

# Perfil metabólico de *Aegla platensis* Schmitt, (Crustacea, Aegliidae, Anomura) submetida a dietas ricas em carboidratos ou proteínas<sup>1</sup>

Bibiana Della P. Ferreira<sup>2</sup>, Cristina Hack<sup>3</sup>, Guendalina T. de Oliveira<sup>3</sup> & Georgina Bond-Buckup<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Contribuição número 456 do Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<sup>2</sup> Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Avenida Bento Gonçalves 9500, prédio 43435, 91501-970 Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Avenida Ipiranga 6681, prédio 12, 90619-900 Rio Grande do Sul, Brasil.

**ABSTRACT. Metabolic profile of *Aegla platensis* Schmitt, (Crustacea, Anomura) submitted to carbohydrate-rich or high-protein diets.** The objective of this study was to assess the effect of a carbohydrate-rich and a high-protein diets on metabolism of *Aegla platensis*, a freshwater anomuram crab. The animals were collected in Mineiro Creek, Taquara city, Rio Grande do Sul, at august/2002 and january/2003, and were feed during 15 days with crude bovine meat and white rice, in an aerated aquarium. The photoperiod was controlled: 12 hours day – 12 hours night. Glucose, proteins, lipids and triglycerides were dosed in haemolymph; glycogen and lipids were dosed in hepatopancreas, gills and muscle tissues. In *Aegla platensis*, maintained in laboratory conditions, in all studied tissues can be seen that the regular food intake, as well as the kind of administered diet determinated a differential profile of metabolic response between sexes and the period of the experiments performance (winter and summer).

**KEY WORDS.** Hemolymph, metabolism, tissues.

**RESUMO.** O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de uma dieta rica em carboidratos e uma dieta rica em proteínas sobre o metabolismo de *Aegla platensis*, um caranguejo anomuro de água doce. Os animais foram coletados no Arroio do Mineiro, município de Taquara, Rio Grande do Sul, em agosto/2002 e janeiro/2003, e foram alimentados durante 15 dias com carne bovina crua e arroz branco, em aquários aerados. O fotoperíodo foi controlado: 12 horas claro – 12 horas escuro. Glicose, proteínas, lipídios e triglicerídios foram dosados na hemolinfa; glicogênio e lipídios foram dosados no hepatopâncreas, brânquias e músculo. Em *Aegla platensis*, mantida em condições de laboratório, em todos os tecidos estudados pode ser observado que o aporte regular de alimento, bem como o tipo de dieta administrada determinaram um perfil diferenciado de resposta metabólica entre os sexos e o período de realização dos experimentos (inverno e verão).

**PALAVRAS CHAVE.** Hemolinfa, metabolismo, tecidos.

*Aegla* Leach, 1820 inclui espécies de decápodos anomuros que ocorrem em ambientes de água doce, como lagos, arroios, rios de correnteza e rios de cavernas, desde o município de Franca em São Paulo, até a Ilha de Madre de Dios, no Chile (BOND-BUCKUP 1994). Habitam preferencialmente águas límpidas e bem oxigenadas.

A dieta natural de *Aegla platensis* Schmitt, 1942 (Aegliidae) consiste de larvas de insetos e macrófitas aquáticas, cujo consumo varia de acordo com a disponibilidade dos itens no ambiente, tendo sido classificada como omnívora, generalista e oportunista por BUENO & BOND-BUCKUP (2004).

Em estudos realizados com *Aegla platensis*, BUENO & BOND-BUCKUP (2000) estudaram a dinâmica populacional da espécie, e constataram que o período reprodutivo estende-se por todo o

ano, com um pico em julho. Isto pode estar relacionado com a abundância de recursos alimentares, temperaturas amenas e águas límpidas. Quanto à densidade populacional, foram registrados 8,7 a 15,3 indivíduos/m<sup>2</sup>.

Trabalho desenvolvido em nosso laboratório sobre as variações circadianas e sazonais do metabolismo de carboidratos de *Aegla platensis*, mostram, na hemolinfa, variação circadiana apenas nos níveis de glicose das fêmeas, no outono, sendo mais baixos às 6:00 horas. Quanto à sazonalidade, os níveis foram mais elevados na primavera, em machos e em fêmeas. As concentrações de glicogênio não variaram significativamente ao longo do dia, em nenhum dos tecidos analisados, tanto em machos como em fêmeas. A comparação das diferentes estações do ano, pelos autores, mostrou que as concentrações de

glicogênio no hepatopâncreas das fêmeas foram maiores no outono. Já a análise do ritmo circadiano e sazonal do metabolismo de lipídios e triglicerídios totais, na mesma espécie, mostra variações circadianas apenas nas concentrações de lipídios totais da hemolinfa, durante o verão, tanto em machos como em fêmeas. Ambos os metabólitos apresentaram níveis teciduais mais elevados apenas no verão.

Vários trabalhos com metabolismo também foram feitos com o caranguejo de estuário *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Grapsidae). KUCHARSKI & DA SILVA (1991a) verificaram que diferentes dietas alteram significativamente as concentrações de glicose, glicogênio e lipídios nos tecidos e na hemolinfa deste caranguejo. KUCHARSKI & DA SILVA (1991b), estudando os efeitos da sazonalidade em ambiente natural concluíram que o glicogênio é a principal fonte de energia durante a primavera e o verão, ao passo que os lipídios do músculo são mais utilizados durante o outono e o inverno.

A glicose é o principal monossacarídeo da hemolinfa dos crustáceos (CHANG & O'CONNOR 1983) sendo utilizado para a síntese de quitina, de glicogênio, de mucopolissacarídeos, de ribose, de piruvato e de NADPH (nicotinamina adenina difosfato reduzida). Níveis glicêmicos estáveis são importantes para manter as funções regulares de certos tecidos e órgãos, como o sistema nervoso central e o muscular (VERRI *et al.* 2001), sendo controlados por fatores hormonais, nutricionais e ambientais (OLIVEIRA *et al.* 2003).

Os principais tecidos de reserva de glicogênio em crustáceos são o músculo, o hepatopâncreas, as brânquias e os hemócitos, porém o local de armazenamento deste polissacarídeo varia de acordo com a espécie (JOHNSTON & DAVIES 1972, HERREID & FULL 1988, ZHUKOVA 1998). A ausência de um depósito central de glicogênio parece ser, segundo HOCHACHKA *et al.* (1970), uma adaptação de várias classes de animais às mudanças nos fatores ambientais.

O músculo, o hepatopâncreas e as gônadas também são locais de armazenamento de lipídios, pois não há um tecido adiposo diferenciado, sendo suas concentrações bastante elevadas (O'CONNOR & GILBERT 1968, CHANG & O'CONNOR 1983, HERREID & FULL 1988, KUCHARSKI & DA SILVA 1991a, ROSA & NUNES 2002). Diversos estudos têm demonstrado que durante períodos de grande demanda energética, como a muda e a gametogênese, ocorre uma marcante mobilização de lipídios, principalmente aqueles presentes no hepatopâncreas.

Tendo em vista o atual estado de preservação de nossos recursos hídricos, torna-se importante conhecer as reações comportamentais e metabólicas de uma espécie às alterações em sua dieta. Do ponto de vista econômico, estudos comparativos de dietas em relação à outra podem ser importantes para a carcinicultura e até mesmo piscicultura, uma vez que os aeglídeos servem de alimento para várias espécies de peixes.

*Aegla platensis* vem sendo investigada sobre os mais diversos aspectos, abrangendo pesquisas sob o enfoque morfológico de estruturas, dinâmica da população, aspectos da reprodução,

dinâmica alimentar e fisiologia do metabolismo intermediário, entre outros, tendo se revelado um excelente modelo experimental. Nesta pesquisa propomos ampliar o conhecimento de algumas respostas fisiológicas da espécie em cultivo de laboratório, como a como avaliar o efeito de uma dieta rica em proteínas (HP) e outra rica em carboidratos (HC) sobre o metabolismo intermediário; comparar as reservas metabólicas entre machos e fêmeas e, ainda verificar o efeito da sazonalidade após um período de aclimação em laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

### COLETA E MANUTENÇÃO

As coletas foram realizadas no Arroio do Mineiro, município de Taquara, Rio Grande do Sul, em agosto/2002 (inverno) e janeiro/2003 (verão). Em cada uma destas estações foram coletados, com auxílio de puçás, 32 indivíduos, sendo 16 machos e 16 fêmeas.

Após serem transportados para o laboratório, os animais foram colocados em aquários de 9 litros, 1 casal em cada, e mantidos em fase de adaptação durante 3 dias, sem receber alimento para limpeza do conteúdo estomacal. Encerrada essa fase, iniciava-se o período de aclimação por 15 dias em aquários com aeração permanente, com temperatura média de  $16,51 \pm 0,55$  °C, fotoperíodo controlado (12 horas claro: 12 horas escuro), sendo estes alimentados *ad libitum* com uma dieta rica em proteínas ou carboidratos.

Dos 16 casais, oito receberam a dieta rica em proteínas, que consistia de carne bovina crua (valor calórico: 146,87 cal/100 g; proteína: 21,59%; gordura: 6,71%; fibras: 0,31%; umidade: 71,01%; cinzas: 0,35%; carboidratos: 0,03%) e, os outros 8 receberam uma dieta rica em carboidratos, que consistia de arroz branco cozido (valor calórico: 155,65 cal/100 g; proteína: 3,34%; gordura: 0,45%; fibras: 0,30%; umidade: 61,33%; cinzas: 0,02%; carboidratos: 34,56%), sem sal e sem gordura. O alimento era colocado no final da tarde, horário preferencial de alimentação em ambiente natural (BUENO & BOND-BUCKUP 2004), sendo as sobras retiradas no final da manhã seguinte.

Concluída esta etapa, a hemolinfa de cada indivíduo foi retirada com seringas contendo Oxalato de Potássio (10%), como anticoagulante, e congelada para dosagem de glicose, proteínas totais, lipídios totais e triglicerídios. Após, os animais foram crioadestesiados e dissecados para a retirada dos principais tecidos de reserva: hepatopâncreas, brânquias e músculo abdominal. Devido à pequena quantidade de tecido por animal, as amostras foram agrupadas, "pool" de quatro animais, pesadas e congeladas para posterior análise do glicogênio e dos lipídios totais. As análises da hemolinfa foram realizadas em duplicata e as teciduais, em quadruplicata.

### ANÁLISES BIOQUÍMICAS

#### Determinações na hemolinfa

A glicose foi quantificada pelo método da enzima glicose oxidase (kit de glicose enz-color da Labtest) e os resultados fo-

ram expressos em mg/dl.

As proteínas totais foram quantificadas através do método descrito por LOWRY *et al.* (1951), com albumina bovina como padrão. Os resultados foram expressos em mg/ml.

Os lipídios totais foram quantificados através do método da sulfosfovanilina. Uma alíquota de 20µl da hemolinfa foi utilizada para a reação com hidrólise ácida, seguida da reação com vanilina, de acordo com o método espectrofotométrico de sulfosfovanilina. Os resultados foram expressos em mg/dl.

Os triglicerídios foram quantificados através do kit da Lab test (triglicerídios GPO Trinder), com os resultados sendo expressos em mg/dl.

#### Determinações teciduais

O glicogênio foi extraído segundo VAN HANDEL (1965) e quantificado como glicose (kit Labtest) após hidrólise ácida (HCl) e neutralização (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), com os resultados sendo expressos em g%.

Os lipídios totais foram extraídos pelo método de FOLCH *et al.* (1957), sendo homogeneizados em solução de clorofórmio-metanol (2:1) e determinados por uso do método da sulfosfovanilina, com os resultados sendo expressos em mg/g de peso úmido.

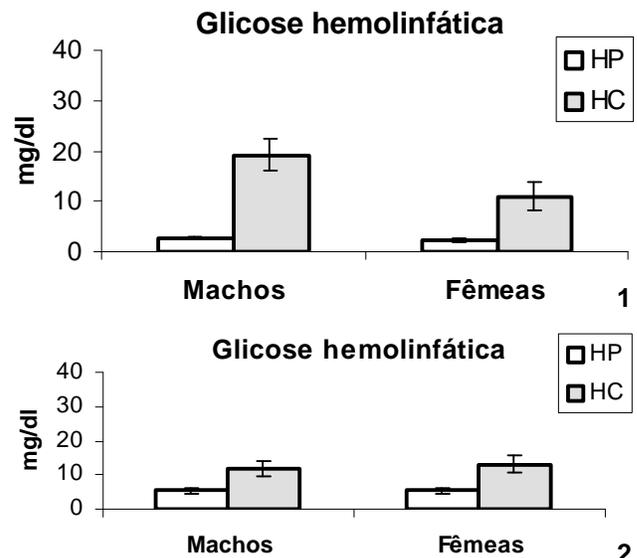
#### Análise estatística

Para análise estatística dos resultados foi aplicado o teste de análise de variância de três vias e, adotado o nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram feitas no programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 11.5, para Windows.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo dos níveis de glicose hemolinfática mostra que as dietas (HC e HP) determinam uma resposta diferencial, sendo estes níveis mais elevados nos animais que receberam uma dieta rica em carboidratos em relação aos animais que receberam uma dieta rica em proteínas (Figs 1 e 2). Tal padrão de resposta metabólica já foi observado em caranguejos de estuário, *Chasmagnathus granulata*, que receberam o mesmo tipo de dieta por igual período de tempo (KUCHARSKI & DA SILVA 1991a). Cabe ressaltar que as estações do ano em que foram realizados os experimentos (inverno e verão), bem como o sexo não determinam uma resposta diferencial ( $p > 0,05$ ) e que esta resposta é determinada pelas dietas independente destes fatores.

Os animais do grupo HC apresentam concentrações de glicose hemolinfática muito semelhantes àquelas observadas em animais da mesma espécie, coletados em ambiente natural, na mesma época do ano. Apesar do aporte regular de alimento os animais do grupo HP apresentaram níveis de glicose hemolinfática mais baixos que aqueles observados para *Aegla platensis* em ambiente natural. Tendo em vista o baixíssimo percentual de carboidratos contido na dieta, é possível que os aminoácidos provenientes da dieta estejam sendo utilizados na via gliconeogênica para manterem níveis mínimos de glicose



Figuras 1-2. Concentração de glicose hemolinfática em machos e em fêmeas submetidos à dieta rica em proteínas (HP) e rica em carboidratos (HC) no inverno (1) e no verão (2). As colunas representam a média e as barras verticais o erro padrão da média.

na hemolinfa e as reservas de glicogênio nos diferentes tecidos estudados. OLIVEIRA & DA SILVA (1997) demonstraram uma alta capacidade gliconeogênica no hepatopâncreas de caranguejos, tanto alimentados com uma dieta rica em carboidratos como em proteínas. Os mesmos autores também, concluíram que a via gliconeogênica é importante para a sobrevivência do caranguejo do estuário *Chasmagnathus granulata* durante grandes variações de parâmetros ambientais, como temperatura, salinidade e períodos de escassez de alimento.

Na tabela I pode-se observar a concentração de glicogênio no hepatopâncreas, nas brânquias e no músculo abdominal.

Independente das estações do ano (inverno e verão) e dos sexos, os níveis de glicogênio hepatopancreático são significativamente mais elevados nos anomuros que receberam uma dieta rica em carboidratos em relação àqueles que receberam uma dieta HP, sendo esta resposta dependente dos outros fatores.

No tecido branquial nenhum dos fatores estudados (dieta, sexo, estações) determina diferenças significativas para os níveis deste polissacarídeo; contudo, ao compararmos a interação entre os três fatores verificou-se uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Já no tecido muscular as dietas, o sexo e as estações determinam respostas diferenciais, sendo estas, dependentes dos fatores estudados (dieta, sexo, estação do ano). Ao compararmos os resultados obtidos para as diferentes dietas verificam-se concentrações de glicogênio muscular de 2,8 a 60 vezes maiores nas fêmeas no verão e nos machos no inverno, respectivamente. As diferenças sazonais entre as concentrações deste

polissacarídeo apresentam um padrão claro de resposta metabólica. No verão, as concentrações de glicogênio foram estatisticamente maiores no músculo de fêmeas HC e, de machos e de fêmeas HP. Já nos experimentos realizados no inverno apenas os machos HC apresentam valores mais elevados que nos experimentos do verão (Tab. I).

Nos experimentos realizados no inverno, verificou-se que os níveis de glicogênio nos diferentes tecidos (hepatopâncreas, brânquias e músculo), dos animais submetidos à dieta HP foram semelhantes aos animais estudados em campo, na mesma época do ano (OLIVEIRA *et al.* 2003). Este fato não foi observado nos experimentos de verão onde os valores de glicogênio, dos animais HP, nos diferentes tecidos foram maiores que aqueles observados em campo. Já a administração de uma dieta rica em carboidratos reverteu a homeostase do glicogênio, determinando um aumento das reservas de glicogênio em todos os tecidos estudados, em ambos os períodos do ano, em relação aos animais em seu hábitat. Resultados semelhantes foram obtidos em *Chasmagnathus granulata*, um caranguejo de estuário, por KUCHARSKI & DA SILVA (1991a).

Estudos realizados, em nosso laboratório, com fêmeas de *Aegla platensis* mostram que nos meses de inverno o hepatopâncreas parece ser o principal local de armazenamento de glicogênio apresentando valores mais elevados que aqueles dos demais tecidos estudados (brânquias e músculo abdominal); assim como, uma variação sazonal para a concentração deste polissacarídeo. Neste mesmo trabalho foi observado que os machos não apresentam variações estacionais para os níveis de glicogênio tecidual e nem diferenças entre a capacidade de armazenamento de glicogênio nestes tecidos. Este padrão de resposta metabólica parece ter sido alterado, em ambas as dietas, pelo aporte regular de alimento.

A ausência de um depósito central de glicogênio parece ser segundo HOCHACHKA & SOMERO (1984), uma adaptação de várias classes de animais a mudanças nos fatores ambientais. NERY & SANTOS (1993) sugerem que esta independência em relação aos depósitos centrais de glicose seria muito importante em animais

de circulação aberta, já que seu fluxo sanguíneo é lento e se dá sob baixa pressão, o que conduziria a uma distribuição menos efetiva da glicose para os tecidos. Sabe-se que o glicogênio armazenado pode ser utilizado nos processos de muda, hipóxia e/ou anóxia, osmorregulação, crescimento, diferentes estágios de reprodução e durante períodos de jejum (CHANG & O'CONNOR 1983, KUCHARSKI & DA SILVA 1991a, b, OLIVEIRA *et al.* 2003).

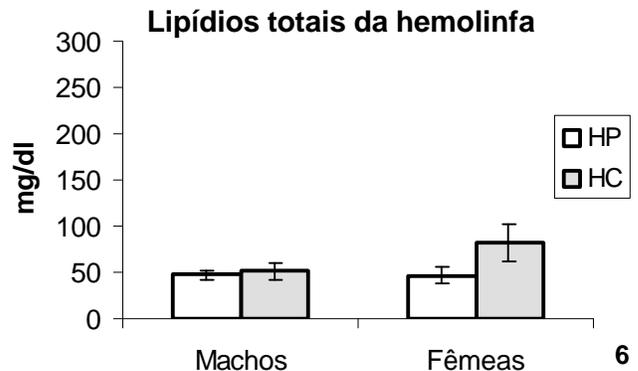
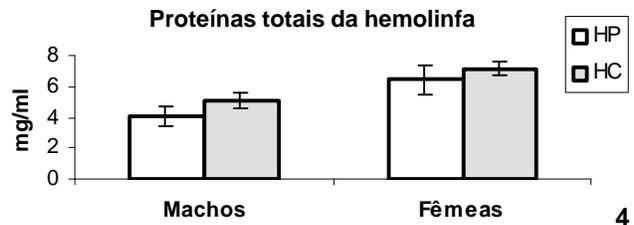
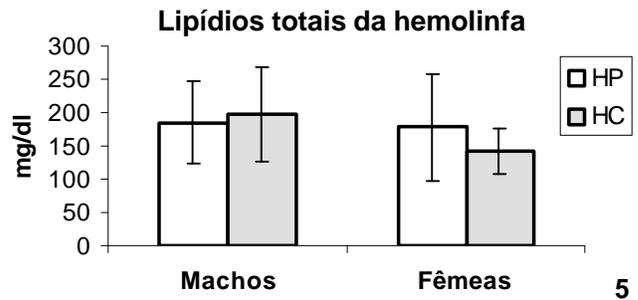
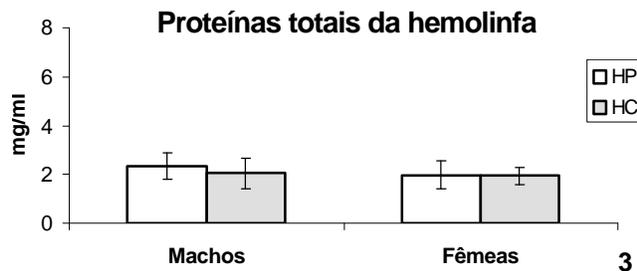
As proteínas totais da hemolinfa tiveram níveis semelhantes quando comparadas entre as dietas, tanto nos experimentos do inverno como nos de verão. Contudo, nos experimentos realizados no verão em animais que receberam uma dieta HC a concentração de proteínas foi de 2,4 a 3,7 vezes mais elevadas em machos e em fêmeas, respectivamente em relação aos meses de inverno. O mesmo perfil de resposta foi observado nos animais do grupo HP onde, no verão, esta concentração atingiu valores de 1,7 e 3,5 vezes maiores em machos e em fêmeas, respectivamente. Ao comparar os níveis de proteínas totais da hemolinfa entre os sexos, em ambas as dietas, observou-se que somente no verão as fêmeas apresentam em média níveis 1,4 vezes maiores ( $p < 0,05$ ) que os machos. Deve-se ressaltar que as diferenças estatísticas determinadas pelos sexos e pelas estações do ano estudadas independem de qualquer um dos fatores analisados (Figs 3 e 4).

Alguns estudos em crustáceos mostram uma variação sazonal no conteúdo de proteínas, estando esta variação correlacionada ao desenvolvimento ovariano, podendo resultar de um aumento na biossíntese de várias proteínas incluindo: hormônios, enzimas e lipoproteínas envolvidas com a maturação gonadal (ROSA & NUNES 2003, YEHEZKEL *et al.* 2000).

A análise dos resultados obtidos de machos e de fêmeas de *A. platensis*, em ambas as dietas, revelou que, para os níveis de proteínas totais da hemolinfa e para as concentrações de glicogênio no músculo, há uma tendência clara de elevação destas concentrações nos experimentos realizados no verão, sugerindo um aumento da capacidade de síntese e/ou diminuição da mobilização destes metabólitos. O aporte regular de alimento pode ser um dos fatores determinantes para tal resposta meta-

Tabela I. Concentração de Glicogênio nos diferentes tecidos (hepatopâncreas, brânquias, músculo) de animais submetidos à dieta rica em proteínas (HP) e rica em carboidratos (HC). Os resultados representam a média + erro padrão, e estão expressos em g%. O nível de significância foi  $p < 0,05$ .

	Machos		Fêmeas	
	HP	HC	HP	HC
Inverno				
Hepatopâncreas	0,42 ± 0,01	5,32 ± 0,42	1,12 ± 0,03	3,09 ± 0,00
Brânquias	0,55 ± 0,08	5,31 ± 0,54	0,89 ± 0,05	1,01 ± 0,08
Músculo	0,24 ± 0,02	15,01 ± 0,01	0,27 ± 0,03	3,61 ± 0,18
Verão				
Hepatopâncreas	1,00 ± 0,00	2,56 ± 0,02	0,83 ± 0,02	5,03 ± 0,00
Brânquias	6,50 ± 0,10	4,39 ± 0,02	6,20 ± 0,18	6,21 ± 0,55
Músculo	2,02 ± 0,00	6,81 ± 0,13	3,26 ± 0,08	9,12 ± 0,03



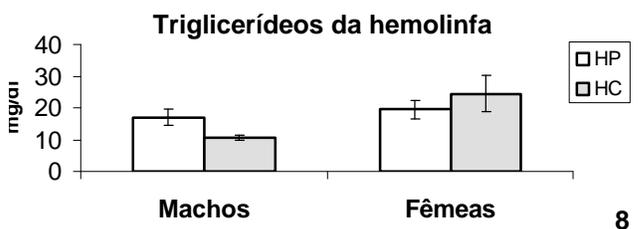
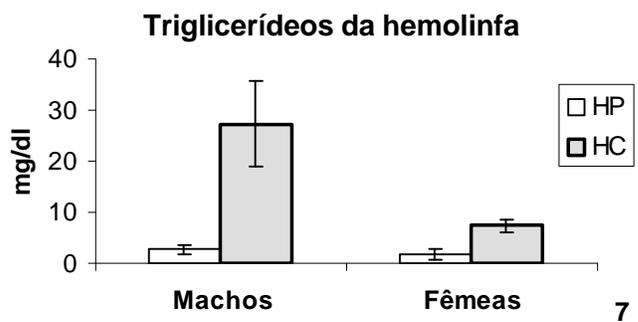
Figuras 3-4. Concentração de proteínas totais da hemolinfa em machos e em fêmeas submetidos à dieta rica em proteínas (HP) e rica em carboidratos (HC) no inverno (3) e no verão (4). As colunas representam a média e as barras verticais o erro padrão da média.

Figuras 5-6. Concentração de lipídios totais em machos e em fêmeas submetidos à dieta rica em proteínas (HP) e rica em carboidratos (HC) no inverno (5) e no verão (6). As colunas representam a média e as barras verticais o erro padrão da média.

bólica. Estudos desenvolvidos em *Aegla platensis* mostraram um elevado grau de repleção estomacal nos meses de outono, o que coincide com a oferta mais diversificada de recursos alimentares no ambiente natural; sendo este animal capaz de aproveitar os recursos mais abundantes ao longo do ano com preferência por mais de um item alimentar em cada estação do ano. *Aegla platensis* pode ser considerada uma espécie predadora, desempenhando importante papel na transferência de energia, sua dieta generalista e oportunista permite utilizar com sucesso animais de outros níveis tróficos, onde os insetos parecem ser o item de maior preferência alimentar em todas as estações do ano, exceto no verão (BUENO & BOND-BUCKUP 2004).

As figuras 5 e 6 mostram os resultados obtidos para os lipídios totais na hemolinfa. Pode-se observar que as dietas (HC e HP) assim como, os sexos não determinam um perfil de resposta diferencial nos níveis de lipídios totais. Já as estações do ano determinam uma resposta diferencial ( $p < 0,05$ ) que independe dos outros fatores (dietas e sexos), sendo estes valores de 1,7 a 3,8 vezes maiores nos experimentos realizados no inverno que aqueles realizados no verão.

Os resultados de triglicerídios hemolinfáticos podem ser observados nas figuras 6 e 7, sendo estes bastantes variados. Não houve diferenças nem entre as dietas nem entre os sexos. Contudo, quando comparamos as estações (inverno e verão) verificou-se uma resposta diferencial que depende do sexo e das dietas. Comparando-se os anomuros de mesmo sexo e que receberam a mesma dieta observa-se que os níveis de triglicerídios na hemolinfa são 3,3; 5,2 e 6,9 vezes mais elevados nos experimentos de verão que nos de inverno em fêmeas HC e em



Figuras 7-8. Concentração de triglicerídios em machos e fêmeas submetidos à dieta rica em proteínas (HP) e rica em carboidratos (HC) no inverno (7) e no verão (8). As colunas representam a média e as barras verticais o erro padrão da média.

machos e fêmeas HP, respectivamente; relação inversa foi verificada apenas em machos do grupo HC. O percentual de triglicerídios em relação ao conteúdo total de lipídios da hemolinfa aumenta nos meses de verão, não importando o sexo e nem a dieta previamente administrada (Tab. II).

Estudos desenvolvidos por ZHUKOVA *et al.* (1998) verificaram em *Artemia salina* Linnaeus, 1758 (Artemiidae) que o conteúdo de triglicerídios variou de 3,9 até 35,4% dos lipídios totais. Em trabalhos prévios, de nosso laboratório, realizados com *Aegla platensis*, em ambiente natural, ao longo das diferentes estações do ano verificou-se variações dos triglicerídios da hemolinfa de 6,8 a 63,4% do conteúdo de lipídios totais em machos e, de 4,1 a 46% nas fêmeas. No presente estudo, observou-se variações de triglicerídios de 1,4 a 35,8% do conteúdo de lipídios totais da hemolinfa em machos e, de 1,5 a 42,1% nas fêmeas.

Na tabela III constam os resultados obtidos para as concentrações de lipídios totais nos tecidos estudados. Com relação às dietas, aos sexos e a sazonalidade não verificam-se variações significativas em nenhum dos tecidos estudados (hepatopâncreas, brânquias e músculo abdominal); contudo, o tecido branquial apresenta uma variação dependente destes três fatores.

Em crustáceos as concentrações de lipídios são bastante elevadas, apesar de não existir um tecido adiposo diferenciado, os principais locais de armazenamento de lipídios são o músculo

e o hepatopâncreas (O'CONNOR & GILBERT 1968, CHANG & O'CONNOR 1983, HERREID & FULL 1988, KUCHARSKI & DA SILVA 1991a). Como em outros crustáceos os níveis de lipídios totais no hepatopâncreas excedem aqueles de glicogênio. Diversos estudos têm demonstrado que durante períodos de grande demanda energética, como a muda e a gametogênese, ocorre uma marcante mobilização de lipídios, principalmente aqueles presentes no hepatopâncreas. No caranguejo *Chasmagnathus granulata*, foi evidenciada uma variação sazonal dos níveis de lipídios musculares, sendo estes mais elevados no verão, porém os níveis de lipídios totais no hepatopâncreas só diminuíram no período reprodutivo (KUCHARSKI & DA SILVA 1991a).

Pouco se sabe sobre o metabolismo intermediário de crustáceos dulce-aquícolas. HERNANDEZ *et al.* (2003) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de lipídios em dietas artificiais oferecidas ao lagostim Parastacidae *Cherax quadricarinatus* von Martens, 1868, e concluíram que machos investem em reservas de lipídios no crescimento, ao passo que as fêmeas, com maior índice hepatossomático, investem no desenvolvimento gonadal e na vitelogenese. Estudos de nosso laboratório com *Aegla platensis* mostram que tanto machos como fêmeas parecem ter a mesma capacidade de estocar e metabolizar lipídios tanto teciduais como hemolinfáticos, ao contrário de *C. quadricarinatus*. Variações sazonais dos níveis de lipídios totais e de triglicerídios em machos e em fêmeas de *Aegla platensis*, coletados em campo, mostraram nos meses de verão os mais altos níveis

Tabela II. Percentual de triglicerídios (TGL) em relação à quantidade de lipídios totais (LT) na hemolinfa.

	Inverno				Verão			
	Machos		Fêmeas		Machos		Fêmeas	
	HP	HC	HP	HC	HP	HC	HP	HC
% TGL	1,40	13,80	1,50	5,20	35,80	20,70	42,11	29,75
TGL (mg/dl)	2,73	27,28	1,77	7,36	17,03	10,66	19,48	24,50
LT (mg/dl)	184,94	197,49	177,92	141,57	47,46	51,48	46,28	82,36

Tabela III. Concentração de lipídios totais nos diferentes tecidos (hepatopâncreas; brânquias; músculo) de animais submetidos à dieta rica em proteínas (HP) e rica em carboidratos (HC). Os resultados representam a média  $\pm$  erro padrão, e estão expressos em mg/g de peso úmido. O nível de significância foi  $p < 0,05$ .

	Fêmeas		Fêmeas	
	HP	HC	HP	HC
Inverno				
Hepatopâncreas	3,24 $\pm$ 0,0339	3,66 $\pm$ 0,0650	2,23 $\pm$ 0,0070	2,18 $\pm$ 0,0132
Brânquias	2,89 $\pm$ 0,0295	5,77 $\pm$ 0,0375	2,55 $\pm$ 0,0171	1,68 $\pm$ 0,0155
Músculo	2,09 $\pm$ 0,0220	1,32 $\pm$ 0,0256	11,17 $\pm$ 0,0360	10,9 $\pm$ 0,0578
Verão				
Hepatopâncreas	7,89 $\pm$ 0,0126	5,87 $\pm$ 0,0497	9,04 $\pm$ 0,0705	9,04 $\pm$ 0,0112
Brânquias	1,50 $\pm$ 0,0118	1,47 $\pm$ 0,0289	2,37 $\pm$ 0,0371	2,05 $\pm$ 0,0148
Músculo	1,76 $\pm$ 0,0148	1,58 $\pm$ 0,0260	1,60 $\pm$ 0,0742	1,88 $\pm$ 0,0163

destes parâmetros em diferentes tecidos (hemolinfa, hepatopâncreas, brânquias e músculo). Já nos meses de outono observou-se uma diminuição dos níveis de lipídios totais, em ambos os sexos, sendo estes, acompanhados de um decréscimo do percentual de triglicerídios.

No presente estudo, o aporte regular de alimento, o fotoperíodo e a temperatura controlados revertem o perfil de resposta dos lipídios totais, onde no inverno verificam-se valores mais elevados deste metabólito na hemolinfa e, nos tecidos tal parâmetro não varia. Contudo, um padrão de resposta semelhante ao do ambiente natural foi verificado para os triglicerídios da hemolinfa que independente das dietas e dos sexos, apresentam níveis mais elevados nos meses de verão; como também, a proporção de triglicerídios em relação aos lipídios totais da hemolinfa que apresentá-se mais elevada nos meses de verão, em ambas as dietas (HC e HP).

Os resultados obtidos em campo aliados aos aqui apresentados parecem sugerir um aumento da demanda energética, possivelmente para a produção de gametas no verão; incubação e postura dos ovos no outono e no inverno respectivamente, visto que em ambiente natural o outono antecede os meses de ocorrência do pico reprodutivo da espécie. Estes achados, também, indicam uma alocação das reservas de triglicerídios e de proteínas hemolinfáticas para os processos ligados à reprodução.

Esta sazonalidade já foi verificada em outros crustáceos (KUCHARSKI & DA SILVA 1991b, ROSA & NUNES 2002). Trabalho desenvolvido por ROSA & NUNES (2002) com três diferentes espécies de crustáceos decápodos mostra que o ciclo reprodutivo tem efeitos marcantes sobre a dinâmica de lipídios destas espécies, onde a maturação gonadal está associada com um alto custo energético devido ao aumento da capacidade biossintética deste tecido. Os lipídios são a principal fonte de energia metabólica para o desenvolvimento embrionário e, sua quantidade correlaciona-se com o tamanho dos ovos e, com o intervalo de tempo entre a postura, a incubação e a primeira alimentação das larvas. Cabe salientar que durante o período de maturação gonadal os ovários tornam-se um centro adicional para o metabolismo lipídico, incluindo a lipogênese (síntese de triacilglicerol), sob estas circunstâncias, o requerimento lipídico parece ser dependente do aporte de lipídios da dieta e/ou das reservas hepatopancreáticas.

## CONCLUSÕES

Em *Aegla platensis*, mantida em laboratório sob condições constantes de fotoperíodo (12h claro: 12h escuro) e de temperatura ( $16,51 \pm 0,55^\circ\text{C}$ ) a dieta administrada (HC ou HP) determina um perfil de resposta diferencial para as reservas de carboidratos da hemolinfa, do hepatopâncreas e do músculo. Já os sexos determinam uma resposta diferencial para as proteínas hemolinfáticas e para o glicogênio muscular e, as estações do ano (inverno e verão) na qual os experimentos foram desenvolvidos levam a respostas diferenciais nas concentrações

de lipídios totais, triglicerídios e proteínas da hemolinfa e, na concentração de glicogênio no tecido muscular. Tais resultados mostram que estas diferenças parecem estar sincronizadas com o período reprodutivo da espécie e sua demanda energética, com a qualidade e disponibilidade do alimento assim como, com um padrão de sazonalidade trazido do ambiente natural.

## AGRADECIMENTOS

A Dra. Alessandra A.P. Bueno pelo auxílio na revisão do texto final, ao Dr. Gilson Cunha pelo auxílio na versão do Abstract. Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica (BDPF) e pela bolsa de Produtividade (GEB). Aos consultores da Revista Brasileira de Zoologia que analisaram este manuscrito, pelas valiosas sugestões e principalmente, pelas sugestões em relação à análise estatística dos dados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOND-BUCKUP, G. & L. BUCKUP. 1994. A Família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). **Arquivos de Zoologia**, São Paulo, **32** (4): 159-346.
- BUENO, A.A.P. & G. BOND-BUCKUP. 2000. Dinâmica populacional de *Aegla platensis* Schmitt (Crustacea, Decapoda, Aeglidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **17** (1): 43-49.
- BUENO, A.A.P. & G. BOND-BUCKUP. 2004. Natural diet of *Aegla platensis* Schmitt and *Aegla ligulata* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Decapoda, Aeglidae) from Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, São Paulo, **16** (2).
- CHANG, E. & J.D. O'CONNOR. 1983. Metabolism and transport of carbohydrates and lipids, p. 263-289. *In*: D.E. BLISS (Ed.). **The Biology of Crustacea**. New York, Academic Press, Altwood-Sandeman, vol. 5, 471p.
- FOLCH, J.; M. LEES & H.S. STANLEY. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, **226**: 497-503.
- HERNANDES-VERGARA, M.P.; D.B. ROUSE; M.A. OLVERA-NOVOA & D.A. DAVIES. 2003. Effects of dietary lipid level and source on growth and proximate composition of juvenile redclaw (*Cherax quadricarinatus*) reared under semi-intensive culture conditions. **Aquaculture**, Amsterdam, **223**: 107-115.
- HERREID, C.F. & R.J. FULL. 1988. Energetics and locomotion, p. 337-377. *In*: B. MACMAHON (Ed.). **Biology of land crabs**. Cambridge, Cambridge University Press, 492p.
- HOCHACHKA, P.W.; G.N. SOMMERO. 1984. **Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution**. Princeton, Princeton University Press, 466p.
- HOCHACHKA, P.W.; G.N. SOMMERO; D.E. SCHNEIDER & J.M. FREED. 1970. The organization and control of metabolism in the crustacean gill. **Comparative and Biochemistry Physiology**, New York, **33**: 529-548.
- JOHNSTON, M.A. & P.S. DAVIES. 1972. Carbohydrates of the hepatopancreas and blood tissues of *Carcinus*. **Comparative and Biochemistry Physiology**, New York, **41B**: 433-443.

- KUCHARSKI, L.C.R. & R.S.M. DA SILVA. 1991a. Effect of diet composition on the carbohydrate and lipid metabolism in an estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). **Comparative and Biochemistry Physiology**, New York, **99A**: 215-218.
- KUCHARSKI, L.C.R. & R.S.M. DA SILVA. 1991b. Seasonal variation in the energy metabolism in an estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). **Comparative and Biochemistry Physiology**, New York, **100A** (3): 599-602.
- LOWRY, O.H.; N.J. ROSENBOUGH; A.L.FAU & R.J. RANDAL. 1951. Protein measurements with the folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, **193**: 265-275.
- NERY, L.E.M. & E.A. SANTOS. 1993. Carbohydrate Metabolism During Osmoregulation In *Chasmagnathus Granulata* Dana, 1851 (Crustácea, Decapoda). **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, **106b** (3): 747-753.
- O'CONNOR, J.D. & L.I. GILBERT. 1968. Aspects of lipid metabolism in Crustaceans. **American Zoologist**, Chicago, **8**: 529-539.
- OLIVEIRA, G.T. & R.S.M. DA SILVA. 1997. Gluconeogenesis of hepatopancreas of *Chasmagnathus granulata* maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. **Comparative and Biochemistry Physiology**, New York, **118A**: 1429-1435
- OLIVEIRA, G.T.; F.A. FERNANDES; G. BOND-BUCKUP; A.P. BUENO & R.S.M. DA SILVA. 2003. Circadian and seasonal variations in the metabolism of carbohydrates in *Aegla ligulata* Bond-Buckup & Buckup, 1994 (Crustacea: Anomura: Aeglidae). **Memoirs of Museum Victoria**, Melbourne, **60** (1): 59-62.
- ROSA, R. & M.L. NUNES. 2002. Changes in organ indices and lipid dynamics during the reproductive cycle of *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris* and *Nephrops norvegicus* (Decapoda) from the Portuguese south coast. **Crustaceana**, Netherlands, **75** (9): 1095-1105.
- ROSA, R.A. & M.L. NUNES. 2003. Changes in organ indices and lipid dynamics during the reproductive cycle of *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris* and *Nephrops norvegicus* (Crustacea: Decapoda) females from the South Portuguese Coast. **Crustaceana**, Leiden, **75** (9): 1095-1105.
- VAN HANDEL, E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. **Analytical Biochemistry**, Bethesda, **11**: 256-265.
- VERRI, T.; A. MANDAL; L. ZILLI; D. BOSSA; P.K.MANDAL; L. INGROSSE; V. ZONNO; S. VILELLA; G.A. AHEARN & C. STORELLI. 2001. D-Glucose transport in decapod crustacean hepatopancreas. **Comparative and Biochemistry Physiology**, New York, **130A**: 585-606.
- YEHEZKEL, G.; R. CHAYOTH; U. ABDU; I. KHALAILA & A. SAGI. 2000. High-density lipoprotein associated with secondary vitellogenesis in the hemolymph of the crayfish *Cherax Quadricarinatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, **127B**: 411-421.
- ZHUKOVA, N.V.; B. IMBS & L.F. YI. 1998. Diet-induced changes in lipid and fatty acid composition of *Artemia salina*. **Comparative and Biochemistry Physiology**, New York, **120** (3): 499-506.

---

Recebido em 05.IV.2004; aceito em 27.I.2005.