

**ESTUDIO BIOQUIMICO PRELIMINAR DE LA
ESCALOPA *Argopecten circularis***

**A PRELIMINARY BIOCHEMICAL STUDY OF THE
SCALLOP *Argopecten circularis***

Saúl Escarria
Carlos Reyes
Donald Rohan

Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey
Departamento de Ciencias Marítimas
Apartado 484
Guaymas, Sonora, México

Escarria, S., Reyes, C. y Rohan, D. Estudio bioquímico preliminar de la escalopa *Argopecten circularis*. A Preliminary Biochemical Study of the Scallop *Argopecten circularis*. Ciencias Marinas, 15(1):63-72, 1989.

RESUMEN

En el presente estudio se investigaron algunos aspectos relacionados con la bioquímica y el comportamiento de la escalopa "catarina" *Argopecten circularis* (Sowerby), bajo condiciones anóxicas. Se experimentó sobre consumo de oxígeno, contenido de glicógeno, relación de adenín-nucleótidos y características oxidativas de extractos de ganglios cerebrales. Se determinó el cese de respiración a 20°C al alcanzar un valor de oxígeno disuelto de 0.16ppm, siendo la tolerancia a anoxia de 30 horas al ser inducida ésta gradualmente en los especímenes. También se determinó en vísceras la presencia de varios aminoácidos libres y en gónadas los carotenoides más abundantes.

ABSTRACT

In the present study some aspects related to the biochemistry and behaviour of the "catarina" scallop *Argopecten circularis* (Sowerby) were studied, under anoxic conditions. The consumption of oxygen, glycogen content, adenine-nucleotide relation and oxidative characteristics of cerebral ganglia extracts were experimented on. The ceasing of respiration was determined at 20°C on reaching a value of dissolved oxygen of 0.16ppm, 30 hours being the tolerance to anoxia on being induced gradually in the specimens. Also determined were the presence of several free amino acids in viscera and the most abundant carotenoids in gonads.

INTRODUCCION

Esta investigación se emprendió inicialmente con la finalidad de conocer las causas de mortalidad en un cultivo de *A. circularis* en cajas flotantes durante el mes de julio de 1985. Dicho cultivo piloto está situado a pocos metros de las instalaciones de la Escuela de Ciencias Marinas del Instituto Tecnológico

INTRODUCTION

This research project was initially undertaken in order to study the causes of mortality in a culture of *A. circularis* in floating boxes during July 1985. The pilot culture is located a few metres from the installations of the Escuela de Ciencias Marinas of the Instituto Tecnológico y de Estudios

y de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM) en las tranquilas aguas de la Bahía de Bacochibampo (27°54'13"N-27°55'20"N y 110°58'18"W-110°59'33"W), en el Estado de Sonora.

Como es de esperarse, en esta bahía debido a las altas temperaturas, debe presentarse una considerable disminución del oxígeno disuelto y por lo tanto es probable que existan estados permanentes de hipoxia durante el verano. En esas condiciones, los organismos dependerán de la glicólisis para abastecerse de energía en forma de ATP.

Se han empleado diferentes criterios en estudios similares. Herreid (1980) señala las consecuencias que tendrá el tratamiento que se le da a los productos finales de anaerobiosis en el consumo de oxígeno (deuda de oxígeno).

ANTECEDENTES

Investigadores como Zs.Nagy y Ermini (1972b) describen la capacidad oxidativa de extractos ganglionares sobre NADH, considerándolos ricos en citosomas, que son organelos neurales donde abundan carotenoides y fosfolípidos. Estos al parecer tienen la capacidad de aceptar electrones estando involucrados en la producción de ATP mediante un mecanismo conocido como "oxidación endógena". Schottler (1967) y otros investigadores establecieron la proporción de adenín-nucleótidos y las relaciones con la fórmula de Atkinson (1967), para determinar la carga energética (EC), que se relaciona directamente con la energía almacenada. Lehninger (1983), la establece así:

$$\text{Nivel Energetico} = \frac{1}{2} \frac{[ADP + 2ATP]}{[AMP] + [ADP] + [ATP]}$$

Badman y Chin (1973) determinaron la concentración de glicógeno y su consumo durante la transición aerobiosis-anaerobiosis (Efecto Pasteur). De Zwaan (1983) explica gráficamente la formación de otros metabolitos en el ciclo de Krebs al someter escalopas a tres diferentes tiempos de hipoxia.

Superiores de Monterrey (ITESM), in the calm waters of the Bacochibampo Bay (27°58'13"N-27°55'20"N and 110°58'18"W-110°59'33"W), in the state of Sonora.

Due to high temperatures, there should be a considerable decrease of dissolved oxygen in this bay and, therefore, permanent conditions of hypoxia probably exist during the summer. In these conditions, the organisms will depend on glycolysis to supply themselves with energy in ATP form.

Different criteria have been used in similar studies. Herreid (1980) indicates the consequences that the treatment given to the end products of anaerobiosis will have on oxygen consumption (oxygen debt).

ANTECEDENTS

Zs.Nagy and Ermini (1972b) describe the oxidative capacity of ganglionic extracts on NADH, considering them rich in cytosomes, which are neural organelles where carotenoids and phospholipids abound. These seem to be capable of accepting electrons while being involved in the production of ATP through a mechanism known as "endogenous oxidation". Schottler (1967) and others established the proportion of adenine-nucleotides and the relations with Atkinson's (1967) formula in order to determine the energetic charge (EC), which is directly related to the stored energy. Lehninger (1983), establishes it as follows:

$$\text{Energetic Level} = \frac{1}{2} \frac{[ADP + 2ATP]}{[AMP] + [ADP] + [ATP]}$$

Badman and Chin (1973) determined the concentration of glycogen and its consumption during the aerobiosis-anaerobiosis transition (Pasteur effect). De Zwaan (1983) gives a graphic explication of the formation of other metabolites in the Krebs cycle on subjecting scallops to three different times of hypoxia.

MATERIALES Y METODOS

Consumo de Oxígeno

Se conectó un oxígeno metro Yellow Spring a frascos sellados que contenían cinco escalopos de 3.5cm de ancho y 14 veces su volumen de agua. Se tomaron lecturas a 20°C cada cuatro minutos hasta obtener un valor constante. Se obtuvo en esta forma el tiempo de tolerancia a anoxia así como el valor mínimo de oxígeno disuelto al que cesa la respiración y los cambios aparentes de regulación durante dicho consumo.

Adenín Nucleótidos

Se sometieron tres grupos de escalopos a diferentes intervalos de hipoxia, 0.5, 3 y 14 horas respectivamente. Las extracciones de adenín-fosfatos se realizaron según Zs.Nagy (1972a), cuyos pasos principales son: homogenización del músculo "in toto" con ácido perclórico, centrifugación, neutralización con KOH 5 N y elución del sobrenadante por una columna de intercambio iónico Dowex 200-400. Los eluyentes fueron: HCl 0.003 N para AMP; HCl 0.01 N + NaCl 0.02 N para ADP y HCl 0.01 N + NaCl 0.2 N, para ATP. A las fracciones de estos nucleótidos se les leyó su absorbancia en un espectrofotómetro Perkin-Elmer, 202.

Glicógeno

La extracción y determinación se realizaron según Rao y Prasada-Rao (1982) y De Zwaan y Zandee (1972). La preparación de los reactivos, se hizo según Umbreit *et al.* (1972). El proceso consistió en tratar todas las partes internas con ácido tricloroacético, al 30%, para desproteinizar, luego con KOH al 30%, seguido de neutralización, centrifugación y precipitación del glicógeno con etanol. Se procedió entonces a enfriar, centrifugar e incubar añadiendo antrona, para medir la absorbancia a 620nm. Se comparó con un estándar de concentración 10%. Se midió la concentración de extractos de organismos frescos, así como de aquellos que habían sido sometidos a hipoxia, a las 15 horas.

MATERIALS AND METHODS

Oxygen Consumption

A Yellow Spring oxygen meter was connected to sealed flasks containing scallops 3.5cm wide and 14 times their volume of water. Readings were taken at 20°C every four minutes until obtaining a constant value. In this way the tolerance time to anoxia was obtained as well as the minimum value of dissolved oxygen at which respiration stops and the apparent changes of regulation during the consumption.

Adenine-Nucleotides

Three groups of scallops were subjected to different intervals of hypoxia, 0.5, 3 and 14 hours respectively. The adenine-phosphate extractions were carried out according to Zs.Nagy (1972a). The main steps are: homogenization of the muscle "in toto" with perchloric acid, centrifugation, neutralization with KOH 5 N and elution of the supernatant through a Dowex 200-400 ionic exchange column. The eluants were: HCl 0.003 N for AMP, HCl 0.01 N + NaCl 0.02 N for ADP and HCl 0.01 N + NaCl 0.2 N for ATP. The absorbance of the fractions of these nucleotides was read on a Perkin-Elmer 202 spectrophotometer.

Glycogen

The extraction and determination were carried out according to Rao and Prasada-Rao (1982) and De Zwaan and Zandee (1972). The preparation of the reagents was done according to Umbreit *et al.* (1972). The process consisted in treating all the internal parts with trichloroacetic acid (30%) to deproteinize, then with KOH (30%), followed by neutralization, centrifugation and precipitation of the glycogen with ethanol. This was then cooled, centrifuged and incubated adding anthrone, to measure the absorbance at 620nm. It was then compared to a 10% concentration standard. The concentration of extracts from fresh organisms was measured, as well as from those that had been subjected to hypoxia, at 15 hours.

Oxidación Endógena

Se hicieron extractos etanólicos de ganglios cerebrales de *A. circularis*, en el pie, esófago y porción antero-ventral del músculo aductor. Se hizo un tratamiento similar al propuesto por Zs.Nagy (1972b).

Carotenoides

Se hicieron extractos de gónadas de organismos frescos y también de material sujeto a anoxia. Esta experimentación se realizó durante los meses de marzo y abril de 1987, por ser la época en que las gónadas han alcanzado el mayor crecimiento. Los carotenoides se extrajeron del material homogenizado con la mezcla de éter de petróleo-acetona-agua (60:30:10). Todos los experimentos incluyendo saponificación, cromatografía en columna y en placa delgada se hicieron en ausencia de luz para evitar oxidaciones. En las cromatografías se utilizó gel de sílice como fase estacionaria. Para correr las placas, se usó como fase móvil cloroformo-acetato de etilo (4:1) y como agente cromogénico luz ultravioleta. La otra fracción se redisolvió en ciclohexano para obtener el espectro visible en un equipo Beckman, Mod. 25.

Aminoácidos Libres

Simultáneamente a la determinación de carotenoides se hizo un homogenizado de vísceras con buffer de fosfato a pH 8. Luego se centrifugó y se le añadió isopropanol a la fracción líquida. Se hicieron varias cromatografías en papel en forma descendente, ascendente o bidimensionales, obteniéndose un resultado satisfactorio cuando se utilizó como fase móvil butanol-ácido acético-agua (BAW) (75:10:15), revelando con Ninhidrina y comparando con aminoácidos puros.

RESULTADOS

La Figura 1 se refiere al consumo de oxígeno, nos muestra la forma como va disminuyendo la concentración de dicho elemento a través del tiempo. Comenzando con una concentración inicial de 7.1ppm, bastaron

Endogenous Oxidation

Ethanolic extracts were made of cerebral ganglia of *A. circularis*, in the foot, oesophagus and antero-ventral portion of the adductor muscle. A treatment similar to that proposed by Zs.Nagy (1972b) was carried out.

Carotenoids

Extracts of gonads from fresh organisms were done and also of material subject to anoxia. This experiment was carried out during March and April 1987, as it was the epoch in which the gonads had reached maximum growth. The carotenoids were extracted from the homogenized material with the ether mixture of petroleum-acetone-water (60:30:10). All the experiments, including saponification, column and thin plate chromatography, were done in the absence of light in order to prevent oxidations. During the chromatography, silica gel was used as stationary phase. In order to run the plates, chloroform-ethyl acetate (4:1) was used as mobile phase and ultraviolet light as the chromogenic agent. The other fraction was redissolved in cyclohexane in order to obtain the visible spectrum with a Beckman instrument, Mod. 25.

Free Amino Acids

At the same time as the determination of carotenoids, a homogenization of viscera with a phosphate buffer, pH 8, was carried out. It was then centrifuged and isopropanol was added to the liquid part. Several paper chromatographies were done, in descending, ascending and bidimensional form, obtaining a satisfactory result when butanol-acetic acid-water (BAW) (75:10:15) was used as mobile phase, developing with ninhydrin and comparing with pure amino acids.

RESULTS

Figure 1 refers to oxygen consumption and shows how the concentration of this element decreases with time. Starting with an

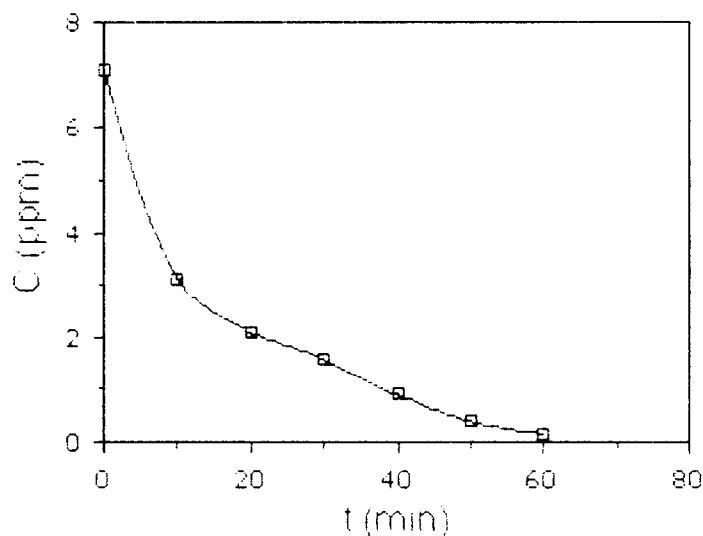


Figura 1. Disminución de la concentración de oxígeno durante 60 minutos a 20°C, en frascos sellados.

Figure 1. Decrease of the concentration of oxygen during 60 minutes at 20°C, in sealed flasks.

60 minutos para alcanzar un valor constante de 0.16ppm. Este se mantendrá durante 30 horas, hasta la muerte de los organismos.

initial concentration of 7.1ppm, only 60 minutes were necessary to reach a constant value of 0.16ppm. This was maintained for 30 hours until the death of the organisms.

Reagrupando los valores utilizados para la Figura 1, de tal manera que se relacione el consumo de oxígeno a diferentes concentraciones se obtiene la Figura 2. La línea de trazo más suave corresponde a la de regresión lineal. Los resultados que se relacionan con la concentración de adenín-nucleótidos se observan en la Figura 3, a tres diferentes intervalos de hipoxia. En la parte inferior se muestra la carga energética (EC), cuyos valores son: 37.4, 39.7 y 37.9, respectivamente. Los intervalos de variación de la concentración en nmol/g de peso húmedo para los diferentes nucleótidos así como el aumento porcentual al final del intervalo de 14 horas, aparecen en la Tabla I.

Figure 2 is obtained by regrouping the values used in Figure 1, in such a way that the oxygen consumption relates to different concentrations. The smoothest line corresponds to that of linear regression. The results regarding the concentration of adenine-nucleotides can be seen in Figure 3, at three different intervals of hypoxia. The energetic charge (EC) is shown in the lower part and the values are 37.4, 39.7 and 37.9, respectively. The variation ranges of the concentration in nmol/g wet weight for the different nucleotides as well as the percentage increase at the end of 14 hours, appear in Table I.

Los resultados sobre el contenido de glucógeno en porcentaje, en *A. circularis* fueron los siguientes: con un valor del 5% a las 15 horas de estar el organismo sujeto a hipoxia y del 12.4% cuando se hizo la determinación con especímenes frescos.

The results regarding the glycogen content, in percentage, in *A. circularis* were the following: a value of 5% at 15 hours of the organism being subjected to hypoxia and of 12.4% when the determination was made with fresh specimens.

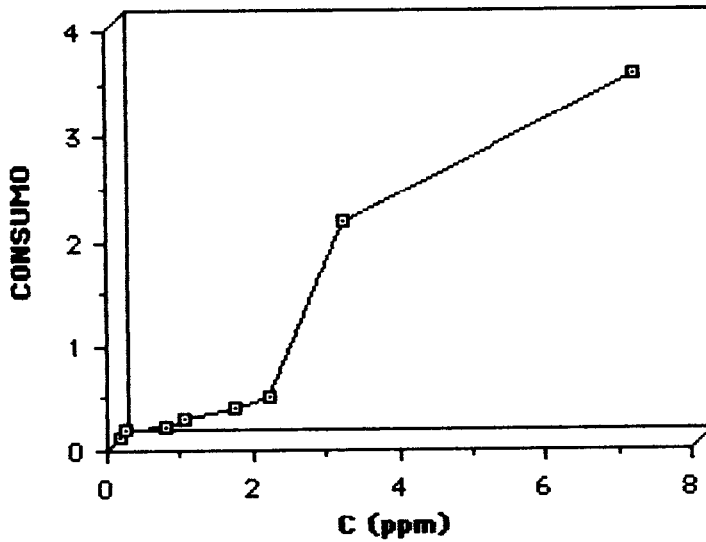


Figura 2. Relación entre el consumo de oxígeno y su concentración.
Figure 2. Relation between oxygen consumption and its concentration.

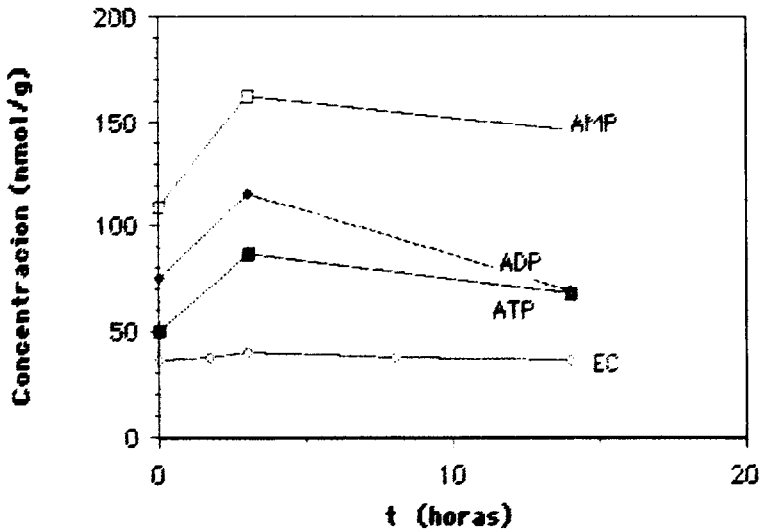


Figura 3. Concentración de adenín-nucleótidos y carga energética durante 14 horas de anaerobiosis.
Figure 3. Concentration of adenine-nucleotides and energetic charge during 14 hours of anaerobiosis.

Tabla I. Intervalos de variación y aumento porcentual, durante 14 horas de anaerobiosis.
Table I. Variation ranges and percentage increase, during 14 hours of anaerobiosis.

	0 (horas)	3 (horas)	14 (horas)
AMP	110	162.5	146.5
ADP	75	115.3	69.0
ATP	50	86.9	67.7

Resultados sobre oxidación endógena. A los extractos etanólicos de ganglios se les corrieron espectros ultravioleta, a diferentes períodos de hipoxia, 0.5, 3 y 14 horas respectivamente. En todos los casos se observó una absorbancia similar a 260nm. En la región de 290nm se observó una pérdida de absorbancia a medida que avanzaba el tiempo de hipoxia.

Presencia de amino e iminoácidos. Las diferentes cromatografías en papel, ascendentes, descendentes y bidimensionales demostraron la presencia de los siguientes compuestos: glicina, alanina, histidina, citrulina, taurina, glicilbetaina, octopina y trimetilamina.

Los carotenoides purificados resultaron ser Luteína y Astaxantina.

DISCUSION

De la información obtenida y registrada en la Figura 1, se deduce que la escalopa *A. circularis* es un "buen regulador" tanto aeróbica como anaeróbicamente. Por el análisis de las pendientes se pudo deducir que a partir de 7.1ppm de oxígeno disuelto se encuentra una conformación aeróbica perfecta, donde la conductancia permanece constante. Una vez alcanzado el valor de 3.1ppm, primer Pc (presión crítica) el consumo de oxígeno disminuye más rápidamente. Esto puede indicar que el cambio a anaerobiosis requiere de cuatro minutos.

Una vez alcanzado el valor de 2.1ppm, la escalopa muestra una respuesta poikilometabólica, o sea una conformación anaeróbica perfecta. Durante ese tiempo, ocho mi-

Results on endogenous oxidation. Ultraviolet spectra were run on the ethanolic extracts of ganglia at different periods of hypoxia, 0.5, 3 and 14 hours respectively. An absorbance similar to 260nm was observed in all cases. In the region of 290nm, a loss of absorbance was observed as the time of hypoxia increased.

Presence of amino and imino acids. The different paper chromatographies, ascending, descending and bidimensional, showed the presence of the following compounds: glycine, alanine, histidine, citrulline, taurine, glycy-betaine, octopine and trimethylamine.

The purified carotenoids were lutein and astaxanthin.

DISCUSSION

From the information obtained and recorded in Figure 1, it is inferred that the scallop *A. circularis* is a "good regulator", both aerobic and anaerobically. From the analysis of the slopes it was possible to infer that starting from 7.1ppm of dissolved oxygen a perfect aerobic conformation is found, where the conductance remains constant. Once the value of 3.1ppm has been reached, first Pc (critical pressure), the consumption of oxygen decreases faster. This could indicate that the change to anaerobiosis requires four minutes.

Once the value of 2.1ppm has been reached, the scallop shows a poikilometabolic response, that is, a perfect anaerobic conformation. During that time, eight minutes, the anaerobic efficiency begins to rise and on reaching the value of 1.6ppm, a homeo-

nutos, el rendimiento anaeróbico comienza a elevarse y al alcanzar el valor de 1.6ppm, aparece una respuesta homeometabólica, donde se eleva el metabolismo para compensar la disminución de consumo de oxígeno (Herreid, 1980). En 0.9ppm, se establece el segundo Pc. Entre 0.9 y 0.7 aparece un consumo de oxígeno conformador, que no predomina por mucho tiempo. En 0.7 se restablece el comportamiento homeometabólico y al llegar a 0.4ppm comienza un consumo de oxígeno curvilíneo con una sensible baja de conductividad. Al alcanzar el valor de 0.16ppm la respiración cesa debido a que la tensión de oxígeno no es suficiente para vencer la resistencia de los tejidos.

Sobre adenín-nucleótidos, se observó que la relación ATP/ADP aumenta de 0.7 a 0.98, lo que implica una activación de las enzimas anabólicas. Este sutil equilibrio, puede explicar por qué el consumo de glicógeno no es excesivo. Schottler (1967) establece que para células normales la carga energética (EC) varía entre 0.75 a 0.95 y que un valor menor a éste aumenta la actividad de las enzimas catabólicas, por lo que se incrementa también la tolerancia a anoxia.

Los resultados obtenidos sobre glicógeno bajo condiciones anóxicas, mostraron un valor del 5%. O'Doherty y Feltham (1971) establecen que para el músculo aductor de *Placopecten magellanicus*, el contenido de glicógeno equivale al 3% del peso húmedo. Barber y Blake (1981) reportan 12.8% en glándula digestiva de *Argopecten irradians* para fechas similares, es decir, durante el mes de julio. La diferencia con los investigadores antes nombrados puede provenir de que aquí se trabajó con la totalidad del organismo, donde el hepatopáncreas se comporta como el regulador del metabolismo de los carbohidratos (Zs.Nagy y Ermini, 1972b).

Sobre la oxidación endógena, se establece aquí, que la pérdida de absorbancia a 290nm, parece ser similar a la que reporta Zs.Nagy y Ermini (1972a), dentro del intervalo de 230-280nm, donde sugieren que se debe a la reducción de uno de los componentes de los ganglios. Los mismos autores reportan que los citosomas poseen propiedades oxidativas, así

metabolic response appears, in which the anaerobic metabolism increases in order to compensate the decrease in oxygen consumption (Herreid, 1980). At 0.9ppm, the second Pc is established. Between 0.9 and 0.7 a conforming oxygen consumption appears, which does not prevail for a long time. At 0.7 the homeometabolic behaviour is re-established and on reaching 0.4ppm, a curvilinear consumption of oxygen begins with a noticeable drop in conductivity. On reaching the value of 0.16ppm, respiration stops since the oxygen tension is not sufficient to overcome the resistance of the tissues.

Regarding adenine-nucleotides, it was observed that the ATP/ADP relation increased from 0.7 to 0.98, which implies an activation of the anabolic enzymes. This fine equilibrium can explain why the consumption of glycogen is not excessive. Schottler (1967) establishes that the energetic charge (EC) for the normal cells varies between 0.75 and 0.95 and that a lower value increases the activity of the catabolic enzymes, and therefore also increases the tolerance to anoxia.

The results obtained on glycogen under anoxic conditions, showed a value of 5%. O'Doherty and Feltham (1971) establish that for the adductor muscle of *Placopecten magellanicus*, the glycogen content is equivalent to 3% of the wet weight Barber and Blake (1981) report 12.8% in the digestive gland of *Argopecten irradians* for similar dates, that is, during July. The difference with the above authors can be due to the fact that in this study the whole organism, where the hepatopancreas behaves as the regulator of the metabolism of the carbohydrates (Zs.Nagy and Ermini, 1972b), was considered.

Regarding endogenous oxidation, it is established here that the loss of absorbance at 290nm, seems to be similar to that reported by Zs.Nagy and Ermini (1972a), within the 230-280nm range, where they suggest that it is due to the reduction of one of the components of the ganglia. The same authors report that the cytosomes possess oxidative properties, as well as acting as respiratory enzymes. Thus, in the absence of oxygen, the lipochrome pigment of these cytosomes can

como la de actuar como enzimas respiratorias, por lo que en ausencia de oxígeno el pigmento lipocrómico de dichos citosomas puede mantener la producción de ATP a un 60% de eficiencia.

Sobre carotenoides de las gónadas de *A. circularis*, se pudo establecer que los más abundantes eran Luteína y Astaxantina. Scheuer (1967) y Fox (1983) demuestran la abundancia de estos en muchos organismos marinos. El análisis se hizo de las cromatografías comparativas y del espectro visible a 447 y 473nm. Las concentraciones fueron del orden de 2×10^{-5} mg/g de gónadas, siendo éstos valores similares a los reportados por Simpson (1982) y Matsuno *et al.* (1969).

La investigación preliminar sobre aminoácidos libres, hizo que se confirmara la presencia de amino e iminoácidos normales en moluscos, los cuales en el caso de la escalopa y en unión de algunos azúcares se convierten posiblemente en excelentes potenciadores del sabor, según nuestra opinión y la de Wasserman (1979) y de Bishop *et al.* (1983).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el Campus Guaymas del ITESM por su ayuda para el uso de reactivos, equipos y aparatos, así como a los estudiantes de posgrado, Lorena Bringas, Francisco Castillo y Daniel Francis por su colaboración parcial en esta experimentación. El presente trabajo es parte del proyecto de investigación "Cultivo de Moluscos" en colaboración con el de "Extracción de Productos Naturales" que funcionan en este Instituto. Se recibió ayuda económica del Proyecto PCECBNA-021958 del CONACYT y de la International Science Foundation.

LITERATURA CITADA

Atkinson, F. (1967) Adenosine Triphosphate Conservation in Metabolic Regulation. *J. Biol. Chem.*, 242, pp. 3239-3241.

Badman, D. and Chin, L. (1973) Metabolic Responses of the Fresh Water Bivalve *Pleurobema coccineum* to anaerobic conditions. *Comp. Biochem. Physiol.*, 61B, pp. 85-92.

maintain the production of ATP at a 60% efficiency.

Regarding the carotenoids of the gonads of *A. circularis*, it was established that the most abundant were lutein and astaxanthin. Scheuer (1967) and Fox (1983) show the abundance of these in many marine organisms. The analysis was made from the comparative chromatographies and from the visible spectrum at 447 and 473nm. The concentrations were of the order of 2×10^{-5} mg/g of gonads, these values being similar to those reported by Simpson (1982) and Matsuno *et al.* (1969).

The preliminary study on free amino acids, confirmed the presence of normal amino and imino acids in molluscs, which in the case of the scallop and together with some sugars are possibly converted into excellent potentiators of taste, according to us and to Wasserman (1979) and Bishop *et al.* (1983).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the staff of the Guaymas Campus of the ITESM for their help and use of reagents, equipment and apparatus, as well as the postgraduate students, Lorena Bringas, Francisco Castillo and Daniel Francis for their partial collaboration in this experiment. This study is part of the research project "Cultivo de Moluscos" in collaboration with the project on "Extracción de Productos Naturales" which are carried out at this Institute. Financial assistance was received from CONACYT, Project No. PCECBNA-021958, and from the International Science Foundation.

English translation by Christine Harris.

Barber, B.C. and Blake, N.J. (1981) Energy Storage and Utilization in Relation to Gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol. 52, pp. 121-134.

Bishop, S.H., Ellis, L.L. and Burcham, J.M. (1983) Aminoacids Metabolism in Molluscs. *En: The Mollusca*, Vol. 1, P.W. Hochachka (ed.), Academic Press, pp. 292-293.

- Fox, D.L. (1983) Biochromy of the Mollusca. En: The Mollusca, Vol. 2, P.W. Hochachka (ed.), Academic Press, pp. 284-285.
- Herreid, C.F. (1980) Hypoxia in Invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 67A, pp. 311-320.
- Lehninger, A.L. (1983) Bioquímica. Ediciones Omega, p. 549.
- O'Doherty, J.A. and Feltham, L.A.W. (1971) Glycolysis and Gluconeogenesis in the Giant Scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin). *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 38B, pp. 543-551.
- Rao, Y.P. and Prasada-Rao, D.G.V. (1982) End Products of Anaerobic Metabolism in *Cerithidea cingulata*. *Can. J. Zool.*, 61, pp. 1304-1309.
- Matsuno, T., Ishida, T., Ito, T. and Sakushima, A. (1969) *Experientia*, 25, p. 1253.
- Scheuer, P.J. (1967) Chemistry of Marine Products. Academic Press, p. 43.
- Schottler, U. (1967) NADH Generating Reactions in Anaerobic *Tubifex* Mitochondria. *Comp. Biochem. Physiol.*, 58B, pp. 261-265.
- Simpson, K.L. (1982) Carotenoids Pigments in Seafood. En: Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products, R.E. Martin (ed.), Avi Publishing Co., USA.
- Umbreit, W.W., Burns, R.H. y Stauffer J.F. (1972) *Manometric and Biochemical Techniques*. 5 ed., Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota, p. 387.
- Wasserman, A.E. (1979) Symposium Meat Flavor. *J. of Food Science*, 44(1), p. 6.
- Zs.Nagy, I. y Ermini, M. (1972a) Oxidation of NADH by the Lipochrome Pigment of the Tissues of the Bivalve *Mytilus galloprovincialis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 43B, pp. 39-46.
- Zs.Nagy, I. y Ermini, M. (1972b) ATP Production in the Tissues of the Bivalve *Mytilus galloprovincialis* under Normal and Anoxic Conditions. *Comp. Biochem. Physiol.*, 43B, pp. 593-600.
- De Zwaan, A. (1983) Carbohydrate Catabolism in Bivalves. En: The Mollusca, P.W. Hochachka (ed.), Academic Press, pp. 139-169.
- De Zwaan, A. y Zandee, D.I. (1972) The Utilization of Glycogen and Accumulation of some Intermediates during Anaerobiosis in *Mytilus edulis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 43B, pp. 47-54.