina podría producir cierta cantidad de urea (Cvancara, 1979) (19). Sin embargo, es más probable que sea la degradación de las purinas la que produzca la mayor parte de la urea. En efecto, el hígado de los teleosteos muestra una especial actividad uricolítica (20), por lo que la uricolisis se considera el principal mecanismo de excreción de urea en estos animales. De hecho, mientras la producción de  $\text{NH}_3$  aumenta tras la ingestión de alimento y se relaciona directamente con el catabolismo proteico (3) (2) (22), no existe tal relación entre la ingesta de nitrógeno y la excreción de urea (3) (23).

## RUTAS METABOLICAS EN LA PRODUCCION DE AMONIACO EN PECES

La mayor parte del  $\text{NH}_3$  producido proviene de la desaminación de aquellos aminoácidos que exceden a los requeridos para la síntesis proteica; sin embargo, la desaminación de aminos biológicas, así como la de adenilatos en el músculo, contribuyen también a su producción (figura 1).

En general, los mecanismos enzimáticos capaces de producir amoníaco a partir de aminoácidos pueden dividirse en dos categorías fundamentales:

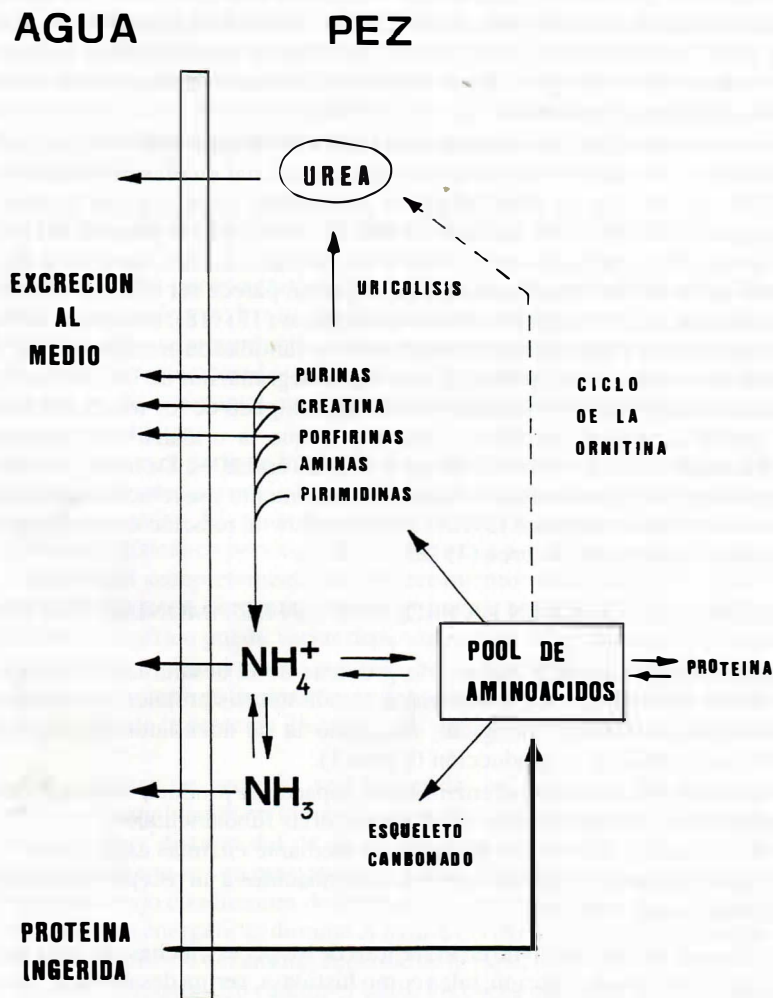
- a) desaminación directa del aminoácido mediante enzimas específicas
- b) transferencia del grupo amino de los aminoácidos a un receptor común que es desaminado posteriormente

a).- Aunque se han detectado en los tejidos de los peces muchas encimas capaces de catalizar este tipo de reacción, tales como histidasa, serina desaminasa, glutaminasa, etc. (11), permanece relativamente oscura la importancia de su contribución cuantitativa a la producción global de  $\text{NH}_3$ . Con todo, la glutamato deshidrogenasa, es de entre estas enzimas, el que juega, con mucho, un papel más importante (2).

b).- Para este mecanismo indirecto de producción de amoníaco se han propuesto dos posibles esquemas (Figura 2):

- 1.- El clásico esquema de transaminación descrito por Braunstein (24).
- 2.- El ciclo de los nucleóticos purínicos (25).

FIGURA 1. POSIBLES VIAS DE PRODUCCION DE  $\text{NH}_3$  Y UREA EN LOS PECES.



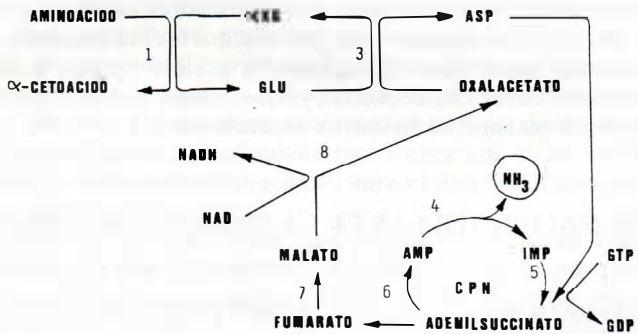
En el primer caso, el grupo amino de los aminoácidos se transfiere al  $\alpha$ -cetoglutarato mediante distintas enzimas aminotransferasas; algunas de las cuales son muy específicas, mientras que otras pueden reaccionar con diversos aminoácidos. El glutamato resultante es desaminado por la glutamato deshidrogenasa mitocondrial, mientras que el cetoácido y el  $\text{NADH}^+$  formados son rápidamente oxidados. Los datos existentes señalan este esquema como el principal contribuyente a la producción de amoniaco, al menos en el hígado de los peces (26).

FIGURA 2. PRODUCCION DE AMONIACO POR TRANSDEAMINACION Y CICLO DE LOS NUCLEOTIDOS PURINICOS.

A. TRANSDEAMINACION



B. CICLO DE LOS NUCLEOTIDOS PURINICOS



- 1.- Aminoácido transaminasa
- 2.- Glutamato deshidrogenasa
- 3.- Aspartato aminotransferasa
- 4.- AMP desaminasa
- 5.- Adenilsuccinato sintetasa
- 6.- Adenilsuccinasa
- 7.- Fumarasa
- 8.- Malato deshidrogenasa

La reacción neta es:



En la vía metabólica que supone el ciclo de los nucleótidos purínicos, el grupo amino de los aminoácidos es transferido, mediante aminotransferasas, al oxalacetato. El aspartato resultante es desaminado por tres enzimas citoplásmicas que requieren nucleótidos purínicos como catalizadores y GTP como fuente de energía.

La reacción neta sería:



Los estudios llevados a cabo sobre las distintas actividades enzimáticas y mediante la utilización de precursores marcados, parecen concluir que este ciclo no juega un papel importante en la producción de  $\text{NH}_3$  en los peces (26) (27) (28), aunque sí podría tener una participación significativa en el músculo.

Los aminoácidos no esenciales son, en general, desaminados y catabolizados más rápidamente que los esenciales; no obstante, no se han podido identificar los mecanismos bioquímicos que expliquen este hecho (11).

Por último, muchos peces de aguas cálidas tales como la tilapia, la anguila o el carpín dorado, son capaces de adaptarse a condiciones de hipoxia e incluso de sobrevivir bastantes horas en anoxia total. Sin embargo, no muestran una disminución en la tasa de excreción de amoniaco, concòmitante al descenso de oxígeno del medio. Ello sugiere la existencia de un componente anaeróbico en la amoniogénesis (2); un fenómeno complejo que involucra varias vías metabólicas.

En el carpín dorado, sujeto preferente de esta clase de estudios, parecen contribuir a la amoniogénesis anaeróbica: el ciclo de los nucleóticos purínicos en el músculo (29), la desaminación de los adenilatos tisulares hasta IMP y  $\text{NH}_3$ , vía adenilato desaminasa (30) e incluso, la transformación de alanina en etanol,  $\text{CO}_2$  y  $\text{NH}_3$  (31) (32). En cualquier caso, son muchos los interrogantes que plantean estos mecanismos anaeróbicos (incluyendo la posible existencia de un desconocido aceptor de electrones mitocondrial, ya que en estos peces, el ciclo de Krebs es capaz de funcionar lentamente durante la anaerobiosis (2).

## LOCALIZACION TISULAR DE LA PRODUCCION Y DISTRIBUCION DEL $\text{NH}_3$

La contribución de los diversos órganos y tejidos de los peces a la amoniogénesis ha sido objeto de numerosos estudios, e incluso controversias, durante las últimas dos décadas. En un principio, se consideraron las branquias como lugar preferencial de formación de  $\text{NH}_3$  (33), aunque estudios posteriores no pudieron confirmar esta hipótesis (34). Así, mediante el análisis de la concentración de amoniaco en varios vasos sanguíneos y experimentos de perfusión de cabezas aisladas de trucha arco iris (35) (36) (26), se concluyó que es el hígado el que juega un papel esencial en la amoniogénesis de los peces (alrededor de un 70% de la producción total). No obstante, el metabolismo branquial puede aportar entre el 15 y 20% del amoniaco excretado.

Pequeñas cantidades de  $\text{NH}_3$  son también producidas por músculo y riñón, como se demostró en anguilas hepatectomizadas (37), las cuales no mostraron modificaciones en la excreción basal de  $\text{NH}_3$ . Sin embargo, estos peces fueron incapaces de desaminar un "exceso" de aminoácidos tal como el que se produce tras la comida.

La importancia cuantitativa de la contribución renal y muscular a la amoniogénesis global es, pues, mayor en estados postabsortivos y proporcional, por lo que respecta al músculo, al nivel de actividad del mismo (38) (39).

Con respecto a la amoniogénesis anaerobia, los datos disponibles, referentes a carpín dorado y anguila, apuntan a una disminución de la contribución del tejido hepático y a un aumento de la producción de  $\text{NH}_3$  muscular (32).

Por lo que concierne a la distribución del  $\text{NH}_3$  formado en los compartimentos



tisulares, hay que hacer referencia al carácter polar de la molécula de amoniaco, capaz en solución acuosa de captar un protón, convirtiéndose en ión amonio:



El tiempo medio de esta reacción es extremadamente corto: menos de 50 mseg. (40). El equilibrio se desplaza hacia la fracción ionizada al disminuir el pH y la temperatura y al aumentar la concentración iónica de la solución (41).

A pH fisiológico, casi todo el amoniaco en los tejidos del pez se halla en forma ionizada. Por otra parte, las membranas celulares son relativamente impermeables al ión amonio, mientras que el amoniaco no ionizado es altamente difusible. Presenta una tasa de difusión a través de las membranas biológicas, semejante a la del CO<sub>2</sub> (42). Así la transferencia de amoniaco entre compartimentos corporales dependerá del gradiente de difusión para la forma no ionizada (NH<sub>3</sub>). De acuerdo con lo anterior, una disminución del pH en un compartimento corporal determinado, producirá un decremento en la concentración de la forma no ionizada con respecto al NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, con el resultado de un flujo pasivo hacia el interior de HG3 no ionizado; el cual se combina inmediatamente con protones y es "atrapado" en forma de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> conforme el sistema se aproxima al equilibrio. Por consiguiente, la concentración total de amoniaco (NH<sub>3</sub> + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) aumenta al disminuir el pH. Así, la distribución del amoniaco en los distintos compartimentos corporales es dependiente del pH y, puesto que el pH intracelular es considerablemente menor que el de los fluidos extracelulares, serían de esperar concentraciones intracelulares de amoniaco total relativamente altas (43).

Sin embargo, recientes estudios indican que esto no es totalmente cierto, al menos en el músculo de la trucha y el lenguado (44) (45). Las membranas celulares en el músculo parecen ser bastante permeables al NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y la distribución de amoniaco entre plasma y músculo, más que por el gradiente de pH, podría estar determinada por los potenciales de membrana.

## MECANISMOS DE EXCRECIÓN DE NH<sub>3</sub>

El principal lugar de excreción de amoniaco son las branquias, aunque pequeñas fracciones pueden ser excretadas por el riñón, apareciendo en orina, y a través de la piel (46) (47).

Se han propuesto tres mecanismos principales por los que se llevaría a cabo la excreción branquial de amoniaco (48): difusión pasiva de NH<sub>3</sub> (no ionizado), intercambio iónico de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por Na<sup>+</sup> y difusión pasiva de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Existen pocas dudas en cuanto a la importancia de la contribución del primer mecanismo a la excreción de amoniaco. De hecho, existe una correlación positiva entre los cambios del gradiente de presión parcial de NH<sub>3</sub> y los de la excreción neta de amoniaco (49). Por otra parte, el gradiente de la forma no ionizada puede determinar que, en lugar de excreción, exista una entrada neta de NH<sub>3</sub> hacia el pez (50).

Por lo que respecta a la excreción de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> acoplada con el intercambio de Na<sup>+</sup>, aunque existen numerosas evidencias indirectas de su existencia, aún permanecen muchas incógnitas sin despejar respecto a su funcionamiento y ubicación (43),

debido, fundamentalmente, a dificultades metodológicas en la investigación. El intercambio  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$  probablemente se realice en la membrana apical del epitelio branquial y podría ser dependiente del pH, ya que la captación de  $\text{Na}^+$  por las branquias es máxima a un pH comprendido entre 7 y 8, declinando al alejarse el pH de este rango (49) (43); por consiguiente, en circunstancias de acidez del agua, se inhibe el flujo de  $\text{Na}^+$  a través de las branquias, resultando una disminución de la excreción de amoníaco. Se ha propuesto que este mecanismo alcanzaría su importancia real sólo cuando la excreción de  $\text{NH}_3$  por difusión pasiva hubiera alcanzado su equilibrio (49) o cuando exista una inversión de gradientes y, por tanto, del flujo de  $\text{NH}_3$ . En esta situación, el intercambio  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$  podría ser operativo para compensar el paso de  $\text{NH}_3$  desde el agua al interior del animal (42).

Aunque la difusión pasiva de  $\text{NH}_4$  a favor de gradiente electroquímico podría contribuir a la excreción neta de amoníaco (51), sin embargo, este parece ser un mecanismo muy minoritario (52); puesto que los lípidos de las membranas son relativamente impermeables a los cationes y las células epiteliales branquiales están unidas por "uniones estrechas" que dificultan la difusión.

El flujo laminar de agua a través de las branquias posibilita la existencia de un doble gradiente de los productos de excreción conforme pasan del pez al agua. En primer lugar, existe un gradiente en sentido "longitudinal", según el agua fluye a lo largo del epitelio branquial. El sentido del otro gradiente es "perpendicular" al primero y se establece entre las distintas capas que conforman el flujo de agua.

Dada la alta tasa de eliminación de  $\text{CO}_2$  por las branquias y la existencia de anhidrasacarbónica en la capa mucosa que recubre el epitelio branquial (43), la capa de agua más próxima a las branquias se acidificará y presentará un pH más bajo que el agua intralamelar. Obviamente, este hecho altera el gradiente de pH entre sangre y agua y, consiguientemente, el paso de  $\text{NH}_3$  a través de la barrera branquial. Existe pues una influencia de la excreción branquial de  $\text{CO}_2$  sobre la de amoníaco. Este fenómeno conlleva una disminución de la toxicidad del amoníaco, puesto que al aumentar el  $\text{CO}_2$  disminuye el pH y, con él, la proporción de  $\text{NH}_3$  (no ionizado) en solución; siendo esta forma la de mayor efecto tóxico (53).

Sin embargo, una acidificación generalizada del medio acuático, podría producir una disminución del pH sanguíneo y aumentar los niveles totales de amoníaco en sangre, para una concentración dada de  $\text{NH}_3$  no ionizado. Este aspecto requiere aún posteriores estudios donde se determinen con mayor exactitud los gradientes de pH y  $\text{NH}_3$  (43).

Por último, los niveles elevados de amoníaco en el medio, así como la hipercapnia y el ejercicio, provocan un aumento en la capacidad de difusión branquial del amoníaco (43). Este hecho podría ser debido a una mayor acidificación de la capa de agua limitante con las branquias que "atraparía" el amoníaco como  $\text{NH}_4^+$ , aumentando la diferencia entre sangre y agua de la forma no ionizada. Por otra parte, es factible que se produzca en las branquias un incremento en el coeficiente de permeabilidad del  $\text{NH}_3$ , posiblemente relacionado con mayores niveles de catecolaminas circulantes (54).



**BIBLIOGRAFIA**

- (1) MEADE, J. V. (1985). *Prog. Fish. Cult.*, 47: 135-145
- (2) VAN WAARDE, A. (1983). *Comp. Biochem. Physiol.*, 74 B: 675-684.
- (3) BRETT, J. R.; ZALA, C. A. (1975). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 32: 2479-2486.
- (4) ATHERTON, W.D.; AITKEN, A. (1970). *Comp. Biochem. Physiol.*, 36: 719-747.
- (5) CARDENETE, G.; GARCIA, M.; ZAMORA, S. (1986). *Ars Pharm.*, XXVII (2): 119-128.
- (6) NAGAI, M.; IKEDA, S. (1971). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 37: 404-409.
- (7) MORATA, P.; VARGAS, A. M.; SANCHEZ-MEDINA, F.; GARCIA, M.; CARDENETE, G.; ZAMORA, S. (1982). *Comp. Biochem Physiol.*, 71 B: 65-70.
- (8) DIANA, J. S. (1982). *Comp. Biochem Physiol*, 71 A: 395-399.
- (9) DAVE, G.; JOHANSSON-SJOBECK, M. L.; LARSSON, A.; LEWANDER, K.; LIDMAN, U. (1975). *Comp. Biochem. Physiol.*, 52 A: 423-430.
- (10) CREACH, Y.; SERFATY, A. (1974). *J. Physiol.*, París, 68: 245-260.
- (11) WALTON, M. (1987). En: "Nutrición en Acuicultura". Vol. I. J. Espinosa de los monteros y U. Labarta Eds. CAICYT. Madrid. Pg. 225-303.
- (12) SCHOOLER, J. M.; GOLDSTEIN, M.; HARTMAN, S.C.; FOSTER, R. P. (1966). *Comp. Biochem Physiol*; 18: 271-281.
- (13) READ, L. J. (1967). *Nature, Lond.*, 215: 1412-1413.
- (14) READ, L. J. (1968). *Comp. Blochem. Physiol.*, 24: 669-674.
- (15) HUGGINS, A. K.; SKUTSCH, G.; BALDWIN, E. (1969). *Comp. Biochem. Physiol.*, 28: 587-603.
- (16) DEPECHE, J.; GILLES, R.; DAUFRESNE, S.; CHIAPELLO, H. (1979). *Comp. Biochem. Physiol.*, 63 A: 51-56.
- (17) WILSON, R. P. (1973). *Comp. Biochem. Physiol.*, 46 B: 625-634.
- (18) VELLAS, F.; SERFATY, A. (1974). *J. Physiol.*, París, 68: 591-614.
- (19) CVANCARA, V.A. (1969). *Comp. Biochem. Physiol.*, 30, 489-496.
- (20) GOLDSTEIN, L.; FOSTER, R.P. (1965). *Comp. Biochem. Physiol.*, 14: 567-576.
- (21) CARDENETE, G. (1983). Tesis Doctoral Univ. Granada. Ed. Serv. Publ. Univ. Granada. 234 pgs.
- (22) BEAMISH, F. W. H.; THOMAS, E. (1984). *Aquaculture*, 41: 359-371.
- (23) KAUSHIK, S. J.; FAUCONNEAU, F.; BLANC, J. M. (1984). *Reprod. Nutr. Develop.*, 24: 431-438.
- (24) BRAUNDSTEIN, A. E. (1957). *Adv. Enzymol*, 19: 335-377.
- (25) LOWENSTEIN, J. M. (1972). *Physiol. Rev.*, 52: 384-414.
- (26) WALTON, M.; COWEY, C. B. (1977). *Comp. Biochem. Physiol*, 57B: 143-149.
- (27) VAN WAARDE, A. (1981). *Comp. Biochem. Physiol.*, 68 B: 407-413.
- (28) CAMPBELL, J. W.; ASTER, P. L.; VORHABEN, J. E. (1983). *Am. J. Physiol.*, 244: 709-713.
- (29) VAN WAARDE, A.; DE WILDE, M. (1982). *Comp. Biochem. Physiol.*, 72 B: 133-136.
- (30) VANDEN THILLAR, G.; KESBEKE, F.; VAN WAARDE, A. (1980). *J. Comp. Physiol.*, 136: 45-52.
- (31) MOURIK, J.; RAEVEN, P.; STENR, K.; ADDINK, A. D. F. (1982). *FBS Lett.*, 137: 111-117.

- (32) VAN WAARDE, A.; VAN DEN THILLAR, G.; DOBBE, F. (1982). *Comp. Biochem. Physiol.* 147: 53-59.
- (33) GOLDSTEIN, L.; FOSTER, R.P. (1961). *Am. J. Physiol.*, 200: 1116-1118.
- (34) GOLDSTEIN, L.; FOSTER, R. P.; FANELLI, G. M. (1964). *Comp. Biochem. Physiol.*, 12: 489-499.
- (35) PEQUIN, L.; SERFATY, A. (1963). *Comp. Physiol.*, 10: 315-324.
- (36) PAYAN, P.; MATTY, A. J. (1975). *J. Comp. Physiol*, 96: 167-184.
- (37) KENYON, A. J. (1967). *Comp. Biochem. Physiol.*, 22: 169-175.
- (38) FRASER, D. I.; DYER, W. J.; WEINSTEIN, H. M.; DINGLE, J. R.; HINES, J. H. (1966). *Can J. Biochem.*, 44: 1015-1033.
- (39) DRIEDZIC, W. R.; HOCHACHKA, P. W. (1976). *Am. J. Physiol.*, 230: 579-582.
- (40) STUMM, W.; MORGAN, J. J. (1981). En: "Aquatic Chemistry". 2ª edic. J. Wiley & Sons, New York. Pg. 230-256.
- (41) THURSTON, R. V.; RUSSO, R. C.; EMERSON, K. (1979). *Environm. Protect. Agency Ecol. Res. Ser.*, EPA 600: 3-79.
- (42) CAMERON, J. N.; HEISLER, N. (1983). *J. Exp. Biol.*, 105: 107-125.
- (43) RANDALL, D. J.; WRIGHT, P. A. (1987). *Fish. Physiol. Biochem.*, 3: 107-120.
- (44) WRIGHT, P. A.; WOOD, C. M.; (1988). *Fish. Physiol. Biochem.*, 5: 159-162.
- (45) WRIGHT, P. A.; RANDALL, D. J.; WOOD, C. M. (1988). *J. Exp. Biol.*, en prensa. Citado por (44).
- (46) MAETZ, J. (1972). *J. Exp. Biol.*, 56: 601-620.
- (47) MORII, H.; NISHIKATA, K.; TAMURA, O. (1978). *Comp. Biochem. Physiol.*, 60 A: 189-193.
- (48) EVANS, D. H. (1984). I Int. Cong. *Comp. Physiol. Biochem.*, Abs. B 26. Lieja.
- (49) WRIGHT, P. A.; WOOD, C.M. (1985). *J. Exp. Biol.*, 114: 329-353.
- (50) FROMM, P. O.; GILLETTE, J. R. (1968). *Comp. Biochem. Physiol*, 26: 887-896.
- (51) GOLDSTEIN, L.; CLAIBORNE, J. B.; EVANS, D. H. (1982). *J. Exp. Zool.*, 219: 387-395.
- (52) KORMANIK, G. A.; CAMERON, J. N.. (1981). *Mar. Biol. Letters*, 2: 11-23.
- (53) MOYANO, F. J.; CARDENETE, G. (1988). *Ars. Pharm.*, en prensa
- (54) JENEY, G.; JENEY, L.; OLAH, J.; GYORE, K.; NEMCSOK, J.; BOROSS, L. (1982). *Acta Bioch. Biophys. Acad. Sci. Hung.*, 17: 79.