

EFEITO DA ADAPTAÇÃO PRÉVIA A UMA DIETA RICA EM CARBOIDRATOS  
OU RICA EM PROTEÍNAS SOBRE O PADRÃO DE RESPOSTA METABÓLICA AO  
JEJUM DO CARANGUEJO *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851).

ANAPAUOLA SOMMER VINAGRE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-  
Graduação em Ciências Biológicas -ênfase  
em Fisiologia da Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, para obtenção do grau  
de Mestre.

ORIENTADORA:

Dra. ROSELIS SILVEIRA MARTINS DA SILVA

Porto Alegre

1992

Ao Luiz, pelo estímulo e  
compreensão nos momentos difíceis

## AGRADECIMENTOS

- A Dra. Roselis Silveira Martins da Silva, pela orientação, paciência e amizade que foram fundamentais durante a execução deste trabalho;
- Aos meus pais, Paulo e Suzana Sommer, pelo incentivo ao estudo e à carreira acadêmica;
- A Isabel Cristina da Costa Rossi pela sua amizade, companheirismo e ajuda durante este percurso;
- A Luiz Carlos Rios Kucharski, pelo auxílio nas coletas e na análise estatística;
- Aos colegas de laboratório e do curso de mestrado, pela amizade;
- Aos professores e funcionários do departamento de fisiologia, pela convivência e amizade;
- Ao CNPq e à PROPESP pelo auxílio assegurado.

## ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO DA LITERATURA.....	5
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
A. Coleta e manutenção dos animais.....	15
B. Análises Bioquímicas.....	17
C. Tratamento Estatístico.....	19
IV. RESULTADOS.....	20
A. Variações na composição da hemolinfa ao longo do jejum	
1. Glicemia.....	21
2. Lipídios totais.....	21
B. Variações na composição do hepatopâncreas ao longo do jejum.....	24
1. Glicogênio.....	24
2. Lipídios totais.....	26
3. Proteínas totais.....	28
4. Quantidade de água.....	28
5. índice hepatossomático.....	31
C. Variações na composição das brânquias ao longo do jejum	
1. Glicogênio.....	31
2. Proteínas totais.....	34
3. Quantidade de água.....	34

D. Variações na composição do músculo ao longo do jejum..	37
1. Glicogênio.....	37
2. Lipídios totais.....	37
3. Proteínas totais.....	40
4. Quantidade de água.....	40
E. Tabelas.....	43
V. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....	47
VI. RESUMO.....	57
VII. ABSTRACT.....	61
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	65

**I . INTRODUÇÃO**

O caranguejo *Chasmagnathus granulata*, dada a excelente adaptação às condições de laboratório, mostrou-se um modelo biológico bastante adequado para a investigação sobre o controle do metabolismo intermediário em invertebrados (Kucharski e Da Silva, 1990a). Os seus níveis glicêmicos são pouco afetados pelo manuseio ou pela troca de ambiente (Santos e Colares, 1986).

O referido caranguejo habita um ambiente tipicamente estuarino e distribui-se preferencialmente nas áreas inundáveis com ou sem vegetação halo-hidrófila (Turcatto, 1990). A amplitude das variações ambientais, principalmente de salinidade e de temperatura são tamponadas por suas habitações subterrâneas (tocas) (D'Incao e cols., 1988; Turcatto, 1990). Com relação à salinidade, foi verificado que sua hemolinfa é hiposmótica em meio de alta concentração e hiperosmótica em meio diluído, o que é característico de animais que habitam ambientes estuarinos (Mañé-Garzon e cols., 1974). Somente são observadas variações significantes na concentração de glicose na hemolinfa quando o animal é exposto a salinidades extremas: 0 e 40%. (Santos e Nery, 1987).

Na população de *Chasmagnathus granulata* da Lagoa de Tramandaí, a proporção entre machos e fêmeas é de 1:1 e o período reprodutivo ocorre de setembro a abril, com picos nos meses de setembro, outubro e abril (Turcatto, 1990). Não foram constatadas diferenças significativas entre os níveis glicêmicos de machos em relação às fêmeas (Santos e Colares, 1986).

Os resultados dos trabalhos sobre o metabolismo energético nesse caranguejo demonstram que o esforço osmo-regulador, a exposição ao ar atmosférico, a variação sazonal, o hormônio hiperglicemiante e a composição da dieta agem sobre o metabolismo de carboidratos e de lipídios, o que mantém a constância do equilíbrio interno, integrando e adaptando o organismo às variações do meio externo (Santos e Nery, 1987a; Santos e cols., 1987b; Santos e cols., 1988; Kucharski e Da Silva, 1991a, b, c).

Nos meses de inverno, esse caranguejo reduz sua atividade nas horas mais quentes do dia e nas primeiras horas da madrugada. Nos meses quentes, aumenta sua atividade no final da manhã até o início da tarde e do final da tarde até o início da manhã (Turcatto, 1990). Estudos realizados por D'Incao e cols. (1988) verificaram que, no outono e no inverno, o *Chasmagnathus granulata* permanece em suas tocas e a taxa metabólica diminui.

O *Chasmagnathus granulata*, na caracterização de D'Incao e cols. (1990), tem hábito alimentar generalista, com estratégias alimentares detritívora e oportunista. A análise de seu conteúdo estomacal revelou algumas diferenças na quantidade de alguns itens alimentares conforme a estação do ano, o que pode ser atribuído à sua disponibilidade no ambiente. No inverno, há maior incidência de restos de vegetais superiores; nas demais estações, o item mais abundante é o sedimento e no verão, aumenta a proporção dos itens de origem animal em relação às demais estações. Também foram encontrados restos de carapaça da própria espécie, evidenciando assim o hábito canibalista. Entretanto, o valor calórico de sua dieta natural ainda é desconhecido.

O estudo do efeito da variação sazonal sobre o metabolismo energético desse caranguejo mostrou que o glicogênio do hepatopâncreas e do músculo constituem fonte de substrato energético durante a primavera e o verão, e que os níveis de lipídios musculares seriam usados como substrato energético no outono e no inverno (Kucharski e Da Silva, 1991b). Desta forma, o caranguejo *Chasmagnathus granulata* está adaptado a mobilizar suas reservas energéticas e a sobreviver a períodos naturais de jejum, tais como os que ocorrem no inverno.

Considerando que os estudos sobre os efeitos do jejum sobre o metabolismo intermediário em crustáceos são contraditórios e restritos e que, em vertebrados, o padrão de resposta metabólica ao jejum é modificado pela composição da dieta administrada, seria conveniente estudar o efeito de diferentes tempos de jejum sobre o metabolismo intermediário no caranguejo *Chasmagnathus granulata* previamente adaptado a uma dieta rica em carboidratos ou rica em proteínas. Com tal objetivo, avaliaram-se, em caranguejos *Chasmagnathus granulata*, alimentados com dieta rica em carboidratos ou rica em proteínas, as alterações induzidas pelo jejum de 1, 2, 4 ou 8 semanas sobre o metabolismo de carboidratos, de lipídios e de proteínas.

## II. REVISÃO DA LITERATURA

O estudo do metabolismo intermediário em crustáceos tem mostrado grande variabilidade inter e intra espécies, o que torna difícil a generalização. Desconsiderando as diferenças entre os métodos bioquímicos empregados pelos diversos autores, esta variabilidade pode ser atribuída a múltiplos fatores, tais como a biologia da espécie, seu hábitat (terrestre, marinho, estuarino ou de água doce), estágio do ciclo de muda, maturidade sexual (especialmente nas fêmeas), estado alimentar e dieta oferecida.

Estudos sobre o metabolismo de carboidratos em crustáceos confirmam a presença das vias de glicogênese, de glicogenólise e glicólise em diferentes tecidos (Meenakshi e Scheer, 1961; Wang e Scheer, 1963; Chang e O'Connor, 1983). Em nosso laboratório, estudos preliminares apontam para a existência da via gliconeogênica no hepatopâncreas do caranguejo *Chasmagnathus granulata* (dados não publicados).

Os principais tecidos de reserva de glicogênio em crustáceos são o músculo, o hepatopâncreas e os hemócitos (Johnston e Davies, 1972; Herreid e Full, 1988). Os hemócitos são células hemolinfáticas que funcionam como "células hepáticas livres circulantes", mobilizando ou armazenando carboidratos à medida que circulam (Herreid e Full, 1988). Estudos "in vitro" demonstraram que os hemócitos isolados de *Carcinus maenas* são capazes de captar glicose e sintetizar glicogênio (Loret e cols., 1989).

O principal local de armazenamento de glicogênio varia de acordo com a espécie: na craca *Emerita asiatica*, é no

hepatopâncreas, na *Ligia exotica*, é no músculo, no caranguejo *Carcinus maenas*, nos hemócitos (Parvathy, 1971b; Johnston e Davies, 1972). O glicogênio armazenado é utilizado nos processos de muda, estresse, osmoregulação, crescimento, adaptação às estações do ano, diferentes estágios de reprodução e durante períodos de jejum (Chang e O'Connor, 1983; Kucharski e Da Silva, 1991b; Kucharski e Da Silva, 1991c).

A glicose é o principal monossacarídeo na hemolinfa dos crustáceos. Em algumas espécies porém, como no caranguejo *Carcinus maenas*, a concentração de glicogênio é maior que a de glicose (Johnston e Davies, 1972). Os níveis de glicose na hemolinfa dos crustáceos apresentam flutuações marcantes, dependendo do estágio da muda, estação do ano, dieta, osmoregulação, ciclo diurno, estado alimentar e hormônio hiperglicemiante (Chang e O'Connor, 1983). Nos crustáceos, a glicose tem cinco destinos principais: síntese de mucopolissacarídeos, síntese de quitina, síntese de ribose e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH), formação de piruvato e síntese de glicogênio (Hochachka e cols., 1970; Herreid e Full, 1988).

Os lipídios são as principais reservas orgânicas em muitos crustáceos e, na falta de um tecido adiposo diferenciado, os principais locais de armazenamento de lipídios são o músculo e o hepatopâncreas (O'Connor e Gilbert, 1968; Chang e O'Connor, 1983; Herreid e Full, 1988). Em alguns casos, a concentração de lipídios pode exceder em dez vezes os níveis de glicogênio (Herreid e Full, 1988). A síntese de ácidos graxos, diglicerídeos

e triglicerídeos em crustáceos é semelhante à dos mamíferos. Os principais lipídios circulantes são os fosfolipídeos (fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina) e as principais formas armazenadas são os ésteres de cera nos copépodes e os triglicerídeos nos demais crustáceos (Chang e O'Connor, 1983). Dentre os lipídios neutros, cerca de 90% correspondem aos triglicerídeos (Gibson e Barker, 1979).

Os estudos realizados sobre o metabolismo de lipídios em crustáceos têm demonstrado que durante períodos de grande demanda energética, como a muda e a gametogênese, ocorre uma grande mobilização dos lipídios, principalmente do hepatopâncreas. No caranguejo *Chasmagnathus granulata*, foi constatada uma variação sazonal nos níveis de lipídios musculares, mais elevados no verão e menores no inverno. Nesse caranguejo, os lipídios musculares também são mobilizados durante o processo de osmoregulação (Nery, 1990; Kucharski e Da Silva, 1991b).

O músculo parece ser a principal fonte de proteínas nos crustáceos. Nos decápodes, os níveis de aminoácidos nos tecidos são superiores àqueles encontrados em vertebrados, enquanto os níveis plasmáticos são equivalentes. A diferença entre a concentração circulante e a dos tecidos sugere que os aminoácidos estariam envolvidos no controle do volume celular, sendo eles responsáveis pelo equilíbrio osmótico (Chang e O'Connor, 1983). Com relação à muda, foi observada a mesma variação cíclica encontrada para os lipídios (Chang e O'Connor, 1983). Nas fêmeas com o ovário maduro, a concentração de proteínas plasmáticas é superior à dos machos (Lynch e Webb, 1973).

O controle hormonal sobre o metabolismo intermediário tem sido exaustivamente estudado em vertebrados. Em invertebrados, contudo, os fatores hormonais capazes de controlar o metabolismo de carboidratos, de proteínas e de lipídios são pouco conhecidos. O hormônio hiperglicemiante (HHG) é sintetizado por neurônios do órgão X e armazenado na glândula do Seio, de onde é secretado na hemolinfa. O HHG está envolvido primariamente no controle da homeostase da glicose, estimulando a mobilização do glicogênio do hepatopâncreas e do músculo (Wang e Scheer, 1963; Sedlmeier, 1987). Ainda não foi constatada a ação deste hormônio sobre os hemócitos. Trabalho realizado por Santos e cols. (1988) com o caranguejo *Chasmagnathus granulata* demonstrou que a incubação de tecido muscular em presença de extrato de pedúnculo ocular diminuía a captação de glicose neste tecido. O hormônio também é capaz de estimular a secreção de enzimas digestivas pelo hepatopâncreas e pode estar envolvido na adaptação do organismo a alterações ambientais e disponibilidade de alimento (Keller e Orth, 1989).

Outro hormônio envolvido no metabolismo de carboidratos de crustáceos parece ser um peptídeo "Insulin-like". Substância Insulina imunoreativa (IRI) foi encontrada em extratos do intestino, do hepatopâncreas e da hemolinfa da lagosta *Homarus americanus* (Sanders, 1983 a e b). A atividade biológica da IRI da lagosta foi demonstrada pelo aumento da incorporação de C14-glicose em glicogênio no músculo desse animal (Sanders, 1983b), porém a Insulina bovina não modificou os níveis de glicose na hemolinfa, sugerindo que este hormônio não teria um efeito

glicostático (Sanders, 1983b). No crustáceo *Balanus nubilis*, a Insulina de mamífero estimula "in vitro" o transporte de hexose no tecido muscular (Hager e Bittar, 1985). Davidson e cols. (1971) constataram, no caranguejo *Carcinus maenas*, que extratos do hepatopâncreas com atividade IRI estimulavam "in vitro" a síntese de glicogênio em diafragma de rato.

Ainda não se conhece um hormônio diretamente envolvido no controle do metabolismo de lipídios em crustáceos. O'Connor e Gilbert (1968;1969) verificaram a existência de um fator no pedúnculo ocular capaz de inibir a síntese de lipídios no hepatopâncreas. A ablação do pedúnculo ocular de *Gecarcinus lateralis* causa um aumento da taxa de síntese de lipídios no hepatopâncreas.

Períodos de restrição alimentar são normais no ciclo de vida dos animais. Em alguns organismos marinhos pode resultar de fatores como o "torpor" ou diminuição da taxa metabólica durante o inverno, da ausência sazonal de alimentos ou de modificações comportamentais como a maturação sexual e a desova (Schirf e col., 1987). Em condição de restrição alimentar, muitas espécies costumam reduzir sua taxa metabólica e mobilizar suas reservas de proteínas, de carboidratos e de lipídios. A utilização preferencial de tais reservas e a ordem cronológica de sua mobilização irão variar conforme a espécie, sua dieta antes de entrar em jejum e o tempo de duração do jejum.

Nos crustáceos, a restrição alimentar é um fenômeno comum que pode decorrer da ausência sazonal de alimento, o que seria um jejum forçado, ou do processo de muda, quando eles param

espontaneamente de se alimentar. Após a muda, o seu corpo é mole, o que impede o animal de exercer movimentos complexos e o leva a se esconder até o corpo tornar-se rígido novamente, pois durante este processo, devido a vulnerabilidade da carapaça, torna-se uma presa fácil.

Na literatura consultada, foram encontrados poucos e contraditórios trabalhos referentes ao efeito do jejum em crustáceos. Múltiplos fatores ligados à biologia e à ecologia peculiares de cada espécie contribuem provavelmente para a diversidade encontrada entre os trabalhos. As diferenças entre os métodos bioquímicos utilizados pelos autores também corroboram para a variabilidade dos dados. O caranguejo *Carcinus maenas*, durante o jejum de 14 dias, apresentou diminuição nos níveis de glicose na hemolinfa e de glicogênio do hepatopâncreas (Williams e Lutz, 1975). No lagostim *Procambarus clarkii*, as reservas de carboidratos e lipídios do músculo diminuíram após 21 dias de restrição alimentar, enquanto os níveis de carboidratos e lipídios no hepatopâncreas não se modificaram (Schirf e cols., 1987). Marsden e cols. (1973) também não constataram alterações nos níveis de carboidratos, triacilglicerol ou fosfolipídios no hepatopâncreas e nas brânquias de *Carcinus maenas* submetido ao jejum de 2 semanas. Dez dias de jejum causaram diminuição de 30% nos níveis de oligossacarídeos na hemolinfa do caranguejo *Hemigrapsus nudus* (Meenakshi e Scheer, 1961).

Um fator que, aparentemente, parece não ter sido levado em consideração, nos diversos trabalhos, foi o conteúdo de proteínas ou de carboidratos da alimentação a qual os crustáceos

foram adaptados antes do jejum. Em aves e mamíferos carnívoros, assim como em mamíferos omnívoros alimentados com uma dieta rica em proteínas, pobre em carboidratos (RP), o padrão de resposta metabólica ao jejum difere daquele dos animais mantidos previamente com uma dieta balanceada ou rica em carboidratos (RC) (Migliorini e cols., 1973; Kettelhut e col., 1980).

Nas aves, Migliorini e cols. (1973) constataram que a taxa de síntese de glicose a partir de alanina era mais elevada no urubu (ave carnívora) que na galinha (ave granívora). Os autores também verificaram que os níveis das enzimas-chave da gliconeogênese (fosfoenolpiruvato carboxiquinase e glicose-6-fosfatase) encontravam-se mais elevados na ave carnívora. O jejum prolongado não alterou os níveis de glicose plasmática no urubu, já na galinha a redução foi marcante. Por outro lado, a restrição alimentar diminuiu a capacidade gliconeogênica na ave carnívora mas aumentou na ave granívora, quando comparada ao estado alimentado (Veiga e cols., 1978). Ao contrário do que acontece com mamíferos, o jejum de três dias no urubu não alterou os níveis de ácidos graxos livres plasmáticos (AGL). Além disso, as vias de síntese de lipídios a partir de glicose e acetato, tanto no fígado como no tecido adiposo, estão diminuídas nessa ave carnívora (Linder, 1971).

Em ratos alimentados com dieta RP, os níveis glicêmicos e de glicogênio hepático diminuem muito pouco em consequência do jejum (Eisenstein e Strack, 1971). Já os ratos alimentados com dieta RC apresentaram diminuição marcante da glicose plasmática e significativa mobilização de glicogênio

hepático durante o jejum (Mosin, 1982; Nagy e Pistole, 1988). Com relação ao metabolismo de lipídios, foi constatado, em gatos e ratos alimentados com dieta RP, um aumento nos níveis de lipídios totais no fígado (Kettelhut e cols., 1980).

Peixes como a truta arco-íris *Salmo gairdneri*, alimentados com dieta RP, apresentam uma capacidade gliconeogênica aumentada e os níveis glicêmicos permanecem constantes durante o jejum (Higuera e Cardenas, 1975; Moon e cols., 1989). Já no bagre *Rhandia hilarii* adaptado a uma dieta RC, as modificações nos níveis de glicose e AGL, durante o jejum, foram semelhantes às dos mamíferos adaptados previamente a dieta similar (Machado e cols., 1988).

Trabalho prévio realizado em nosso laboratório demonstrou que, no caranguejo *Chasmagnathus granulata*, assim como em vertebrados, a composição da dieta influencia o padrão do metabolismo de carboidratos. No animal alimentado com dieta RP, os valores de glicose na hemolinfa e a concentração de glicogênio no hepatopâncreas e no músculo estão reduzidos. No animal alimentado com dieta RC, entretanto, a homeostase do metabolismo de carboidratos fica revertida, elevando os níveis glicêmicos e os de glicogênio no hepatopâncreas e no músculo (Kucharski e Da Silva, 1991a).

### III. MATERIAL E MÉTODOS

## A. COLETA E MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS

O Caranguejo *Chasmagnathus granulata* DANA, 1851 (DECAPODA-GRAPSIDAE) apresenta uma distribuição geográfica ampla e irregular ao longo da costa leste da América do Sul, ocorrendo desde o Rio de Janeiro no Brasil até o golfo de San Matias na Argentina (Boschi, 1964). A espécie é tipicamente estuarina, cava galerias nos horizontes superior e médio do mesolitoral em substratos areno-lodosos e desloca-se diariamente para o mesolitoral inferior e infralitoral para se alimentar (Botto e Irigoyen, 1980).

Os animais foram capturados no município de Imbé, Rio Grande do Sul, na margem leste da lagoa de Tramandaí, situada nas coordenadas 29°58' latitude sul e 50°08' longitude oeste. O ambiente é tipicamente estuarino, influenciado tanto pelas águas do oceano Atlântico como pelo sistema Lagunar de Tramandaí. O clima da região é considerado subtropical úmido sem estação seca e com verão quente (Moreno, 1961). A temperatura média anual é de 17,6°C com precipitação pluviométrica inferior a 1300mm anuais. As chuvas ocorrem durante todo o ano. A temperatura média do mês mais quente (janeiro) é superior a 20°C e a temperatura média do mês mais frio (julho) é inferior a 15°C.

As coletas foram realizadas pela manhã, no período de maio de 1990 a abril de 1991. Os caranguejos foram capturados manualmente nas tocas, dentro d'água ou no sedimento lodoso. Os animais utilizados nos experimentos eram adultos e no estágio "C" do período de intermuda (Drach e Tchernigovtzeff, 1967).

Caranguejos machos e fêmeas, com média de peso  $14,03 \pm 4,63g$ , foram transportados até o laboratório em caixas plásticas com água do próprio local. No laboratório, os animais eram submetidos a um choque hiposmótico (água destilada) durante 24h a fim de eliminar possíveis parasitas e limpar seu conteúdo estomacal. Em seguida, transferidos para aquários com salinidade de 15‰, temperatura entre 20-25°C, fotoperíodo diário, oxigenação constante, eram divididos em dois grupos conforme a dieta a ser recebida: rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC). Os animais foram alimentados "ad libitum" pela manhã durante quinze dias. As duas dietas apresentaram um valor calórico total bastante semelhante (tabela 1), conforme análise realizada pelo Dr. Crystoph Bernasiuk, do Instituto de Tecnologia de Alimentos da UFRGS.

Após o período de aclimatação, um grupo de animais (controle) foi retirado para a determinação dos parâmetros bioquímicos: os outros caranguejos foram agrupados conforme o tempo de jejum -1, 2, 4 e 8 semanas- a que eram submetidos. É importante ressaltar que, durante esse período, os animais eram mantidos em gaiolas individuais. Os experimentos foram realizados sempre pela manhã. No final de cada período de jejum, os animais eram pesados e medidos. Para a coleta de hemolinfa da articulação da quela (anticoagulante Oxalato de Potássio 10%) e para retirada do hepatopâncreas, das brânquias e do músculo, o animal era anestesiado por crioanestesia. As amostras de hemolinfa foram usadas para a determinação dos níveis de glicose e de lipídios totais. As amostras dos tecidos foram enxutas em papel de

filtro, pesadas e imediatamente iniciadas as determinações bioquímicas de glicogênio, lipídios totais e proteínas totais. Também foi verificado o conteúdo de água dos tecidos e o índice hepatossomático. Não foram constatadas variações significativas ( $p > 0,05$ ) nos pesos dos animais submetidos às diferentes dietas e tampouco ao longo do jejum.

TABELA 1: COMPOSIÇÃO DAS DIETAS OFERECIDAS AO CARANGUEJO *Chasmagnathus granulata*. OS VALORES RELATIVOS DE CADA ITEM ESTÃO EXPRESSOS EM PORCENTAGEM E OS VALORES CALÓRICOS TOTAIS ESTÃO EXPRESSOS EM cal/100g.

	DIETA RC	DIETA RP
PROTEÍNA	3,34	21,59
GORDURA	0,45	6,71
FIBRAS	0,30	0,31
UMIDADE	61,33	0,03
CINZAS	0,02	0,35
CARBOIDRATOS	34,56	0,03
VALOR CALÓRICO TOTAL	155,65	146,87

## B. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

### 1. DETERMINAÇÃO DA GLICOSE NA HEMOLINFA

A glicose foi dosada pelo método da enzima glicose oxidase (kit de glicose Enz-color). Os resultados foram expressos em mg/100ml.

## 2. ISOLAMENTO E DETERMINAÇÃO DO GLICOGÊNIO

O isolamento do glicogênio dos tecidos (hepatopâncreas, brânquias e músculo) foi realizado pelo método de van Handel (1965) e determinado como glicose após hidrólise ácida. Os resultados foram expressos em g% de tecido úmido.

## 3. DETERMINAÇÃO DOS LIPÍDIOS TOTAIS NA HEMOLINFA

Após extração com ácido sulfúrico concentrado, as amostras foram determinadas com kit de dosagem Diagtest. Os resultados foram expressos em mg/100ml.

## 4. EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DOS LIPÍDIOS TOTAIS NOS TECIDOS

Os lipídios totais do músculo e do hepatopâncreas foram extraídos pelo método de Folch e cols. (1957) e determinados gravimetricamente. Os resultados obtidos foram expressos em g% de tecido úmido.

## 5. EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DAS PROTEÍNAS TOTAIS NOS TECIDOS

Os tecidos hepatopâncreas, brânquias e músculo foram digeridos com NaOH 1N e, após, as proteínas totais foram determinadas pelo método de Lowry e cols. (1951). Os resultados obtidos foram expressos em mg/g de tecido úmido.

## 6. DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE ÁGUA NOS TECIDOS

O conteúdo de água nos tecidos foi determinado gravimetricamente, através do cálculo da diferença entre o peso úmido e o peso seco. Para a obtenção do peso seco as amostras

eram colocadas em estufa a 80°C durante 48 horas. Os resultados obtidos estão expressos em porcentagem.

#### 7. ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO

O índice hepatossomático foi calculado através da divisão do peso total do animal (g) pelo peso úmido do hepatopâncreas (g). Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem.

#### C. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para a análise estatística dos resultados foi aplicado o teste de análise da variância em uma via e o teste de comparação de Duncan. Foram adotados os níveis de significância de 5% e de 1%.

#### IV. RESULTADOS

## A. VARIACES NA COMPOSIAO DA HEMOLINFA AO LONGO DO JEJUM

### 1. GLICEMIA

As variaes nos níveis de glicose na hemolinfa, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 1 e na tabela 2. No grupo de animais alimentado com dieta RC, os níveis glicêmicos sofrem uma reduao de 40% ( $p < 0,01$ ) já na primeira semana de jejum. A partir de então, os níveis tendem a se estabilizar, mantendo-se ao redor de 60% dos valores iniciais. No grupo RP, os níveis glicêmicos não apresentam alteraes estatisticamente significativas até a quarta semana de jejum, quando diminuem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Comparando-se os valores de glicose na hemolinfa dos animais mantidos com as dietas RC ou RP, constataram-se valores glicêmicos cerca de 100% ( $p < 0,01$ ) mais elevados nos caranguejos alimentados com a dieta RC. Ao longo do período de jejum, entretanto, essa diferena diminui, até atingir 27% no final do experimento.

### 2. LIPÍDIOS TOTAIS

A variaao na concentraao de lipídios totais na hemolinfa, ao longo do jejum, pode ser vista na figura 2 e na tabela 3. Nos níveis de lipídios totais na hemolinfa, não foram verificadas diferenas significativas entre os caranguejos mantidos com dieta RP ou RC.

# GLICEMIA

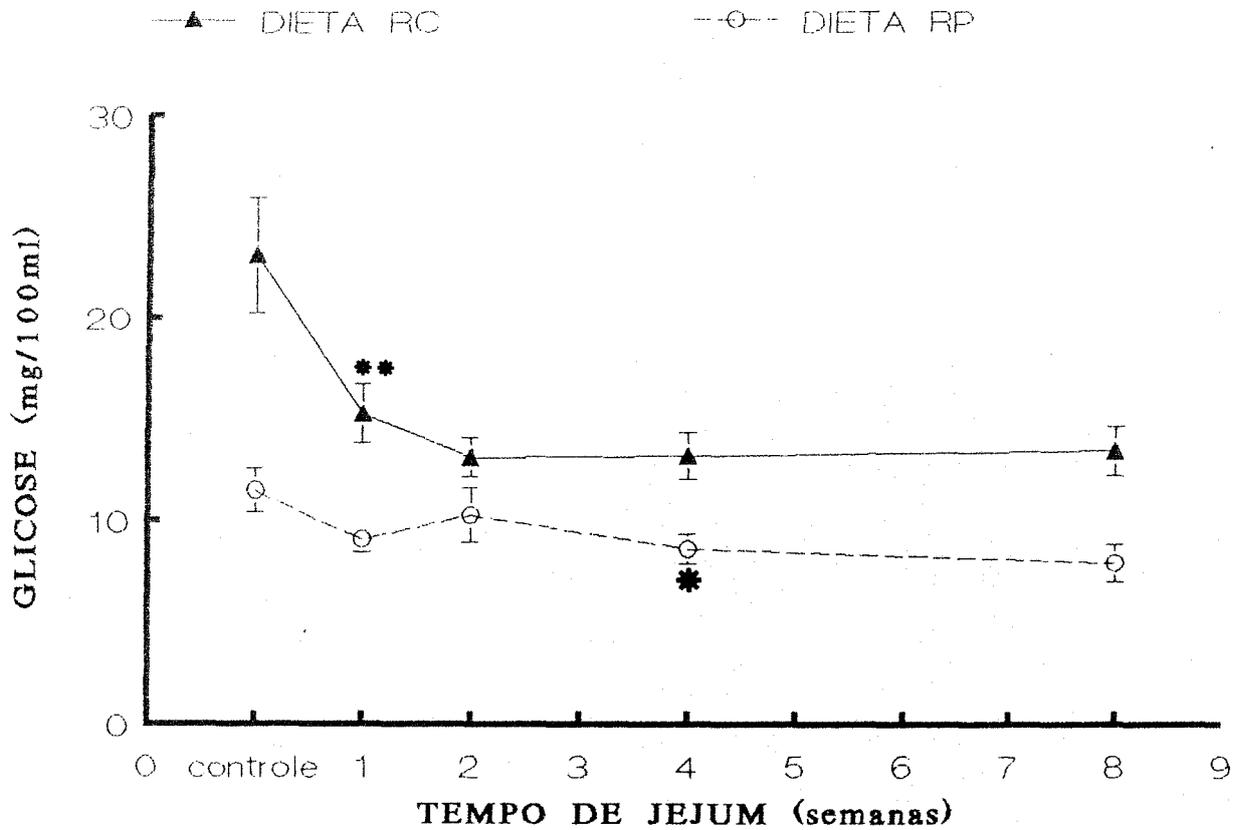


FIGURA 1: Concentração de glicose (mg/g) na hemolinfa de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 12 a 22 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

\*  $p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

# LIPÍDIOS TOTAIS HEMOLINFA

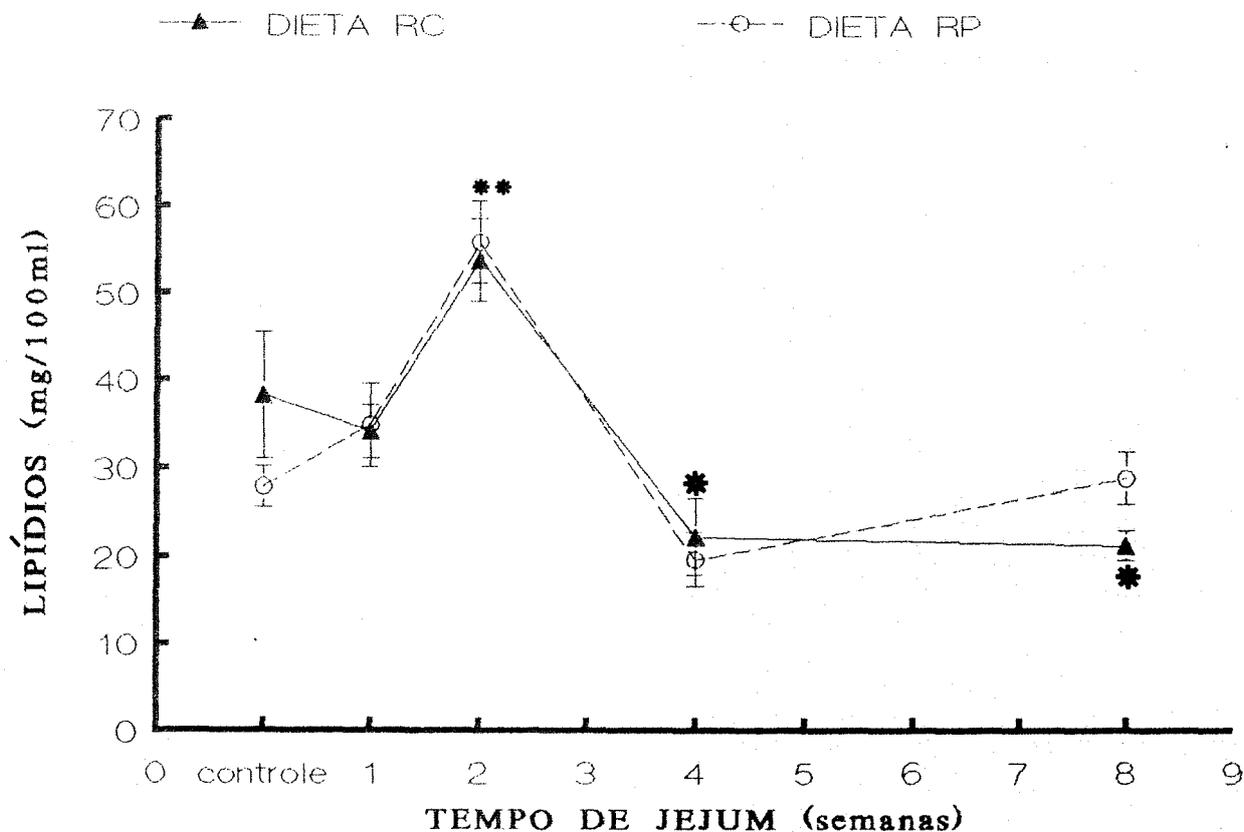


FIGURA 2: Concentração de lipídios totais (mg/100ml) na hemolinfa de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 6 a 16 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

\*  $p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

A concentração de lipídios totais na hemolinfa dos animais é cerca de 100% mais elevada do que os níveis de glicose (figuras 1 e 2).

Nos animais alimentados, antes do jejum, com as dietas RC ou RP, verificou-se um aumento nos níveis de lipídios totais na hemolinfa de 40% ( $p < 0,01$ ) e 100% ( $p < 0,01$ ), respectivamente, na segunda semana de jejum. Em ambos os grupos, contudo, na quarta semana de restrição alimentar, os valores de lipídios totais na hemolinfa diminuem na seguinte proporção: 59% ( $p < 0,05$ ) no grupo RC e 65% no grupo RP em relação aos níveis da segunda semana de jejum.

No grupo de animais previamente mantidos com a dieta RC, a concentração de lipídios totais na hemolinfa, no final do período experimental, corresponde a 44% ( $p < 0,05$ ) dos valores iniciais. Nos caranguejos alimentados, antes do jejum, com a dieta RP, entretanto, os valores na oitava semana de restrição alimentar são semelhantes aos níveis iniciais.

## B. VARIACIONES NA COMPOSIÇÃO DO HEPATOPÂNCREAS AO LONGO DO JEJUM

### 1. GLICOGÊNIO

As variações na concentração de glicogênio no hepatopâncreas, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 3 e na tabela 2. No grupo de animais alimentados previamente com a

## GLICOGÊNIO HEPATOPÂNCREAS

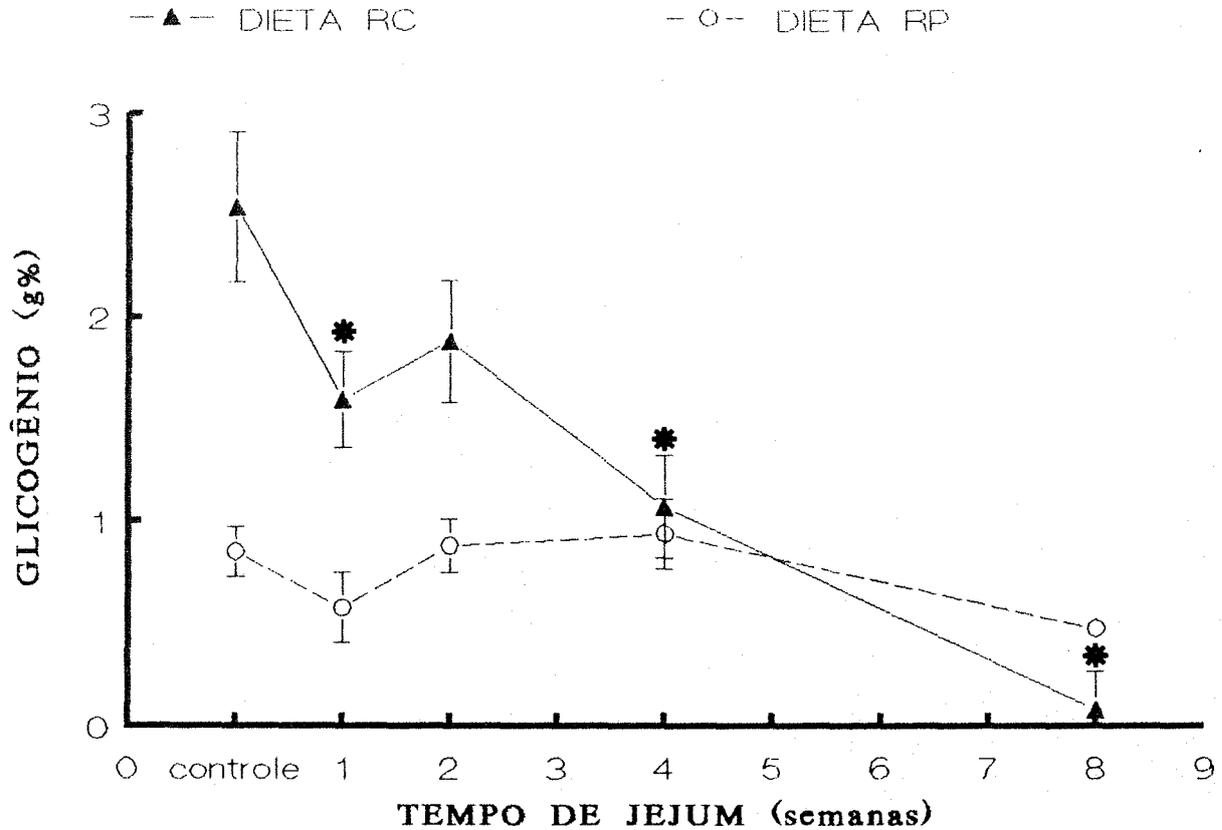


FIGURA 3: Concentração de glicogênio (g%) no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 5 a 12 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

\*  $p < 0,05$

dieta RC, a concentração de glicogênio começa a diminuir na primeira semana de jejum ( $p < 0,05$ ), mantém-se na segunda semana para recomeçar a diminuir gradativamente, chegando ao final do período experimental a valores 97% menores que os iniciais. Já no grupo RP, a concentração de glicogênio não sofre variação significativa ao longo do período de jejum estudado.

Os valores de glicogênio no hepatopâncreas dos animais alimentados com a dieta RC são três vezes maiores ( $p < 0,01$ ) que os da dieta RP. Tal diferença, contudo, diminui nas primeiras semanas de jejum, de forma que, na oitava semana, os valores de glicogênio no hepatopâncreas dos animais mantidos com a dieta RP são maiores ( $p < 0,01$ ) que os da dieta RC.

## 2. LIPÍDIOS TOTAIS

As variações nas concentrações de lipídios totais no hepatopâncreas, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 4 e na tabela 3. No grupo de animais alimentados com dieta RC, não foram observadas variações estatisticamente significativas ao longo do período de jejum estudado. No grupo de animais alimentados com dieta RP, os lipídios começam a diminuir gradativamente a partir da quarta semana de jejum ( $p < 0,05$ ), restando apenas 50% da concentração inicial no final do período experimental.

Não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas na concentração de lipídios no hepatopâncreas entre os animais alimentados com as dietas RP ou RC.

# LIPÍDIOS TOTAIS HEPATOPÂNCREAS

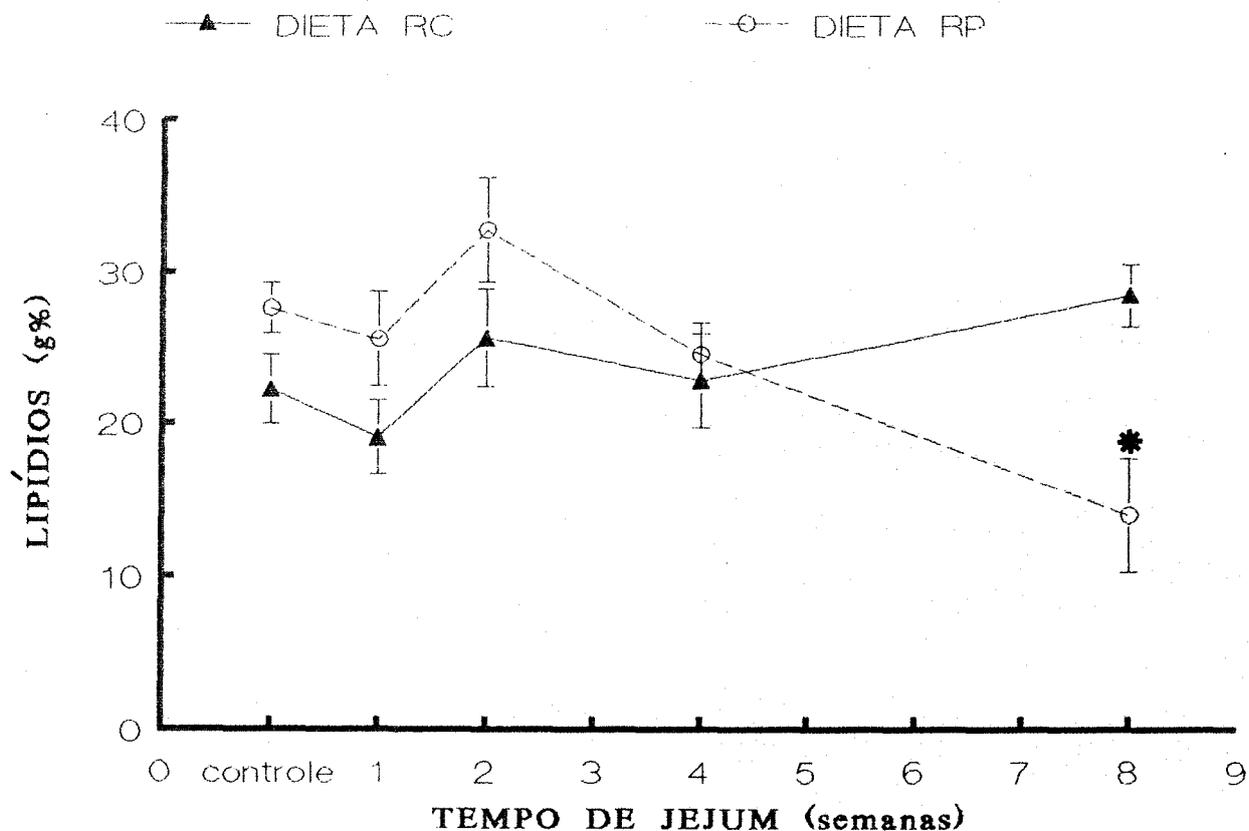


FIGURA 4: Concentração de lipídios totais (g%) no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 5 a 15 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

A quantidade de lipídios no hepatopâncreas foi dez vezes maior que a quantidade de glicogênio (figuras 3 e 4) e, dentre os tecidos analisados, o hepatopâncreas foi o tecido que acumulou a maior concentração de lipídios (figuras 2, 4 e 12).

### 3. PROTEÍNAS TOTAIS

As variações nas concentrações de proteínas totais no hepatopâncreas, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 5 e na tabela 4. No grupo de animais alimentados com dieta RC, a concentração de proteínas no hepatopâncreas permaneceu estável até a quarta semana de jejum. Na oitava semana, contudo, ocorreu aumento de 35% ( $p < 0,01$ ) em relação à concentração inicial. No grupo alimentado previamente com a dieta RP, a concentração de proteínas aumentou 19% ( $p < 0,05$ ) na segunda semana de jejum e permaneceu constante até o final do período experimental.

Não foram demonstradas diferenças estatisticamente significantes nas concentrações de proteínas no hepatopâncreas entre os animais alimentados com as dietas RC ou RP.

### 4. QUANTIDADE DE ÁGUA

A porcentagem de água no hepatopâncreas, ao longo do jejum, pode ser vista na figura 6 e na tabela 5. Não foi constatada diferença na porcentagem de água no hepatopâncreas entre os animais alimentados com as dietas RP ou RC. A partir da segunda semana de jejum, verificou-se um aumento do nível de água em ambos os grupos: no grupo de animais alimentados com a dieta RC, o aumento, no final do período experimental, é de 19%; nos mantidos com a dieta RP, de 17% .

# PROTEÍNAS TOTAIS HEPATOPÂNCREAS

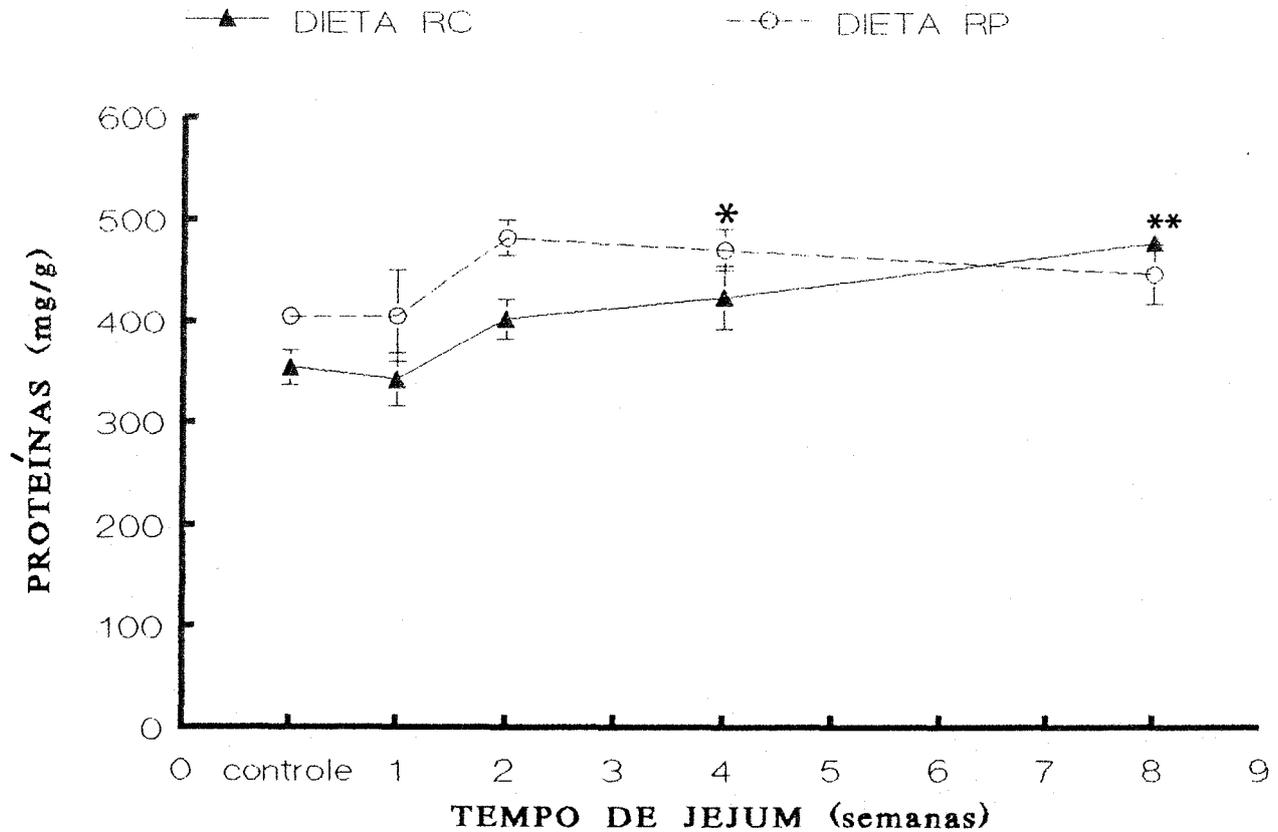


FIGURA 5: Concentração de proteínas totais (mg/g) no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 8 a 15 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

\*  $p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

## % ÁGUA HEPATOPÂNCREAS

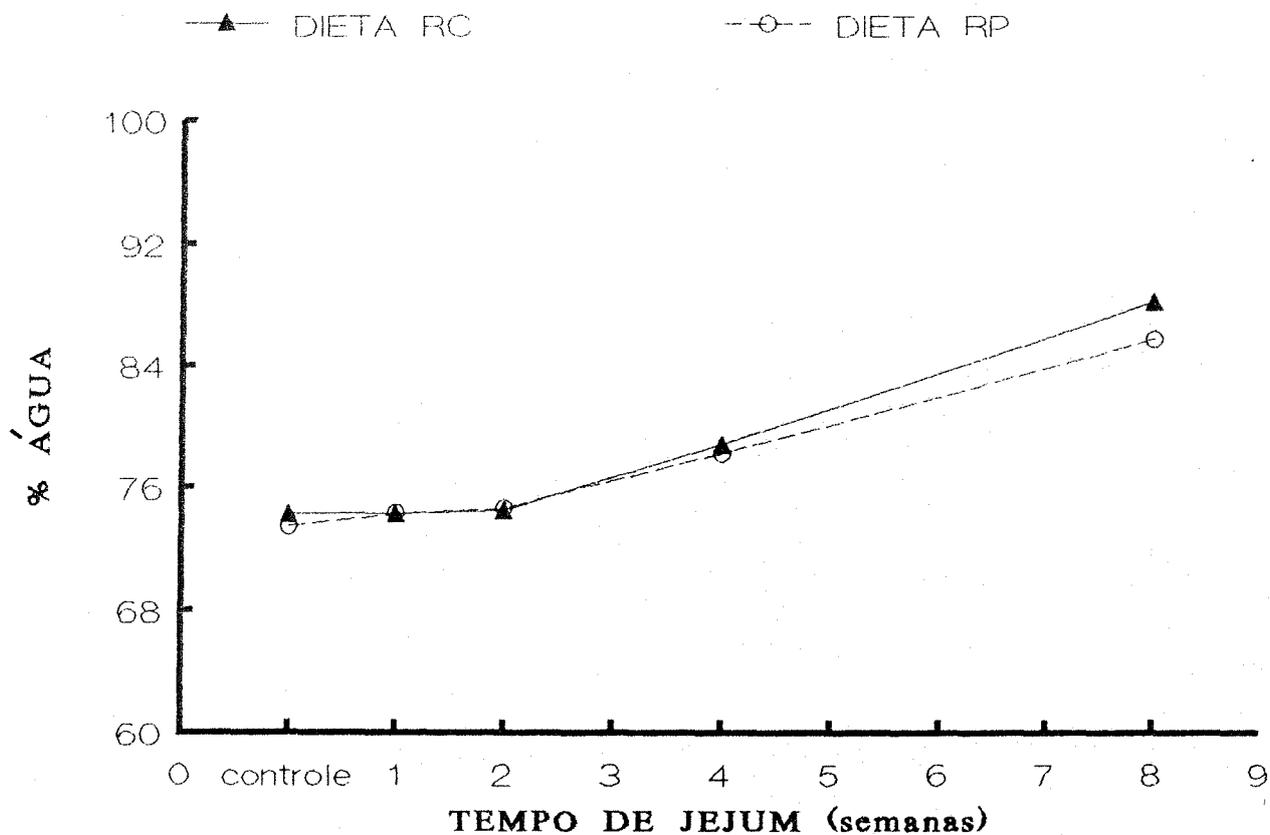


FIGURA 6: Porcentagem de água no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 5 a 14 animais. Os valores representam as médias.

## 5. ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO

Os valores obtidos para o índice hepatossomático podem ser vistos na figura 7 e na tabela 5. Não foram constatadas diferenças nos valores do índice hepatossomático entre as duas dietas. No grupo de animais alimentados previamente tanto com a dieta RC como com a dieta RP, o índice hepatossomático começou a diminuir na primeira semana de jejum. Na oitava semana de restrição alimentar, o índice no grupo RC corresponde a 59% e no grupo RP a 44% dos valores iniciais.

## C. VARIAÇÕES NA COMPOSIÇÃO DAS BRÂNQUIAS AO LONGO DO JEJUM

### 1. GLICOGÊNIO

As variações na concentração de glicogênio nas brânquias, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 8 e na tabela 2. No grupo da dieta RC, a concentração de glicogênio diminui significativamente ( $p < 0,01$ ) a partir da primeira semana de restrição alimentar, restando apenas 2% do valor inicial de glicogênio na oitava semana de jejum. No da dieta RP, os valores de glicogênio diminuem a partir da primeira semana de restrição alimentar, atingindo níveis significativamente ( $p < 0,01$ ) menores na quarta semana de jejum. No final do período experimental, a concentração de glicogênio, nas brânquias do grupo RP, corresponde a 20% do valor inicial ( $p < 0,01$ ).

Comparando-se os valores de glicogênio branquial entre as duas dietas, não foram verificadas diferenças significativas.

# ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO

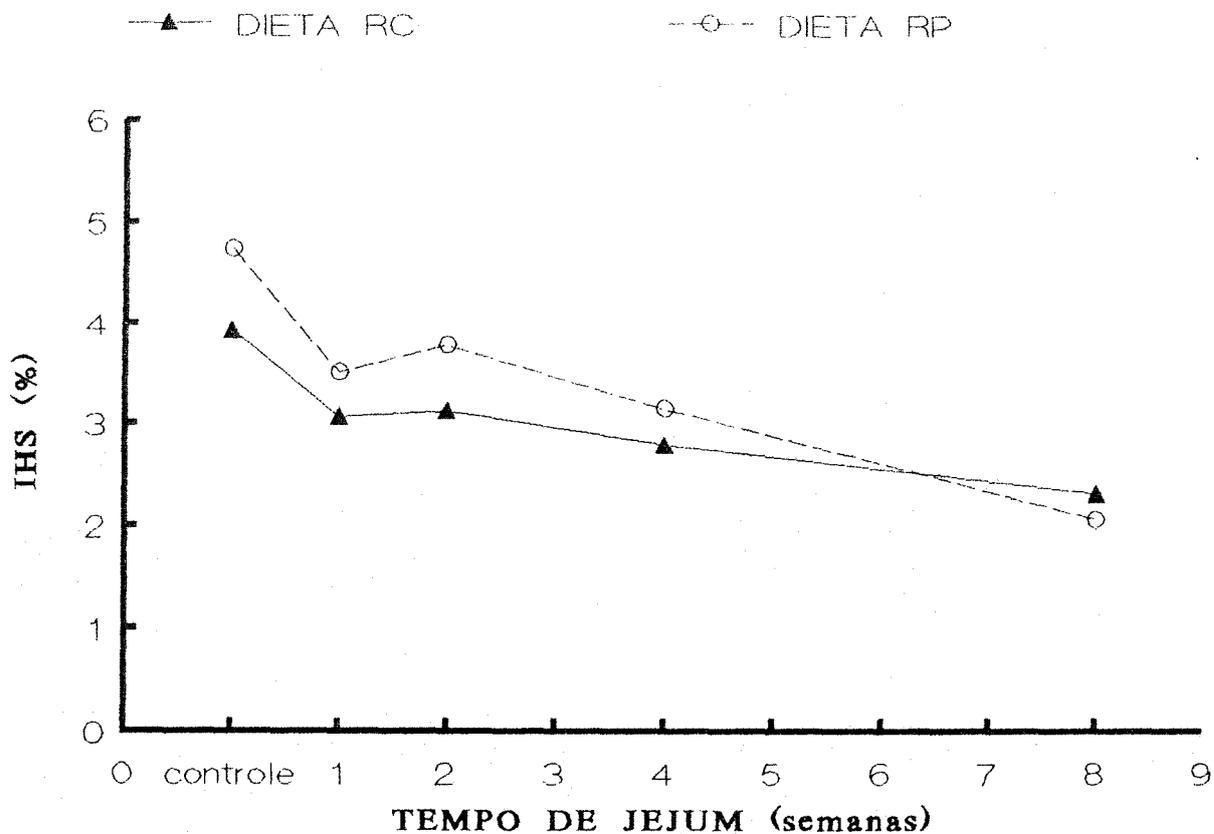


FIGURA 7: índice hepatossomático-IHS(%) de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 13 a 24 animais. Os valores representam as médias.

# GLICOGÊNIO BRÂNQUIAS

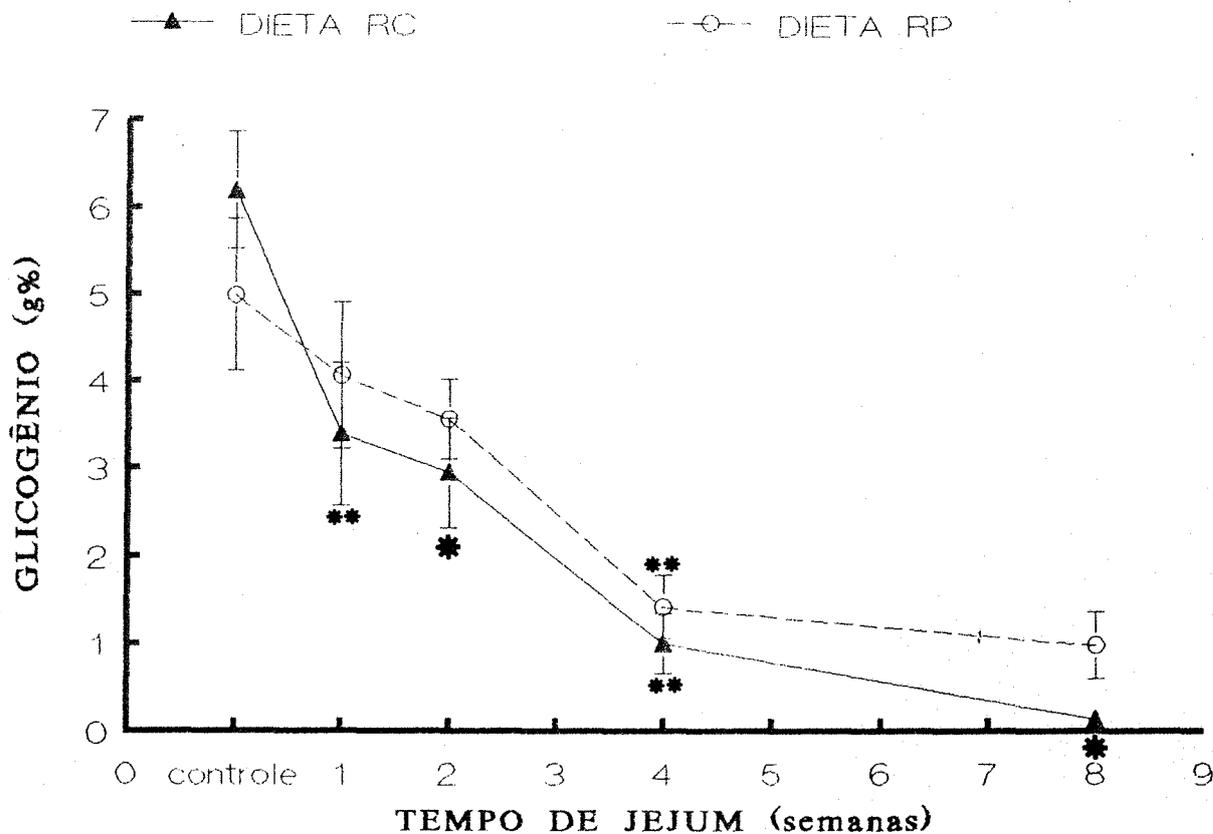


FIGURA 8: Concentração de glicogênio (g%) nas brânquias de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 6 a 12 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

\*  $p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

Dentre os tecidos estudados, o tecido branquial é o que apresentou maior concentração de glicogênio (figuras 3, 8 e 11).

## 2. PROTEÍNAS TOTAIS

As variações na concentração de proteínas totais nas brânquias, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 9 e na tabela 4. No grupo de animais mantido com dieta RC, não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes ao longo do período de jejum estudado. No grupo mantido com dieta RP antes da restrição alimentar, verificou-se uma redução de 23% ( $p < 0,05$ ) nos valores de proteínas das brânquias na quarta semana de jejum.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na concentração de proteínas nas brânquias entre os caranguejos mantidos com a dieta RC ou RP.

Dentre os tecidos estudados, o tecido branquial é o que possui menor concentração de proteínas.

## 3. QUANTIDADE DE ÁGUA

As variações na quantidade de água nas brânquias, ao longo do jejum, pode ser vista na figura 10 e na tabela 5. Não foram observadas diferenças na porcentagem de água das brânquias entre os animais alimentados com as dietas RC ou RP. Em ambos os grupos, a concentração de água não sofre modificações significantes ao longo do período experimental.

Cabe ressaltar que o tecido branquial, dentre os observados, é o que acumula maior porcentagem de água.

# PROTEÍNAS TOTAIS BRÂNQUIAS

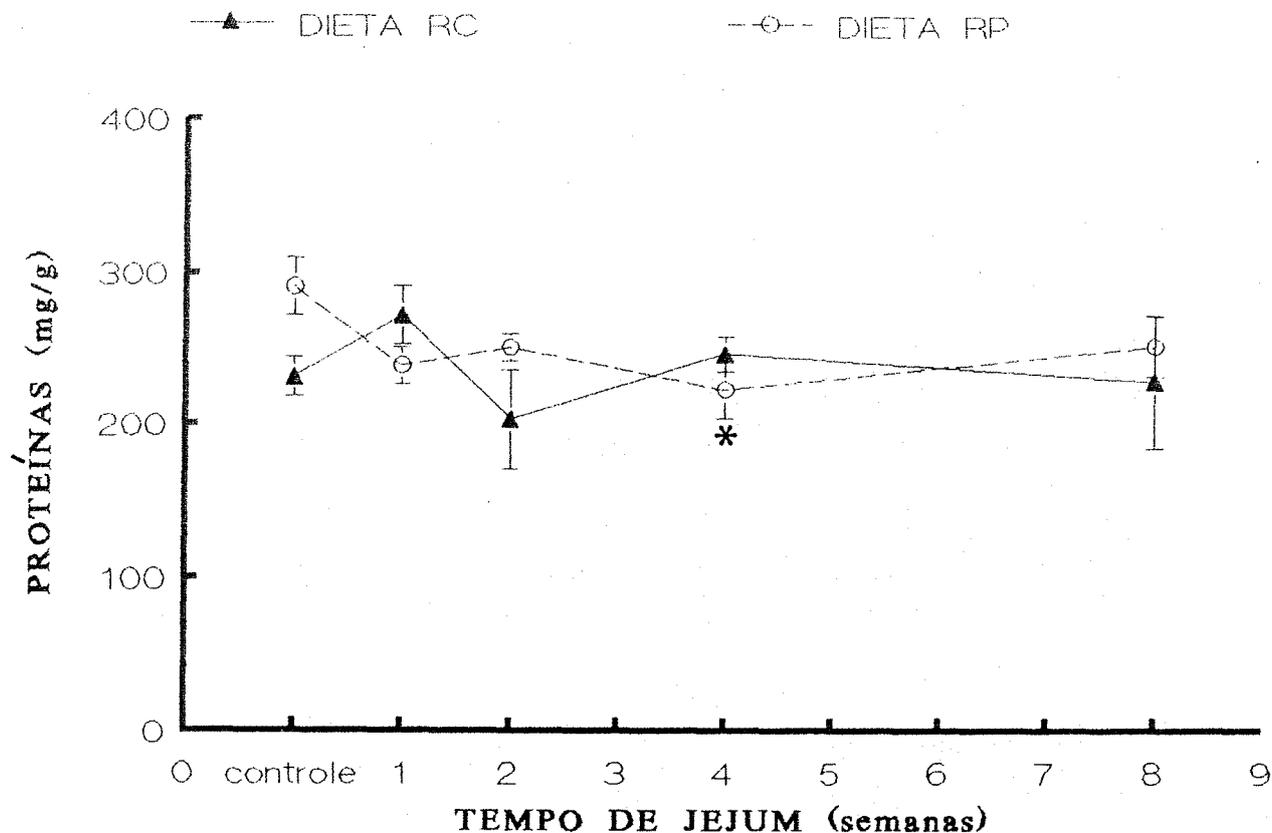


FIGURA 9: Concentração de proteínas totais (mg/g) nas brânquias de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 5 a 10 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

\*  $p < 0.05$

## % ÁGUA BRÂNQUIAS

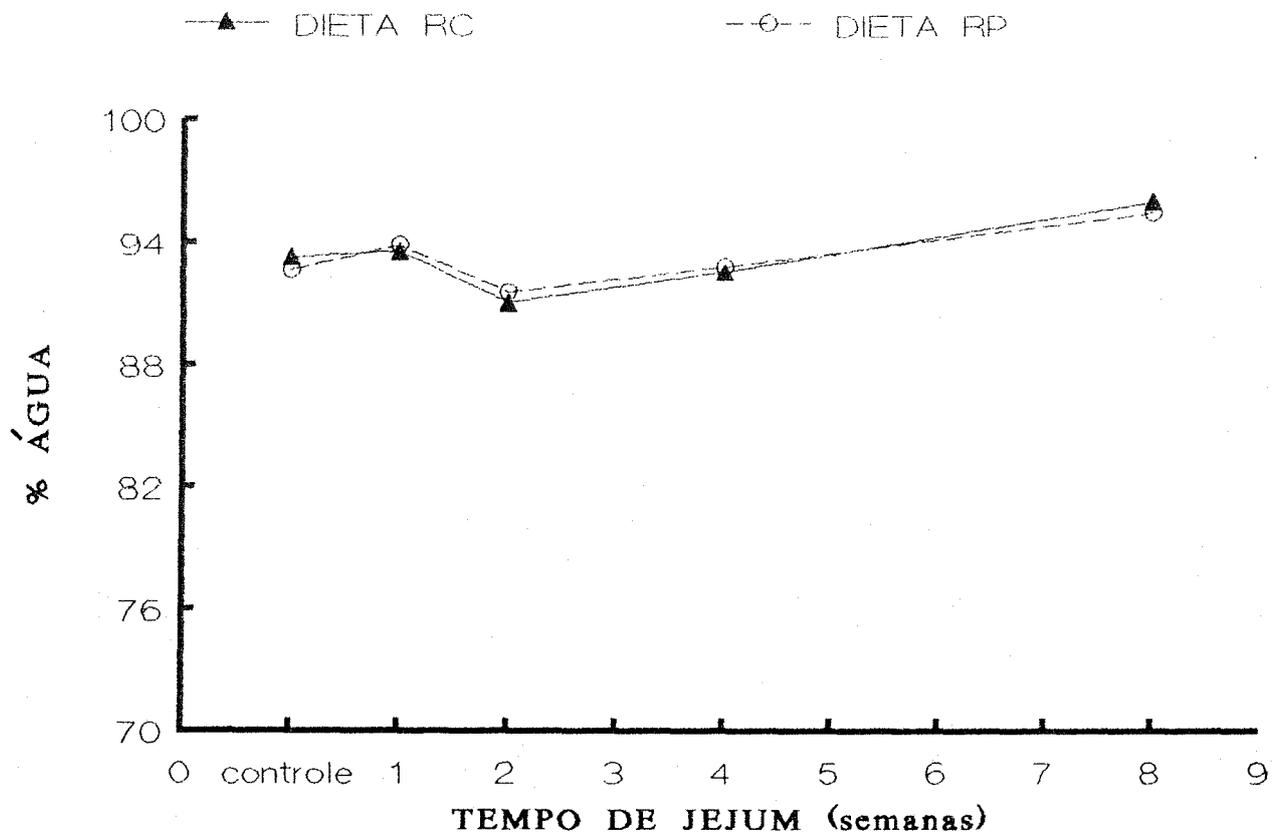


FIGURA 10: Porcentagem de água nas brânquias de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em carboidratos (RC) ou rica em proteínas (RP) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 5 a 11 animais. Os valores representam as médias.

## D. VARIACÕES NA COMPOSIÇÃO DO MÚSCULO AO LONGO DO JEJUM

### 1. GLICOGÊNIO

As variações na concentração de glicogênio no tecido muscular, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 11 e na tabela 2. No grupo de animais alimentado com dieta RC, a concentração de glicogênio permanece estável até a segunda semana de jejum. Entretanto, na quarta semana de restrição alimentar os valores de glicogênio muscular sofrem uma diminuição de 50% ( $p < 0,05$ ), chegando ao final do período experimental com apenas 40% da concentração inicial.

No grupo de animais previamente alimentados com dieta RP, a concentração de glicogênio diminui 33% ( $p < 0,05$ ) já a partir da primeira semana de jejum, atingindo valores correspondentes a 40% dos níveis iniciais na quarta semana de restrição alimentar e permanecendo estáveis até o final do período experimental.

Quando comparadas as duas dietas, verificou-se que os valores de glicogênio dos animais alimentados com a dieta RC são cerca de 65% mais elevados do que os verificados com a dieta RP.

### 2. LIPÍDIOS TOTAIS

As variações nas concentrações de lipídios totais no tecido muscular, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 12 e na tabela 3. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na concentração de lipídios totais no músculo entre os animais alimentados com as dietas RC ou RP. No grupo de caranguejos mantidos previamente com a dieta RC, constatou-se uma

# GLICOGÊNIO MÚSCULO

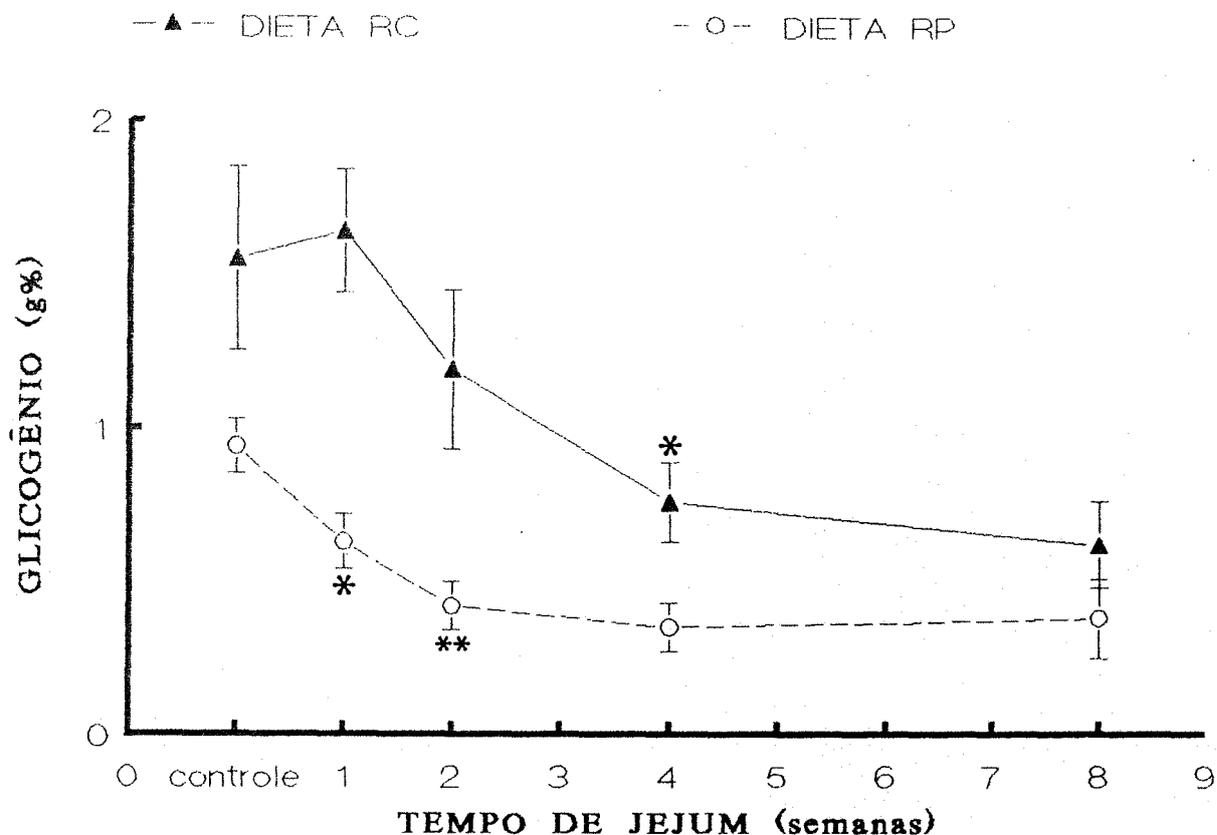


FIGURA 11: Concentração de glicogênio (g%) no músculo de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 6 a 11 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

\*  $p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

# LIPÍDIOS TOTAIS MÚSCULO

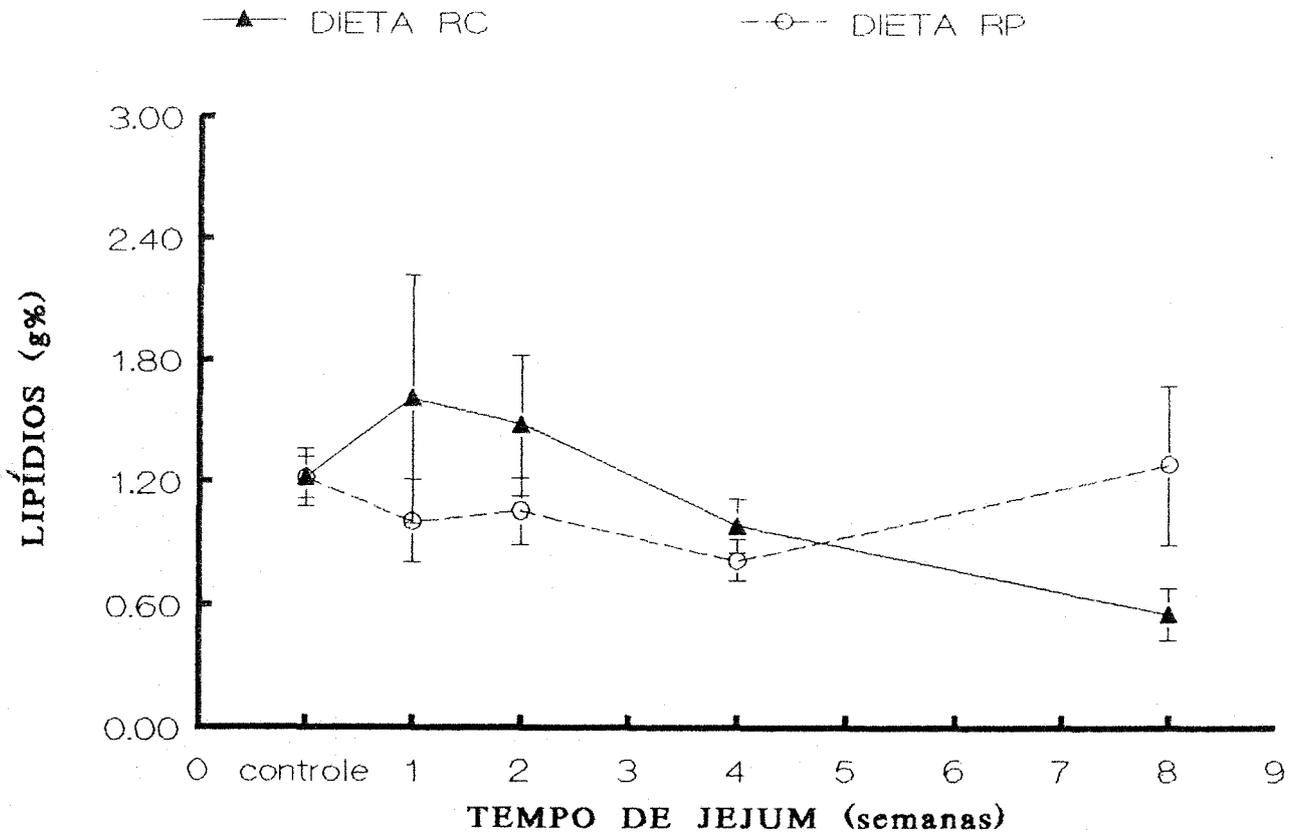


FIGURA 12: Concentração de lipídios totais (g%) no músculo de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 6 a 14 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

diminuição dos valores de lipídios musculares de cerca de 54% na oitava semana de jejum. Essa diminuição, contudo, não foi considerada significativa devido à dispersão dos resultados. Não foram verificadas, nos animais da dieta RP, variações significativas ( $p < 0,05$ ) dos lipídios totais musculares ao longo do período de jejum estudado.

### 3. PROTEÍNAS TOTAIS

As variações nas concentrações de proteínas no tecido muscular, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 13 e na tabela 4. No grupo da dieta RC, não ocorrem alterações estatisticamente significantes ao longo do jejum. Já no grupo de animais alimentado com dieta RP, verificou-se, na segunda semana de restrição alimentar, um aumento de 10% ( $p < 0,05$ ) nos valores de proteínas no músculo.

Não foram observadas diferenças significativas na concentração de proteínas no músculo entre os animais alimentados com as dietas RC ou RP.

Dentre os tecidos estudados, o músculo foi o tecido que apresentou maior concentração de proteínas.

### 4. QUANTIDADE DE ÁGUA

As variações na porcentagem de água no tecido muscular, ao longo do jejum, podem ser vistas na figura 14 e na tabela 5. Em ambas as dietas, não foram observadas variações na porcentagem de água ao longo do jejum e, também, não foram encontradas diferenças significantes no conteúdo de água no músculo entre os caranguejos mantidos com as dietas RC ou RP.

## PROTEÍNAS TOTAIS MÚSCULO

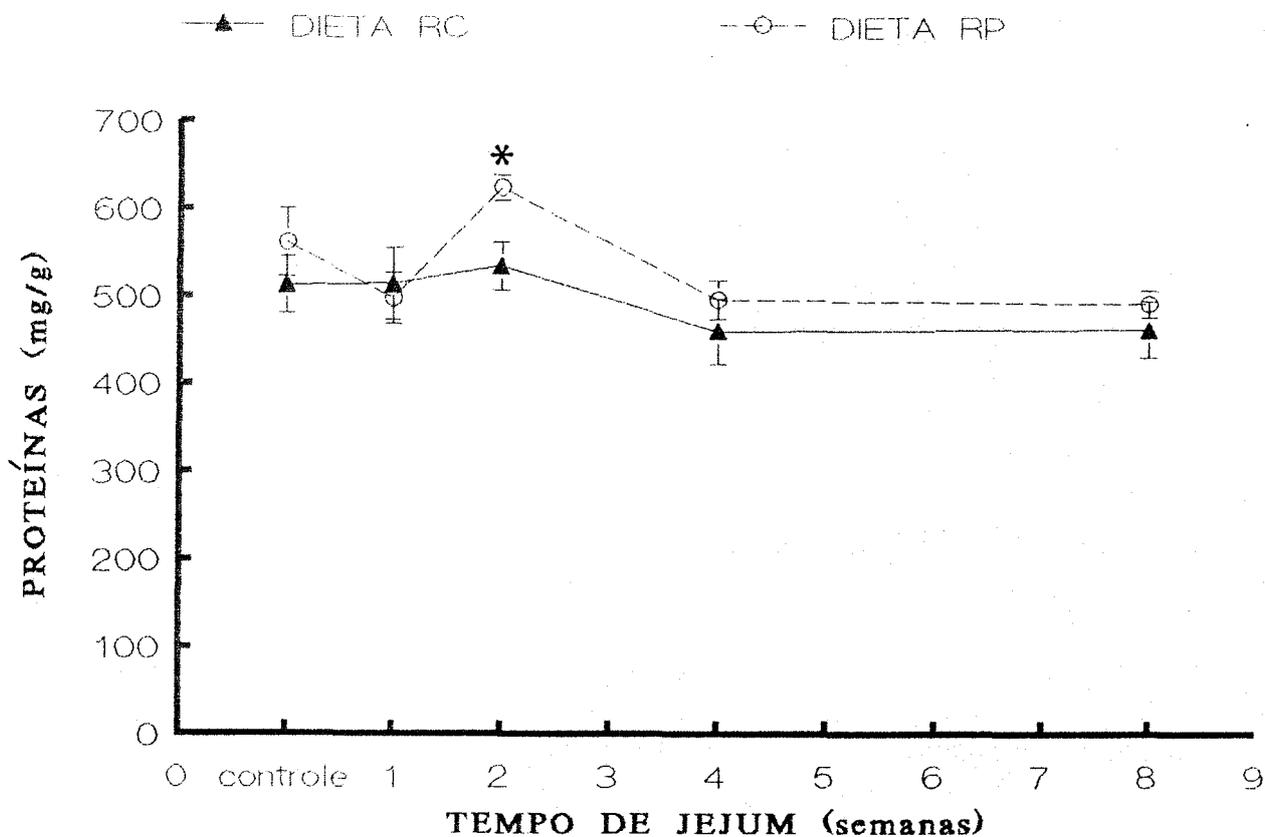


FIGURA 13: Concentração de proteínas totais (mg/g) no músculo de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 6 a 11 animais. Os valores representam as médias e as barras verticais representam os erros padrões.

\*  $p < 0,05$

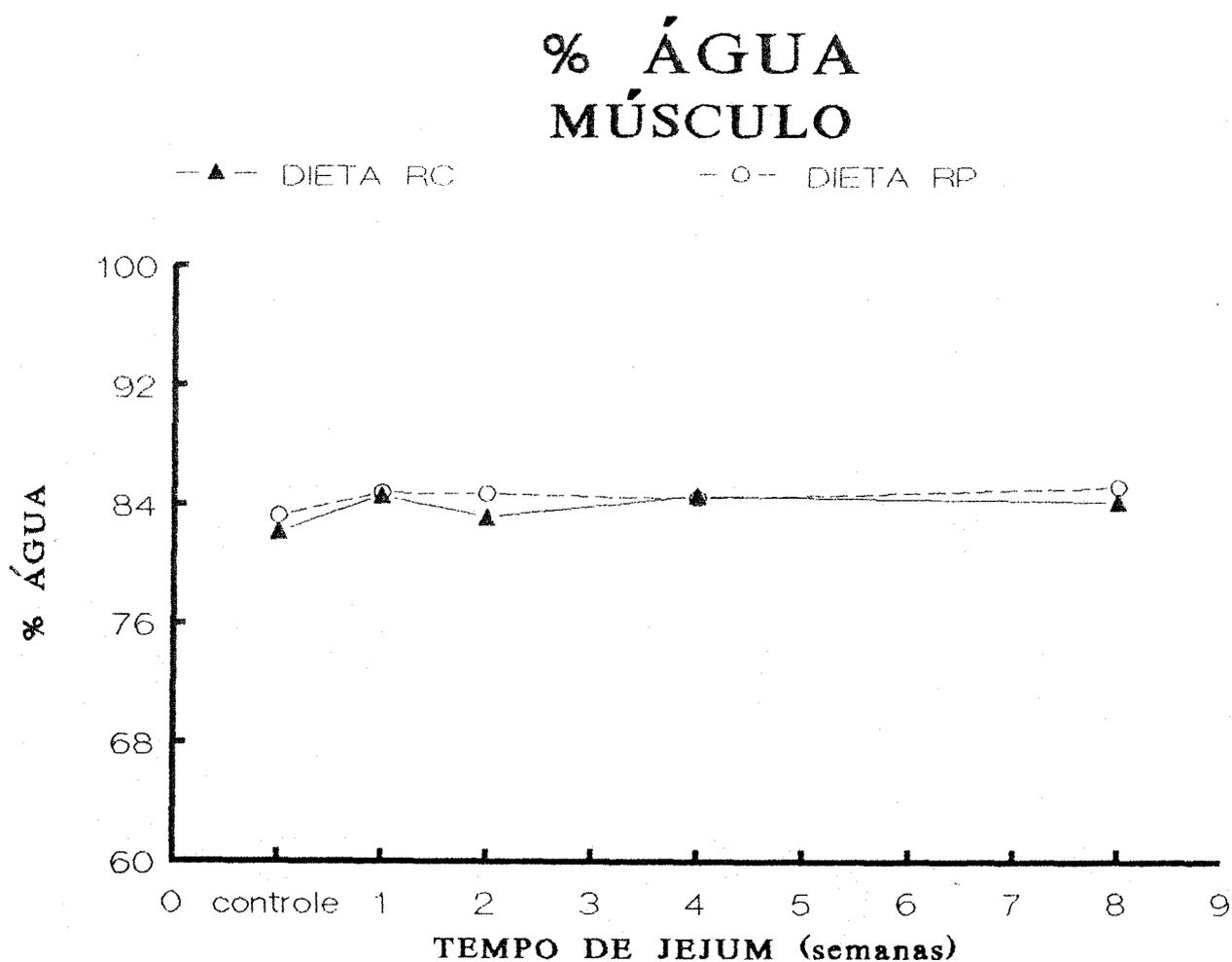


FIGURA 14: Porcentagem de água no músculo de caranguejos *Chasmagnathus granulata* alimentados previamente com dieta rica em proteínas (RP) ou rica em carboidratos (RC) e submetidos a um período de 8 semanas de jejum. Foram utilizados de 6 a 12 animais. Os valores representam as médias.

TABELA 2: EFEITO DO JEJUM SOBRE O METABOLISMO DE CARBOIDRATOS EM DIFERENTES TECIDOS DO CARANGUEJO *Chasmagnathus granulata* ALIMENTADO COM DIETA RICA EM PROTEÍNAS (RP) OU RICA EM CARBOIDRATOS (RC).

	GLICOSE (mg/ml)		GLICOGÊNIO (g%)	
	HEMOLINFA	HEPATOPÂNCREAS	BRÂNQUIAS	MÚSCULO
.....				
CONTROLE				
grupo RC	**			
	23,07±2,88 (22)	2,54±0,37 (12)	6,19±0,67 (12)	1,55±0,3 (11)
.....				
grupo RP				
	11,47±1,08 (19)	0,85±0,12 (7)	4,99±0,88 (7)	0,94±0,09 (7)
.....				
1 SEMANA				
grupo RC	*	*	**	
	15,22±1,44 (18)	1,59±0,24 (10)	3,39±0,82 (9)	1,64±0,20 (10)
.....				
grupo RP				*
	09,09±0,62 (14)	0,58±0,17 (6)	4,06±0,85 (7)	0,63±0,09 (7)
.....				
2 SEMANAS				
grupo RC		*	*	
	13,09±0,93 (15)	1,88±0,3 (9)	2,94±0,63 (12)	1,19±0,26 (8)
.....				
grupo RP				**
	10,28±1,32 (13)	0,88±0,13 (8)	3,56±0,46 (9)	0,42±0,08 (7)
.....				
4 SEMANAS				
grupo RC		*	**	*
	13,16±1,13 (17)	1,07±0,25 (10)	1,00±0,34 (8)	0,76±0,13 (7)
.....				
grupo RP	*		**	**
	08,63±0,73 (17)	0,94±0,17 (5)	1,42±0,36 (8)	0,35±0,08 (9)
.....				
8 SEMANAS				
grupo RC		*	*	
	13,40±1,22 (12)	0,08±0,19 (5)	0,14±0,01 (6)	0,62±0,14 (6)
.....				
grupo RP				**
	07,95±0,91 (12)	0,48±0,05 (6)	0,98±0,38 (9)	0,38±0,13 (12)

Média ± Erro padrão  
( ) Número de animais

\* Significante para  $p < 0.05$   
\*\* Significante para  $p < 0.01$

TABELA 3: EFEITO DO JEJUM SOBRE OS NÍVEIS DE LIPÍDIOS TOTAIS (G%) EM DIFERENTES TECIDOS DO CARANGUEJO *Chasmagnathus granulata* ALIMENTADO COM DIETA RICA EM PROTEÍNAS (RP) OU RICA EM CARBOIDRATOS (RC).

	HEMOLINFA	HEPATOPÂNCREAS	MÚSCULO
CONTROLE			
grupo RC	38,26±7,22 (8)	22,21±2,29 (14)	1,22±0,10 (11)
grupo RP	27,88±2,33 (9)	27,59±1,68 (15)	1,22±0,14 (14)
1 SEMANA			
grupo RC	34,17±2,33 (8)	19,05±2,43 (8)	1,61±0,61 (9)
grupo RP	34,87±4,73 (9)	25,56±3,10 (7)	1,01±0,20 (6)
2 SEMANAS			
grupo RC	** 53,88±4,77 (6)	25,63±3,22 (7)	1,48±0,35 (8)
grupo RP	** 55,88±4,77 (7)	32,78±3,45 (7)	1,06±0,16 (8)
4 SEMANAS			
grupo RC	* 22,26±4,35 (8)	22,82±3,11 (8)	0,99±0,13 (16)
grupo RP	19,69±3,12 (9)	24,54±2,08 (9)	0,82±0,10 (14)
8 SEMANAS			
grupo RC	* 21,34±1,70 (8)	28,45±2,05 (5)	0,56±0,13 (6)
grupo RP	28,63±2,96 (16)	* 13,97±3,71 (5)	1,29±0,39 (7)

Média ± Erro padrão

( ) Número de animais

\* Significância para  $p < 0.05$

\*\* Significância para  $p < 0.01$

TABELA 4: EFEITO DE DIFERENTES TEMPOS DE JEJUM SOBRE OS NÍVEIS TOTAIS DE PROTEÍNAS(mg/g) EM DIFERENTES TECIDOS DO CARANGUEJO *Chasmagnathus granulata* ALIMENTADO COM DIETA RICA EM PROTEÍNAS (RP) OU RICA EM CARBOIDRATOS (RC).

	HEPATOPÂNCREAS	BRANQUIAS	MÚSCULO
.....			
CONTROLE			
grupo RC	354,11±17,05 (9)	230,67±12,78 (7)	512,97±32,09 (9)
.....			
grupo RP	404,70±11,25 (8)	291,06±18,80 (7)	561,36±39,10 (8)
-----			
1 SEMANA			
grupo RC	341,92±26,25 (7)	272,20±19,28 (5)	514,34±41,00 (6)
.....			
grupo RP	405,27±45,22 (7)	238,57±12,12 (5)	498,00±29,22 (6)
-----			
2 SEMANAS			
grupo RC	402,30±19,70 (11)	202,73±32,63 (5)	534,83±27,70 (7)
.....			
grupo RP	* 482,14±17,73 (13)	250,86±9,36 (8)	* 624,66±15,05 (8)
-----			
4 SEMANAS			
grupo RC	423,86±30,95 (15)	246,48±11,9 (10)	460,49±37,69 (10)
.....			
grupo RP	470,68±20,14 (14)	* 222,87±19,42 (7)	496,79±22,15 (11)
-----			
8 SEMANAS			
grupo RC	** 478,21±12,27 (8)	228,16±44,68 (5)	463,03±32,79 (7)
.....			
grupo RP	447,15±30,10 (8)	252,03±20,35 (9)	493,09±15,15 (9)
.....			
Média ± Erro padrão		* Significante para p<0.05	
( ) Número de animais		** Significante para p<0.01	

TABELA 5: EFEITO DE DIFERENTES TEMPOS DE JEJUM SOBRE O ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO (IHS-%) E SOBRE A QUANTIDADE DE ÁGUA (%) EM DIFERENTES TECIDOS DO CARANGUEJO *Chasmagnathus granulata* ALIMENTADO COM DIETA RICA EM PROTEÍNAS (RP) OU RICA EM CARBOIDRATOS (RC).

	IHS (%)	QUANTIDADE DE ÁGUA (%)		
		HEPATOPÂNCREAS	BRÂNKUIAS	MÚSCULO
CONTROLE				
grupo RC	3,93 (24)	74,32 (6)	93,29 (6)	82,16 (6)
grupo RP	4,74 (22)	73,49 (5)	92,66 (6)	83,25 (6)
1 SEMANA				
grupo RC	3,06 (19)	74,31 (7)	93,59 (5)	84,63 (7)
grupo RP	3,51 (17)	74,36 (8)	93,90 (6)	84,84 (8)
2 SEMANAS				
grupo RC	3,13 (18)	74,51 (11)	91,06 (7)	83,16 (7)
grupo RP	3,78 (19)	74,68 (14)	91,61 (9)	84,78 (9)
4 SEMANAS				
grupo RC	2,79 (22)	78,81 (11)	92,57 (9)	84,63 (10)
grupo RP	3,15 (21)	78,23 (11)	92,84 (10)	84,50 (11)
8 SEMANAS				
grupo RC	2,32 (13)	88,22 (9)	96,05 (7)	84,25 (9)
grupo RP	2,07 (18)	85,78 (11)	95,50 (11)	85,27 (12)

Média

( ) Número de animais

## V. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstra que a dieta prévia exerce um papel fundamental sobre o padrão de resposta metabólica ao jejum no caranguejo *Chasmagnathus granulata*. A importância da composição da dieta sobre a regulação das reservas de lipídios e de carboidratos neste animal já havia sido demonstrada por Kucharski e Da Silva (1991a) em trabalho realizado em nosso laboratório. Baseados nos dados aqui apresentados, é possível identificar, em animais alimentados previamente com dieta RP, características do metabolismo intermediário durante o jejum que contrastam com aquelas observadas nos animais alimentados com a dieta RC.

Em crustáceos, trabalhos a respeito do efeito do jejum sobre o metabolismo intermediário apresentam grande variabilidade de resultados (Marsden e cols., 1973; Johnston e Davies, 1972; Williams e Lutz, 1975; Schirf e cols., 1987; Regnault, 1981). Os diversos métodos bioquímicos utilizados pelos autores, os diferentes tempos de jejum estudados e outros fatores como a biologia e a ecologia peculiares de cada espécie contribuem para as diferenças nos resultados. Assim, no caranguejo *Carcinus maenas*, o jejum de 14 dias leva a uma diminuição na concentração de glicogênio no hepatopâncreas (Williams e Lutz, 1975). No lagostim *Procambarus clarkii*, as reservas de carboidratos e de lipídios do músculo dorsal da cauda foram utilizadas ao longo de 21 dias de restrição alimentar, entretanto, não houve variações significativas nos níveis de carboidratos e lipídios do hepatopâncreas (Schirf e cols., 1987). Marsden e cols. (1973) também não constatarem alterações significativas nos níveis de

carboidratos, triacilglicerol ou fosfolipídios no hepatopâncreas do caranguejo *Carcinus maenas* sujeito a um período curto de jejum. Um fator de grande importância em vertebrados, aparentemente não considerado nos estudos em crustáceos, é o conteúdo de proteínas ou de carboidratos da dieta à qual os animais foram adaptados antes do jejum (Kettelhut e cols., 1980; Veiga e cols., 1978; 1989; Moon, 1988; Bever e cols., 1981).

Nos caranguejos *Chasmagnathus granulata*, alimentados com a dieta RP, os valores de glicose na hemolinfa e de glicogênio no hepatopâncreas foram mais baixos que os do grupo de animais mantido com a dieta RC. Entretanto, ao longo do jejum, os níveis glicêmicos dos caranguejos mantidos previamente com a dieta RP somente diminuíram na quarta e na oitava semanas e, os valores de glicogênio no hepatopâncreas permaneceram estáveis (figuras 1 e 3). Em contraste, esses animais apresentaram um alto consumo de glicogênio muscular, com uma diminuição de 55% em relação ao estado alimentado, após oito semanas de jejum (figura 11). A capacidade de os animais alimentados com a dieta RP manterem, com pouca variação, a concentração de glicose na hemolinfa e a de glicogênio no hepatopâncreas durante a fase inicial do jejum, parece resultar de uma capacidade efetiva de gliconeogênese. O consumo do glicogênio muscular, durante as primeiras quatro semanas de restrição alimentar, parece indicar que, nos animais alimentados previamente com a dieta RP, o lactato derivado dos polissacarídeos musculares seria uma importante fonte de cadeias de carbono para o processo de gliconeogênese. Resultados preliminares em nosso laboratório

indicam a presença da via gliconeogênica no caranguejo *Chasmagnathus granulata* (dados não publicados). Em aves e mamíferos carnívoros, assim como em mamíferos omnívoros e peixes alimentados com dietas ricas em proteínas e pobres em carboidratos, a capacidade gliconeogênica está elevada no estado alimentado. Durante o jejum, contudo, diminui, devido ao menor aporte de substratos, porém, ainda assim é o processo responsável pela manutenção dos níveis glicêmicos (Migliorini e cols., 1973; Kettelhut e cols., 1980; Lewis e Epple, 1984; Higuera e Cardenas, 1985)

A administração prévia de uma dieta rica em carboidratos ao caranguejo *Chasmagnathus granulata* reverteu a homeostase do metabolismo de glicose durante o jejum. Os níveis de glicose na hemolinfa apresentaram uma redução na primeira semana de jejum, com tendência à estabilização até o final do período experimental (figura 1). Após oito semanas de jejum, a concentração de glicogênio no hepatopâncreas chegou a valores quase imensuráveis (figura 3) e a de glicogênio muscular apresentou uma redução de 53% em relação aos valores dos animais alimentados (figura 11). O padrão do metabolismo de carboidratos durante o jejum, nos animais previamente alimentados com dieta RC, é similar àquele observado em aves, mamíferos e peixes alimentados com dietas similares antes da restrição alimentar (Moura e Linder, 1987; Mosin, 1982; Machado e cols., 1988). Nesses vertebrados, a diminuição dos valores de glicose plasmática foi mais marcante durante o período inicial de restrição alimentar, quando sua capacidade gliconeogênica era

baixa. Desta forma, nos caranguejos alimentados com a dieta RC, a redução no nível de glicose na hemolinfa, na primeira semana de jejum, talvez resulte da baixa capacidade gliconeogênica desses animais. A utilização do glicogênio muscular, após a primeira semana de jejum, parece indicar que, similarmente ao que ocorreu nos caranguejos mantidos com a dieta RP, o lactato proveniente dos polissacarídeos musculares seria uma importante fonte de carbono para a via gliconeogênica. Nestes animais, o glicogênio do hepatopâncreas parece ser a principal fonte de energia durante o jejum. Além disso, a tendência à estabilização dos níveis de glicose hemolinfática até o final do período experimental pode resultar de uma diminuição na utilização dos carboidratos durante o jejum como consequência da redução da taxa metabólica durante a restrição alimentar, fenômeno já observado em outros crustáceos (Marsden e cols., 1973; Regnault, 1981).

Nas brânquias, quanto ao conteúdo de polissacarídeos, não foram constatadas diferenças entre os caranguejos alimentados com dieta RC ou RP (figura 8). Parece que, ao contrário do que acontece no hepatopâncreas e no músculo de caranguejos mantidos com dieta RC ou RP, o glicogênio das brânquias não é afetado pela composição das dietas. Tais resultados levam à suposição de que o controle do metabolismo de carboidratos nas brânquias é diferente daquele observado no músculo e no hepatopâncreas. A alta concentração de glicogênio nas brânquias está de acordo com os resultados de Nery (1990) em trabalho com a mesma espécie, e de Keller e Andrew (1973) para *Uca pugilator*. Nesse tecido, o jejum induziu uma rápida e forte

diminuição da concentração de glicogênio nos caranguejos alimentados com ambas dietas e, no final do período experimental, atingiu valores bastante reduzidos, sobretudo nos animais do grupo RC, onde se tornaram praticamente imensuráveis (figura 8). Em outro caranguejo, *Carcinus maenas*, não foi detectada nenhuma alteração significativa nos níveis de carboidratos das brânquias após duas semanas de jejum (Marsden e cols., 1973). Isto pode ser explicado pelo fato de os autores terem aclimatizado os animais a 15°C durante o jejum, reduzindo a taxa metabólica. Pode-se daí concluir que, durante o jejum, as brânquias passem a depender de suas reservas de lipídios e proteínas para as suas necessidades energéticas.

Os valores de lipídios totais na hemolinfa são altos nos *Chasmagnathus granulata* mantidos com ambas dietas (figura 2). Resultados similares foram encontrados em outras espécies de crustáceos, embora grandes variações possam ocorrer durante a muda, a gametogênese e o jejum (Speck e Ulrich, 1969; Chang e O'Connor, 1983). Após duas semanas de jejum, observa-se um aumento de aproximadamente 40% e 100% na concentração de lipídios na hemolinfa de animais mantidos, respectivamente, com dieta RC ou RP. Semelhante padrão de resposta metabólica, em ambos os grupos, sugere a utilização do metabolismo de carboidratos para o suprimento de energia durante as primeiras semanas de jejum, de forma que o consumo de glicose, durante a fase inicial do jejum, poderia causar uma diminuição na utilização dos lipídios da hemolinfa.

No final do período experimental, embora não tenha sido estatisticamente significativa, foi verificada uma diminuição na concentração de lipídios totais na hemolinfa de 42% e 28% nos caranguejos dos grupos RC e RP, respectivamente (figura 2). Da mesma forma, foram constatadas diminuições nas concentrações de lipídios no hepatopâncreas de caranguejos alimentados antes do jejum com dieta RC (figura 4) e no músculo de animais alimentados previamente com dieta RP (figura 12). Em crustáceos alimentados com dieta RP, como o caranguejo *Carcinus maenas* e o lagostim *Procambarus clarkii*, os níveis de lipídios no hepatopâncreas permanecem constantes durante duas semanas de jejum (Marsden e cols., 1973; Schirf e cols., 1987). No lagostim *Procambarus clarkii*, os lipídios do músculo diminuem após duas semanas de restrição alimentar (Schirf e cols., 1987). Tais resultados sugerem que os lipídios do hepatopâncreas e do músculo seriam utilizados como fonte de energia no final do período experimental.

A concentração de lipídios totais no músculo dos caranguejos mantidos com ambas dietas foi menor do que os valores encontrados por Kucharski e Da Silva (1991 a), em trabalho com a mesma espécie. Tal diferença pode ser atribuída ao fato de os autores terem realizado seus experimentos durante o verão, quando os valores de lipídios, no músculo, estão mais elevados (Kucharski e Da Silva, 1991b), enquanto este trabalho foi desenvolvido durante o outono e o inverno, quando a concentração de lipídios diminui, pois provavelmente, nessas estações, são utilizados como fonte de energia (Kucharski e Da Silva, 1991b).

O índice hepatossomático, em ambos os grupos experimentais, começa a diminuir progressivamente na primeira semana de jejum, atingindo valores correspondentes a 59% e 44% dos valores iniciais na oitava semana de jejum nos grupos RC e RP respectivamente (figura 7). Tais resultados são concordantes com os observados em vertebrados submetidos a diferentes tempos de jejum como a enguia *Anguilla rostrata* (Lewis e Epple, 1984), a truta arco-íris *Salmo gairdneri* (Moon e cols., 1989) e o sapo *Xenopus laevis* (Merkle e Hanke, 1988). A diminuição pode ser atribuída à mobilização de lipídios e de glicogênio constatada nos grupos RP e RC respectivamente.

A mudança na concentração de água nos tecidos é um fenômeno característico do jejum e foi verificada em diferentes classes de vertebrados (Grably e Piery, 1981; Herrera e Freinkel, 1968; Ince e Thorpe, 1976; Merkle e Hanke, 1988). Entre os tecidos estudados, o hepatopâncreas foi o que apresentou uma variação mais significativa na porcentagem de água (figura 6). Foi constatado um aumento de 17% nos animais mantidos previamente com a dieta RP e de 19% nos animais do grupo RC no final do período experimental. O aumento na concentração de água no hepatopâncreas na oitava semana de jejum, em ambos os grupos, poderia ser resultante de mudanças nos espaços intra ou extracelular, ou de uma diminuição na capacidade de regulação de água, ou, no grupo RP, da diminuição das reservas de lipídios.

Nos três tecidos estudados, não foram encontradas diferenças significativas na concentração de proteínas totais entre os animais mantidos com a dieta RC ou com a dieta RP

(figuras 5, 9 e 13). Estudos com vertebrados já haviam demonstrado que a composição da dieta não afeta a concentração de proteínas nos tecidos (Veiga e cols., 1978; Kettelhut e cols., 1980). O tecido muscular foi o que apresentou maior quantidade de proteínas, o que está de acordo com resultados obtidos em outros crustáceos (Chang e O'Connor, 1983).

Nos caranguejos mantidos com a dieta RC antes do jejum, a concentração total de proteínas no músculo e nas brânquias não foi afetada pelo jejum (figuras 9 e 13). Resultado semelhante foi verificado no músculo de sapos durante o jejum prolongado (Merkle e Hanke, 1988). Entretanto, verificou-se um aumento de 44% na concentração total de proteínas no hepatopâncreas desses caranguejos no final do período experimental (figura 5).

A concentração total de proteínas no músculo e no hepatopâncreas dos caranguejos mantidos previamente com a dieta RP aumenta 19% e 10% na segunda semana de jejum (figuras 5 e 13), já no final do período experimental, os níveis de proteínas retornam aos valores iniciais. Tais alterações no conteúdo de proteínas provavelmente aconteçam devido a uma diminuição da utilização das proteínas desses tecidos. Nas brânquias, na quarta semana de jejum, os valores de proteínas totais diminuem 23% em relação aos valores iniciais, indicando que, provavelmente, estariam sendo utilizadas como substrato energético. Thabrew e cols. (1971), trabalhando com brânquias isoladas de *Carcinus maenas*, comprovaram a existência da via da gliconeogênese a partir de aminoácidos. Estudos mais aprofundados são necessários para o melhor esclarecimento do efeito do jejum sobre o metabolismo de proteínas do *Chasmagnathus granulata*.

Concluindo, o padrão de resposta metabólica durante o jejum em caranguejos adaptados previamente a uma dieta RC difere daquele observado nos animais mantidos antes do jejum com a dieta RP. Provavelmente, tais diferenças tenham contribuído para a variabilidade dos efeitos do jejum constatada nas diversas espécies de crustáceos.

VI . RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo investigar o efeito da adaptação prévia a uma dieta RC (rica em carboidratos) ou RP (rica em proteínas) sobre o padrão de resposta metabólica ao jejum no caranguejo *Chasmagnathus granulata*.

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: um grupo alimentado com dieta RC e um outro com dieta RP, durante um período de aclimatação de 15 dias. Após esse período, um grupo de animais (controle) era sacrificado para as dosagens bioquímicas e os demais foram agrupados conforme o tempo de jejum -1,2,4 ou 8 semanas- a que eram submetidos. Foram analisadas, na hemolinfa, as concentrações de glicose (método enzimático) e de lipídios (kit de dosagem Diagtest); no hepatopâncreas, nas brânquias e no músculo, os níveis de glicogênio (Van Handel,1975), água (método gravimétrico) e proteínas totais (Lowry,1951); no hepatopâncreas e no músculo, a concentração de lipídios totais (Folch e cols.,1957); e o índice hepatossomático.

No grupo de animais alimentados previamente com a dieta RC, o jejum provocou uma diminuição progressiva da concentração de glicose na hemolinfa nas duas primeiras semanas de jejum. A partir daí, os níveis permaneceram estáveis até o final do período experimental. Nos caranguejos alimentados com a dieta RP, os níveis de glicose na hemolinfa somente apresentaram diminuição na metade do período experimental.

A concentração de glicogênio no hepatopâncreas dos caranguejos alimentados com a dieta RC diminuiu durante o jejum chegando a valores bastante reduzidos após oito semanas. Nos

animais alimentados com dieta RP, não foi constatada variação significativa ao longo do período experimental.

Em ambos os grupos, a concentração de glicogênio no músculo diminuiu ao longo do jejum. Nas brânquias, em ambos os grupos, ocorreu um consumo significativo do glicogênio, chegando a valores bastante reduzidos após oito semanas de restrição alimentar.

Os níveis de lipídios totais na hemolinfa aumentaram nas duas primeiras semanas de jejum em cerca de 40% no grupo de animais previamente alimentados com a dieta RC e 100% no grupo mantido com dieta RP. Após oito semanas, entretanto, no grupo RC, ocorreu uma redução nos valores de lipídios totais hemolinfáticos de cerca de 44% em relação aos valores iniciais. No grupo RP, no final do período experimental, os níveis de lipídios na hemolinfa são equivalentes aos níveis iniciais.

A concentração de lipídios totais no hepatopâncreas de animais alimentados com dieta RP apresentou uma redução marcante após duas semanas de jejum, atingindo, no final do período experimental, cerca de 51% dos valores iniciais. Nos caranguejos mantidos com a dieta RC, os valores de lipídios totais durante o jejum não diferiram significativamente daqueles nos animais controle.

Após oito semanas de restrição alimentar, os valores de lipídios totais musculares diminuíram em cerca de 54% nos caranguejos mantidos com a dieta RC. Nos animais do grupo RP, a concentração de lipídios totais no músculo não foi afetada significativamente pelo período de jejum estudado.

No grupo RC, a concentração de proteínas no músculo e nas brânquias não sofreu alterações significativas ao longo do período experimental. No hepatopâncreas, verificou-se um aumento de 44% na oitava semana de jejum. Nos animais mantidos com a dieta RP, constatou-se uma redução de 23% nos níveis de proteínas nas brânquias na quarta semana de jejum. No músculo e no hepatopâncreas, na segunda semana de jejum, verificou-se um aumento de 19% e 10% respectivamente.

A concentração de água no hepatopâncreas de ambos os grupos aumentou ao longo do jejum e o índice hepatossomático diminuiu a valores 42% menores que os iniciais nos animais mantidos com a dieta RC e 53% nos alimentados com dieta RP.

Os resultados sugerem que o padrão de ajuste metabólico ao jejum nos caranguejos adaptados previamente a uma dieta RP difere daquele observado nos animais mantidos com a dieta RC antes da restrição alimentar. Provavelmente esse ajuste metabólico, decorrente da dieta previamente administrada aos caranguejos, contribua para a grande variabilidade de resultados sobre o efeito do jejum em crustáceos.

VII. ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of previous adaptation to a HC (high-carbohydrate) or to a HP (high-protein) diet on the metabolic response to fasting in the *Chasmagnathus granulata* crab.

The animals were divided into two experimental groups: one group fed on HC diet and other on HP diet for an acclimation period lasting 15 days. After this period, a group of animals (controls) were slaughtered for biochemical evaluation and the others were grouped according to length of starvation -1,2,4 or 8 weeks- to which they were submitted. The following tests were performed: in heamolymph, the glucose (enzymatic method) and total lipid (Diagtest kit) concentrations; in hepatopancreas, gills and muscle, the glycogen (Van Handel, 1975), water (gravimetric method) and total protein (Lowry, 1951) levels; in hepatopancreas and muscle, the total lipids concentration; and the hepatosomatic index.

In the group of animals previously fed on HC diet, starvation caused a progressive reduction of glucose concentration in heamolymph during the first two weeks. From then on, the levels remained stable until the end of the experimental period. In the crabs fed on the HP diet, the glucose levels in heamolymph only presented changes on the fourth week of fasting.

Glycogen concentration in the hepatopancreas of crabs fed on HC diet diminished during starvation and was quite low after eight weeks. In the animals fed on HP diet, no significant variation was found throughout the experimental period.

In both groups, the glycogen concentration in muscle

diminished throughout the fast. In the gills, in both groups, a significant consumption of glycogen occurred, dropping to very low values after eight weeks of food deprivation.

The total lipid levels in the hemolymph rose during the first two weeks of starvation by approximately 40% in the group of animals fed on HC diet and 100% in the HP group. After eight weeks, however, in the HC group, a reduction in the values of total hemolymphatic lipids of approximately 44%, as compared to initial values, occurred. In the HP group, at the end of the experimental period, the lipid levels in hemolymph are equivalent to initial values.

Total lipid concentration in the hepatopancreas of animals fed on HP diet showed a marked reduction after two weeks fasting, and by the end of experimental period had dropped to about 51% of the initial values. In crabs maintained on HC diet the values of total lipids during fasting were not significantly different from those in the control animals.

After eight weeks of food deprivation, the values of muscle total lipids diminished by about 54% in the crabs maintained on the HC diet. In the animals belonging to HP group, the concentration of total lipids in the muscle was not significantly affected by the fasting period studied.

In HC group, the concentration of total proteins in the muscle and the gills did not undergo significant changes throughout the experimental period. In the hepatopancreas a rise of 44% occurred at the end of experimental period. In the animals maintained on the HP diet a reduction of 23% was observed in the

gills at the fourth week of starvation. In muscle and hepatopancreas, at the second week of fasting, a rise of 19% and 10% occurred respectively.

Water concentration in the hepatopancreas of both groups increased throughout the fast and the hepatosomatic index dropped to values 42% smaller than the initial ones in animals maintained on the HC diet and 53% on those on a HP diet.

The results suggest that the pattern of metabolic adjustment to starvation in the crabs previously adapted to a HP diet is different from that observed in animals kept on the HC diet before food deprivation. The metabolic adjustment that results from the diet previously administered to the crabs contributes to the great variability of data regarding the effect of starvation in crustaceans.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- BEVER, K.; CHENOWETH, M.; & DUNN, A. 1981. Amino acid gluconeogenesis and glucose turnover in kelp bass (*Paralabrax* sp.). *Am. J. Physiol.* 240: R246-252.
- BOSCHI, E.E. 1964. Los crustáceos decápodos brachyura del litoral bonaerense. *Bol. Inst. Biol. Mar., Mar del Plata*, 6: 1-76.
- BOTTO, J.L. y IRIGOYEN, H.R. 1980. Bioecología de la comunidad del cangrejal I. Contribuición al conocimiento biológico del cangrejo de estuario, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) en la desembocadura del río salado, provincia de Buenos Aires. *Sem. Latinoam. Ecol. Bentónica y Sedimentolog. Plataf. Cont. Atlant. Sur, Unesco-Montevideo*, p. 161-169.
- CHANG, E. & O'CONNOR, J.D. 1983. Metabolism and Transport of Carbohydrates and Lipids. In: BLISS, D.E., ed. *The Biology of Crustacea*. New York, Academic Press, Altwood-Sandeman, Vol. 5.
- DAVIDSON, J.K.; FALKMER, S.; MEHROTRA, B.K.; WILSON, S. 1971. Insulin assays and light microscopical studies of digestive organs in protostomian and deuterostomian species and in coelenterates. *Gen. Comp. Endocrinol.* 17: 388-401.
- D'INCAO, F.; RUFFINO, M.L.; SILVA, K.G. 1988. Notas preliminares sobre a ecología de *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) na barra de Rio Grande, RS. (Decapoda, Grapsidae). In: *Resumos XV Congresso Brasileiro de Zoologia*, Curitiba.
- D'INCAO, F.; SILVA, K.G.; RUFFINO, M.L.; BRAGA, A.C. 1990. Hábito alimentar do caranguejo *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) na barra de Rio Grande, RS. (Decapoda, Grapsidae). *Atlântica, Rio Grande*, 12 (2): 85-93.

- BEVER, K.; CHENOWETH, M.; & DUNN, A. 1981. Amino acid gluconeogenesis and glucose turnover in kelp bass (*Paralabrax* sp.). *Am. J. Physiol.* 240: R246-252.
- BOSCHI, E.E. 1964. Los crustáceos decápodos brachyura del litoral bonaerense. *Bol. Inst. Biol. Mar., Mar del Plata*, 6: 1-76.
- BOTTO, J.L. y IRIGOYEN, H.R. 1980. Bioecología de la comunidad del cangrejal I. Contribución al conocimiento biológico del cangrejo de estuario, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) en la desembocadura del río salado, provincia de Buenos Aires. *Sem. Latinoam. Ecol. Bentónica y Sedimentolog. Plataf. Cont. Atlant. Sur, Unesco-Montevideo*, p. 161-169.
- CHANG, E. & O'CONNOR, J.D. 1983. Metabolism and Transport of Carbohydrates and Lipids. In: BLISS, D.E., ed. *The Biology of Crustacea*. New York, Academic Press, Altwood-Sandeman, Vol. 5.
- DAVIDSON, J.K.; FALKMER, S.; MEHROTRA, B.K.; WILSON, S. 1971. Insulin assays and light microscopical studies of digestive organs in protostomian and deuterostomian species and in coelenterates. *Gen. Comp. Endocrinol.* 17: 388-401.
- D'INCAO, F.; RUFFINO, M.L.; SILVA, K.G. 1988. Notas preliminares sobre a ecología de *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) na barra de Rio Grande, RS. (Decapoda, Grapsidae). In: *Resumos XV Congresso Brasileiro de Zoologia*, Curitiba.
- D'INCAO, F.; SILVA, K.G.; RUFFINO, M.L.; BRAGA, A.C. 1990. Hábito alimentar do caranguejo *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) na barra de Rio Grande, RS. (Decapoda, Grapsidae). *Atlântica*, Rio Grande, 12 (2): 85-93.

- DRACH, P. & TCHERNIGOVITZEFF, C. 1967. Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux crustacés. *Vie Milieu*. 18: 595-607.
- EISENSTEIN, A.B. & STRACK, I. 1971. Effect of high protein feeding on gluconeogenesis in rat liver. *Diabetes.*, 20 (9): 577-585.
- FOLCH, J.; LEES, M. & STANLEY, H.S. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226: 497-503.
- GIBSON, R. & BARKER, P.L. 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Ann. Rev.* 17: 285-346.
- GRABLY, S. & PIERRY, Y. 1981. Weight and tissue changes in long term starved frogs *Rana esculenta*. *Comp. Biochem. Physiol.* 69A: 683-688.
- HAGER, S.R. & BITTAR, E.E. 1985. Hormones and barnacle muscle fiber as a preparation. *Comp. Biochem. Physiol.* 81C: 247-252.
- HERREID C.F. & FULL, R.J. 1988. Energetics and Locomotion. NACMAHOH, B., ed. *Biology of Land Crabs*. Cambridge, Cambridge University Press, Chapter 10.
- HERRERA, E. & FREINKEL, N. 1968. Interrelationships between liver composition, plasma glucose and ketones and hepatic acetyl-CoA and citric acid during prolonged starvation in the male rat. *Biochim. Biophys. Acta* 170: 244-253.
- HIGUERA, M. de la & CARDENAS, P. 1985. Influence of dietary composition on gluconeogenesis from L-(U-C 14)-glutamate in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.* 81A (2): 391-395.

- HOCHACHKA, P.W.; SOMERO, G.N.; SCHNEIDER, D.E.; FREED, J.M. 1970. The organization and control of metabolism in the crustacean gill. *Comp. Biochem. Physiol.* 33: 529-548.
- INCE, B & THORPE, A. 1976. The effects of starvation and force-feeding on the metabolism of the northern pike, *Essox lucius* L. *J. Fish Biol.* 8: 79-88.
- JOHNSTON, M.A. & DAVIES, P.S. 1972. Carbohydrates of the hepatopancreas and blood tissues of *Carcinus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 41B: 433-443.
- KELLER, R. & ANDREW, E.M. 1973. The site of the crustaceans hyperglycemic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 20: 572-578.
- KELLER, R. & ORTH, H.P. 1989. Hyperglycemic Neuropeptides in Crustaceans. In: EPPLE, A.; SCANES, C.G.; STETSAN, M.H. eds. *Progress in Comparative Endocrinology*. New York, Wiley-Liss Inc., v. 342, p.265-271.
- KETTELHUT, I.C.; FOSS, M.C.; MIGLIORINI, R.H. 1980. Glucose homeostase in a carnivorous animal (cat) and in rats fed a high protein diet. *Am. J. Physiol.* 239: 437-444.
- KUCHARSKI, L.C.R. & DA SILVA, R.S.M. 1991 A. Effects of diet composition on the carbohydrate and lipid metabolism in an estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Dana,1851). *Comp. Biochem. Physiol.* 99A: 215-218.
- KUCHARSKI, L.C.R. & DA SILVA, R.S.M. 1991 B. Seasonal variation on the energy metabolism in an estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Dana,1851). *Comp. Biochem. Physiol.* 100A (3): 599-602.

- KUCHARSKI, L.C.R. & DA SILVA, R.S.M. 1991 C. Effect of hyposmotic stress on the carbohydrate metabolism of crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diet. *Comp. Biochem. Physiol.* "in press".
- LEWIS, T.L. & EPPLE, A. 1984. Effects of Fasting, Pancreatectomy, and Hypophysectomy in the yellow eel, *Anguilla rostrata*. *Gen. and Comp. Endocrinol.* 55: 182-194.
- LINDER, C. 1971. Metabolismo de carboidratos e de lipídios no urubu (*Coragyps atratus* Bechts, 1973). Botucatu, Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu. (Tese de livre docência).
- LORET, S.; VAN DER GOOR, N.; DEVOS, P. 1989. Suspensions d'Hémocytes et d'Hépatopancréatocytes pour L'étude, IN VITRO, de la Charge en Glucose chez um Crustacé Décapodé. *Océanis*, v.15 (4): 419-431.
- LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FAN, A.L.; RANDALL, R.J. 1951. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- LYNCH, M.P. & WEBB, K.L. 1973. Variations in serum constituents of the blue crab, *Callinectes sapidus*: total serum protein. *Comp. Biochem. Physiol.* 44A: 1237-1249.
- MACHADO, C.R.; GAROFALO, M.A.R.; ROSELINO, J.E.S.; KETTELHUT, I.C.; MIGLIORINI, R.H. 1988. Effects of starvation, refeeding and insulin on energy-linked metabolic processes in catfish (*Rhandia hilarii*) adapted to a carbohydrate-rich diet. *Gen. Comp. Endocrinol.* 71: 429-437.

- MAÑÉ-GARZON, F.; DEI-CAS, E.; HOLCMAN-SPECTOR, B.; LEYMONIE, J. 1974. Estudios sobre la biología del cangrejo de estuario *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851. I- Osmorregulación frente a cambios de salinidad. *Physis*, 33 (86): 163-171.
- MARSDEN, I.D.; NEWELL, R.C.; AHSANULLAH, M. 1973. The effect of starvation on the metabolism of the shore crab, *Carcinus maenas*. *Comp. biochem. Physiol.* 45A: 195-213.
- MEENAKSHI, V.R. & SCHEER, B.T. 1961. Metabolism of glucose in the crabs *Cancer magister* and *Hemigrapsus nudus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 3: 30-41.
- MERKLE, S & HANKE, W. 1988. Long-term starvation in *Xenopus laevis* Daudin-II. Effects on several organs. *Comp. Biochem. Physiol.* 90A (3): 491-495.
- MIGLIORINI, R.H.; LINDER, C.; MOURA, J.L.; VEIGA, J.A.S. 1973. Gluconeogenesis in a carnivorous bird (black vulture). *Am. J. Physiol.* 225: 1389-1393.
- MOON, T.W. 1988. Adaptation, constraint and function of the gluconeogenic pathway. *Can. J. Zool.* 66: 1059-1068.
- MOON, T.W.; FOSTER, G.D.; PLISETSKAYA, E.M. 1989. Changes in peptide hormones and liver enzymes in the rainbow trout deprived of food for 6 weeks. *Can. J. Zool.* 67: 2189-2193.
- MORENO, J.A. 1961. *Clima do Rio Grande do Sul*. Publicação da Secretaria de Agricultura do estado do RGS. Diretoria de terras e colonização, seção de geografia, Porto Alegre.
- MOSIN, A.F. 1982. Some physiological and biochemical features of starvation and refeeding in small wild rodents (Microtinae). *Comp. Biochem. Physiol.* 71A: 461-464.

- MOURA, J.L. & LINDER, C. 1987. Aspectos do controle do metabolismo de carboidratos no pombo. *Ciência e Cultura* 39 (10): 967-969.
- NAGY, T.R. & PISTOLE, D.H. 1988. The effects of fasting on some physiological parameters in the meadow vole, *Microtus pennsylvanicus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 91A (4): 679-684.
- NERY, L.E. 1990. Efeito da salinidade no metabolismo de carboidratos de *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea- Decapoda). FURG, Rio Grande-RS (Dissertação de Mestrado).
- O'CONNOR, J.D. & GILBERT, L.I. 1968. Aspects of lipid Metabolism in Crustaceans. *Am. Zoologist*, 8: 529-539.
- O'CONNOR, J.D. & GILBERT, L.I. 1969. Alterations in lipid metabolism associated with premolt activity in a land crab and fresh-water crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.* 29: 889-904.
- PARVATHY, K. 1971. Glycogen storage in relation to the moult cycle in two crustaceans *Emerita asiatica* and *Ligia exotica*. *Mar. Biol.* 10: 82-86.
- REGNAULT, M. 1981. Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon* L.: metabolic response to prolonged starvation. *J. Comp. Physiol.* 141, 549-555.
- SANDERS, B. 1983 A. Insulin-like peptides in the lobster *Homarus americanus*. I. Insulin imureactivity. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 50: 366-373.
- SANDERS, B. 1983 B. Insulin-like peptides in the lobster *Homarus americanus*. II. Insulin-like biological activity. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 50: 374-377.

- SANTOS, E.A. & COLARES, E.P. 1986. Blood glucose regulation in an intertidal crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana,1851). *Comp. Biochem. Physiol.* 83A (4): 673-675.
- SANTOS, E.A.; BALDISSEROTO, B.; BIANCHINI, A.; COLARES, E.P.; NERY, L.E.M.; MANZONI, G.C. 1987. Respiratory mechanisms and metabolic adaptations of an intertidal crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana,1851). *Comp. Biochem. Physiol.* 88A (1): 21-25.
- SANTOS, E.A. & NERY, L.E.M. 1987. Blood glucose regulation in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana,1851) exposed to different salinities. *Comp. Biochem. Physiol.* 87A (4): 1033-1035.
- SANTOS, E.A.; NERY, L.E.M.; MANZONI, G.C. 1988. Action of the crustacean hyperglycemic hormone of *Chasmagnathus granulata* (Dana,1851) (Decapoda, Grapsidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 89A (3): 329-332.
- SCHIRF, V.R.; TURNER, P.; SELBY, L.; HANNAPEL, C.; DE LA CRUZ, P. 1987. Nutritional status and energy metabolism of crayfish (*Procambarus clarkii*, Girardi) muscle and hepatopancreas. *Comp. Biochem. Physiol.* 88A (3): 383-386.
- SEDLMEIER, D. 1987. The role of the hepatopancreatic glycogen in the action of the crustacean hyperglycemic hormone (CHH). *Comp. Biochem. Physiol.* 87A: 423-425.
- SPECK, U. & ULRICH, K. 1969. Consumption of body constituents during starvation in the crayfish, *Orconectes limosus*. *Z. Vergl. Physiol.* 63, 410-414.
- THABREW, H.I.; POAT, P.C.; MUNDAY, K.A. 1971. Carbohydrate metabolism in *Carcinus maenas* gill tissue. *Comp. Biochem. Physiol.* 40B:531-541.

- TURCATTO, G.S. 1990. Estudo Bio-Ecológico do caranguejo de estuário *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea, Decapoda) na Lagoa de Tramandai, RS, BR. Porto Alegre, UFRGS, Instituto de Biociências, 176 p. (Dissertação de Bacharelado em Zoologia).
- VAN HANDEL, E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Analyt. Biochem.* 11: 256-265.
- VEIGA, J.A.S.; ROSELINO, E.S.; MIGLIORINI, R.H. 1978. Fasting, adrenalectomy and gluconeogenesis in the chicken and carnivorous bird. *Am. J. Physiol.* 234 (3): R115-R121.
- WANG, D. & SCHEER, B.T. 1963. UDPG-Glycogen transglicosilase and natural inhibitor in crustacean tissues. *Comp. Biochem. Physiol.*, 9: 263-274.
- WILLIAMS, A.J. & LUTZ, P.L. 1975. The role of the hemolymph in the carbohydrate metabolism of *Carcinus maenas*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 55, 667-670.