



ARTIGO

Metabolismo intermediário do tecido branquial do lagostim *Parastacus varicosus* (Decapoda: Parastacidae) na Bacia do Rio Gravataí, Rio Grande do Sul, Brasil

Guendalina Turcato Oliveira¹, Luiz Ferrúa Farias de Oliveira²,
Daiana da Silva-Castiglioni², Bibiana Kaiser Dutra¹ e Georgina Bond-Buckup²

Submetido em: 04 de setembro de 2009 Recebido após revisão em: 07 de dezembro de 2009 Aceito em: 11 de janeiro de 2010

Disponível em: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1364>

RESUMO: (Metabolismo intermediário do tecido branquial do lagostim *Parastacus varicosus* (Decapoda: Parastacidae) na Bacia do Rio Gravataí, Rio Grande do Sul, Brasil). A literatura especializada tem demonstrado, em Decapoda, que as brânquias anteriores são morfologicamente e fisiologicamente adaptadas a trocas de gases e respiração; as posteriores são especializadas para osmorregulação. Este trabalho teve como objetivo analisar as variações sazonais do metabolismo intermediário das brânquias de *Parastacus varicosus*, relacionando a variação destes metabólitos com fatores ecológicos e comportamentais do animal e fatores abióticos. Os lagostins foram coletados de Junho/2004 a Maio/2005, em Gravataí, Rio Grande do Sul, Brasil. As brânquias foram removidas e separadas as anteriores das posteriores, para a determinação dos níveis de glicogênio, proteínas e lipídios. Os resultados foram analisados com ANOVA, seguido do teste de Bonferroni. Para a comparação entre machos e fêmeas e entre brânquias anteriores e posteriores foi realizada ANOVA de duas vias. Ambos os testes tiveram nível de significância 0,05 no programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS-11.5). Os resultados mostraram um maior consumo de glicogênio e lipídios nos machos, em relação às fêmeas, somente para brânquias anteriores. Esta resposta pode estar relacionada a comportamentos agonistas dos machos e ao aumento da atividade de exploração do meio ambiente, principalmente em busca de parceiras reprodutivas. As brânquias de *P. varicosus* atuam de maneira diferente quanto a sua posição (anterior e posterior) e quanto ao sexo, apresentando clara variação sazonal. O armazenamento e o consumo dos metabólitos em cada estação diferem tanto entre os sexos quanto a localização das brânquias. Tais diferenças devem ocorrer por fatores ambientais, comportamentais ou pela soma destes fatores.

Palavras-chave: lagostim, brânquias, lipídios, glicogênio, proteínas.

ABSTRACT: (Branchial tissue intermediate metabolism of the crayfish *Parastacus varicosus* (Decapoda: Parastacidae) in Rio Gravataí Basin, Rio Grande do Sul State, Brazil). Specialized literature has demonstrated, in Decapods, that anterior gills are morphologically and physiologically adapted for gas exchange and breathing, while the posterior gills are specialized for osmoregulation. The goal of this work was to analyze the seasonal variations of the intermediate metabolism of the gills of *Parastacus varicosus*, relating variation of these metabolites with ecological and behavioral factors of the animal and abiotic factors. Crayfishes were collected from June/2004 until May/2005 in Gravataí, Rio Grande do Sul State, Brazil. Gills were removed and separated in anterior and posterior parts for determination of the levels of glycogen, proteins and lipids. The results were analyzed with ANOVA followed by Bonferroni test. For the comparison between males and females and anterior and posterior gills was used the two-way ANOVA test. Both tests were made with a significant level of 0.05 in the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS-11.5) software. The results showed a bigger consumption of the glycogen and lipids in the males in relation to the females for anterior gills. This pattern can be related to the agonist behaviors of the males and the increase of the activity of exploration of the environment mainly in search of reproductive partners. The gills of *P. varicosus* act in different way in relation to its position (anterior and posterior) and sex, showing a clear seasonal variation. The storage and the consumption of the metabolites in each season differ between the sexes and the localization of the gills. These differences can be occurring due to environmental factor, behavioral or the addition of both of these factors.

Key words: Crayfish, gills, lipids, glycogen, proteins.

INTRODUÇÃO

Os crustáceos decápodos, conhecidos como “lagostins de água doce”, encontram-se reunidos na Infraordem Astacidea, a qual inclui três superfamílias: Nephropoidea Dana, 1852, com representantes marinhos; Astacoidea De Haan, 1841, onde estão incluídas as famílias Astacidea e Cambaridea, que reúnem os lagostins do hemisfério norte; e Parastacoidea Huxley, 1879, representada pela família Parastacidea Huxley, 1879. A família Parastacidae

compreende 14 gêneros e 129 espécies, distribuídos pela Austrália, Tasmânia, Nova Zelândia, Madagascar e América do Sul, a maior parte das espécies ocorrendo na região australiana (Buckup 1999).

Na América do Sul, a família Parastacidae está representada por apenas três gêneros, *Parastacus*, Huxley, 1879, *Samastacus* Riek, 1971 e *Virilastacus* Hobbs, 1991. No Brasil, encontra-se apenas o gênero *Parastacus*, representado por 6 espécies: *Parastacus pilimanus*

1. Departamento de Ciências Morfofisiológicas, Laboratório de Fisiologia da Conservação, Faculdade de Biociências, Programa de Pós-graduação em Zoologia. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Av. Ipiranga, 6681, Pd. 12, Bloco C, Sala 270, Caixa Postal 1429, CEP 90619-900, Porto Alegre, RS, Brasil.

2. Departamento de Zoologia, Laboratório de Carcinologia, Instituto de Biociências, Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

*Autor para contato. E-mail: guendato@pucrs.br

Von Martes, 1869; *Parastacus brasiliensis* Von Martes, 1869; *Parastacus varicosus* Faxon, 1898; *Parastacus saffordi*, Faxon 1898; *Parastacus defossus* Faxon, 1989 e *Parastacus laevigatus* Buckup & Rossi, 1980 (Buckup & Rossi 1980, Fries 1980).

Grande parte das pesquisas sobre os lagostins parastacídeos envolve aspectos da taxonomia, ecologia e biologia em geral (Fries 1980, Fontoura & Buckup 1989a, b, Almeida & Buckup 1997, 1999, 2000). No entanto, no Brasil, pesquisas sobre o metabolismo intermediário desses crustáceos de água doce são escassas, encontrando-se estudos desenvolvidos, recentemente, com *P. brasiliensis* e *P. varicosus*, por Dutra et al. (2008) e Silva-Castiglioni et al. (2007), respectivamente. Contudo, somente em *P. brasiliensis* foi analisado o metabolismo das brânquias, onde foram analisados animais coletados do meio ambiente e animais cultivados em tanques experimentais.

Pesquisas têm mostrado que as brânquias dos crustáceos desempenham diferentes funções. As brânquias anteriores apresentam funções relacionadas à respiração e troca de gases; as posteriores estão relacionadas com as trocas iônicas e osmorregulação (Copeland & Fitzjarrrell 1968, Mantel & Farmer 1983, Towle & Kays 1986, Kuscharski & Da Silva 1991). Em *Eriocheir sinensis* Milne Edwards, 1853 e *Carcinus maenas* Linnaeus, 1758, aclimatados em água do mar diluída, observou-se nas brânquias um aumento significativo do consumo de oxigênio e da atividade da citocromo C oxidase (Welcomme & Devos 1988). Estes resultados e estudos morfológicos mostraram a presença de muitas mitocôndrias na membrana basolateral das células epiteliais (Gilles & Péqueux 1985), sugerindo alto metabolismo oxidativo em condições hiposmóticas.

Assim, o presente estudo visa analisar as variações sazonais do metabolismo intermediário do tecido branquial de machos e fêmeas de *P. varicosus*, determinando o comportamento dos níveis de glicogênio, proteínas totais e lipídios totais nas brânquias anteriores e posteriores, assim como relacionar o comportamento sazonal destes metabólitos com fatores ecológicos e comportamentais do animal em estudo, bem como com fatores abióticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os animais foram coletados e utilizados com a permissão do Comitê de Ética da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (Licença 0002/03) e de acordo com as leis brasileiras.

Procedimento experimental

Exemplares de *Parastacus varicosus* foram amostrados mensalmente, no período de junho/2004 a maio/2005, em um rio de 2º ordem e em oito tanques de criação de peixes, com aproximadamente 10 metros de comprimento e 6 metros de largura, em uma propriedade particular, na localidade de Cova do Touro, município de Gravataí, estado do Rio Grande do Sul (29°52'33,9"S e 51°0'51,7"W). Os animais foram amostrados com dois

tipos de armadilhas: o primeiro tratava-se de canos de PVC com 30 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro; o segundo, uma gaiola de ferro medindo em torno de 50cm de comprimento e 30 cm de largura, sendo todos os lados cobertos com uma rede. Em ambas as armadilhas, foram colocados pedaços de fígado de gado que funcionavam como iscas para os animais. As armadilhas foram colocadas nos locais e retiradas após dois dias. O número de animais coletado em cada ponto variou de 10 a 20.

Com a finalidade de caracterizar o local de coleta (água) e possíveis variações sazonais em parâmetros ambientais, foram registrados temperatura, pH e teor de oxigênio dissolvido. A temperatura da água foi obtida com termômetro de escala interna, o pH com um medidor portátil (Quimis/400H) e o oxigênio dissolvido com auxílio de um termo-oxímetro portátil (OXI 330/SET-WTW).

Em laboratório, as brânquias de machos e de fêmeas foram identificadas quanto a sua posição (anterior-posterior), extraídas e armazenadas a uma temperatura de -80°C, para posterior análise bioquímica através de métodos espectrofotométricos.

Cabe ressaltar que, no período correspondente aos meses de verão (dezembro, janeiro e fevereiro) e início do outono (março), não foi possível analisar as brânquias dos lagostins pela dificuldade de amostragem de animais nesse período.

Análises Bioquímicas

Glicogênio foi extraído dos tecidos segundo o método descrito por Van Handel (1965), sendo os níveis de glicogênio das brânquias determinados como equivalentes de glicose após hidrólise ácida (HCl) e neutralização com carbonato de sódio (Na₂CO₃), segundo o método de Geary et al. (1980). A glicose foi quantificada pelo método da glicose oxidase com uso do kit da Bioclin (glicose GOD-CLIN). Os resultados foram expressos em mmol/g de tecido.

Lipídios totais foram extraídos do homogeneizado de tecido com um Omni Mixer Homogenizer em uma solução de clorofórmio-metanol 2:1 (v/v), de acordo com Folch et al. (1957). Os lipídios totais neste homogeneizado foram determinados pelo método da sulfofosfovanilina (Meyer & Walter 1980). Este método consiste na oxidação dos lipídios celulares em fragmentos após digestão química com ácido sulfúrico. Após a adição da solução de vanilina e ácido fosfórico, um complexo vermelho é formado o qual é mensurado no espectrofotômetro (530 nm). Os resultados foram expressos como mg/g de tecido.

Proteínas foram quantificadas segundo método descrito por Lowry et al. (1951) com a albumina bovina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) como padrão, sendo os resultados expressos em mg/ml de homogeneizado.

Análise Estatística

Todos os parâmetros metabólicos foram homogêneos (Teste de Levene) e tiveram distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov). Nos resultados obtidos, foram

aplicados os testes de análise de variância de uma via, seguido do teste de comparação de Bonferroni, para diferenças entre as estações do ano no mesmo tecido e sexo. Para a comparação das curvas obtidas ao longo do ano, de machos e fêmeas e brânquias anteriores e brânquias posteriores, foi utilizada análise de variância de duas vias. Foi adotado o nível de significância de 5% e as análises estatísticas foram realizadas com o programa *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS-11.5) for Windows*.

RESULTADOS

Glicogênio

Os níveis de glicogênio nas brânquias anteriores dos machos de *P. varicosus* foram menores na primavera ($0,45 \pm 0,11$ mmol/g), aumentando gradativamente até alcançar valores máximos no inverno (2,89 vezes maior) ($p < 0,05$) (Fig. 1A). Já nas brânquias posteriores, não se observa uma diferença significativa nos níveis desse polissacarídeo durante o período de estudo, apesar de uma tendência de aumento gradativo entre o período da primavera até o inverno. Quando foram comparados os níveis deste polissacarídeo nas brânquias anteriores e posteriores de machos, verificou-se que ocorreu diferença significativa entre as curvas ($p < 0,05$) obtidas durante o

período de estudo.

Tanto as brânquias anteriores quanto as posteriores de fêmeas não apresentaram uma diferença significativa nos níveis de glicogênio durante o ano, mesmo quando comparadas entre si (Fig. 1B). Ao serem comparados os níveis de glicogênio entre os sexos, tanto as brânquias anteriores como as posteriores apresentaram um comportamento diferencial ao longo do ano.

Proteínas

Os níveis de proteínas nas brânquias anteriores e posteriores de machos de *P. varicosus* foram altos na primavera ($18,50 \pm 2,57$ mg/ml; $23,41 \pm 2,25$ mg/ml), diminuindo 2,77 e 1,69 vezes, respectivamente, no outono voltando a aumentar nos meses de inverno (3,79 e 1,92 vezes maior que no outono) (Fig. 2A).

Quando foram comparados os níveis de proteínas nas brânquias anteriores e posteriores dos machos, verificou-se que ocorreu diferença significativa entre ambas ($p < 0,05$).

Nas fêmeas, tanto nas brânquias anteriores quanto nas posteriores, os níveis de proteínas foram altos na primavera ($14,81 \pm 1,29$ mg/ml; $17,01 \pm 1,97$ mg/ml), diminuindo (3,44 e 5,89 mg/ml) no outono, elevando-se no inverno (Fig. 2B). Verificaram-se também diferenças significativas entre as brânquias anteriores e brânquias posteriores ($p < 0,05$), quanto as suas respostas ao longo do ano.

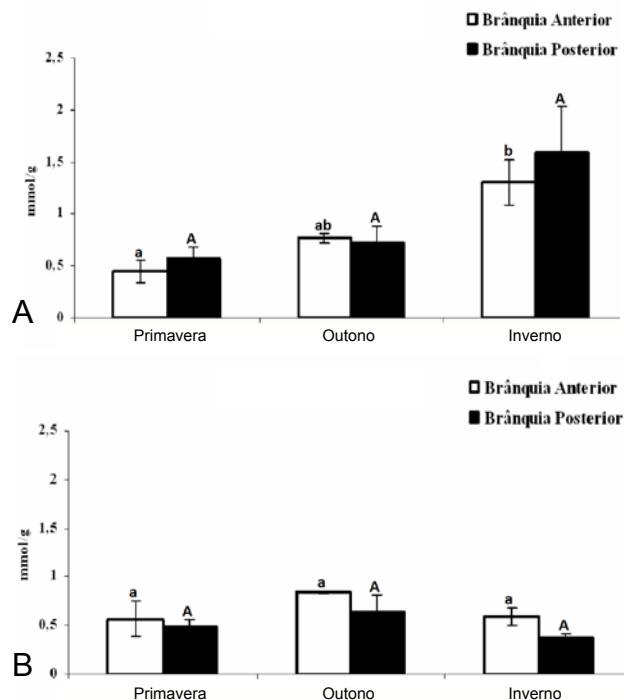


Figura 1. Níveis de glicogênio nas brânquias anteriores de machos (A) e de fêmeas (B) de *Parastacus varicosus* durante as estações do ano. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão. Letras diferentes são significativamente diferentes. * representa comportamento ao longo do ano diferente entre machos e fêmeas. # representa comportamento ao longo do ano diferente entre brânquias anteriores e brânquias posteriores.

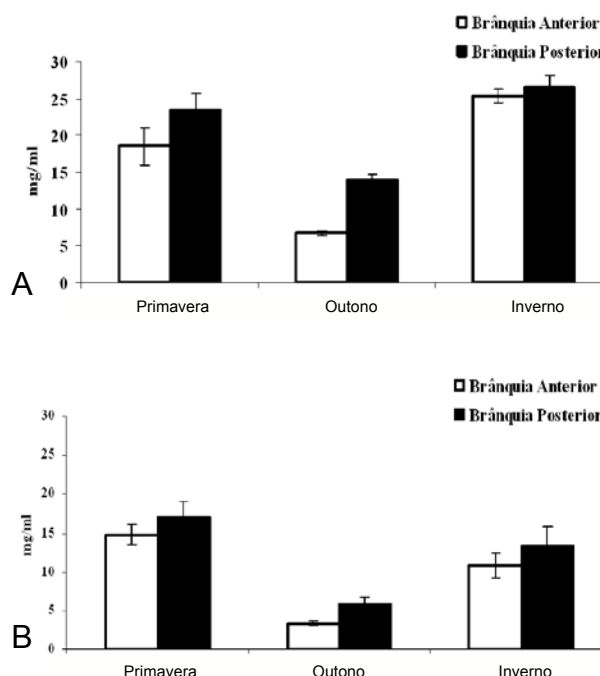


Figura 2. Níveis de proteínas nas brânquias anteriores de machos (A) e de fêmeas (B) de *Parastacus varicosus* durante as estações do ano. As barras representam as médias $\pm$ erro padrão. Letras diferentes são significativamente diferentes. * representa comportamento ao longo do ano diferente entre machos e fêmeas. # representa comportamento ao longo do ano diferente entre brânquias anteriores e brânquias posteriores.

Tabela 1. Fatores ambientais sobre o local de amostragem dos animais. Letras diferentes representam diferença significativa.

Parâmetros	Inverno	Primavera	Verão	Outono
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	5.9 ± 0.5 ^a	6.0 ± 0.5 ^a	4.3 ± 2.0 ^a	6.2 ± 2.7 ^a
pH	7.0 ± 0.2 ^a	6.8 ± 0.06 ^a	6.3 ± 0.1 ^a	6.6 ± 0.08 ^a
Temperatura da Água (°C)	17.0 ± 1.2 ^b	22.0 ± 1.7 ^b	30.0 ± 2.1 ^a	19.0 ± 4.4 ^b

Ao serem comparadas as brânquias anteriores de machos e de fêmeas, observou-se que estas apresentaram um comportamento diferencial ao longo do ano; padrão distinto também foi encontrado para as brânquias posteriores.

Lipídios Totais

Nas brânquias anteriores e posteriores dos machos de *P. varicosus* os níveis de lipídios totais foram mínimos na primavera ($0,40 \pm 0,07$ mg/g; $0,23 \pm 0,04$ mg/g), aumentaram ($4,47$ e $1,55$ mg/g) no outono, diminuindo novamente no inverno ($0,56$ e $0,50$ vezes)(Fig. 3A). Quando foram comparados os níveis deste metabólito nas brânquias anteriores e posteriores dos machos, verificou-se que ocorreu diferença significativa ($p < 0,05$).

Nas brânquias anteriores e posteriores das fêmeas de *P. varicosus*, os níveis de lipídios totais foram baixos na primavera ($0,41 \pm 0,12$ mg/g; $0,32 \pm 0,04$ mg/g, respectivamente), aumentaram 9,31 vezes no outono e, no inverno, diminuíram 2,42 vezes (Fig. 3B). Já as brânquias posteriores, aumentaram gradativamente seus níveis até

atingirem valores máximos no inverno (5,52 vezes). Quando foram comparados os níveis deste metabólito nas brânquias anteriores e posteriores das fêmeas, verificou-se que ocorreu diferença significativa ($p < 0,05$).

Quando comparamos as brânquias anteriores de machos e fêmeas, observou-se que o tecido branquial apresentou um comportamento diferente ao longo do ano; padrão semelhante foi constatado para as brânquias posteriores.

Fatores abióticos

Não foram observadas variações sazonais nos níveis de pH, visto que este permaneceu em torno de $6,30 \pm 0,09$ e $7,03 \pm 0,18$, ao longo do ano. Já a temperatura da água foi mais elevada no verão ($30,0 \pm 2,00^\circ\text{C}$) e mais baixa no inverno ($17,25 \pm 1,24^\circ\text{C}$). O conteúdo de oxigênio dissolvido permaneceu em torno de 6 mg/L, ao longo de todo o ano, exceto por uma diminuição nos meses de verão ($4,3$ mg/L)(Tab. 1).

DISCUSSÃO

Analisando as variações na composição bioquímica das brânquias anteriores e posteriores de *P. varicosus*, em ambos os sexos, foi observada uma variação entre as estações, como já observado em outros tecidos dessa mesma espécie (Silva-Castiglioni *et al.* 2007), como também no lagostim *P. brasiliensis* (Dutra *et al.* 2008). O armazenamento e a degradação dos metabólitos em cada estação diferem tanto entre os sexos quanto à localização das brânquias, se anterior ou posterior, como foi observado nessa pesquisa para os níveis de glicogênio, lipídios totais e proteínas. Tais diferenças podem ocorrer por influência de fatores ambientais (temperatura da água, oxigênio dissolvido, precipitação, tipo e abundância de alimento), ou pela soma destes fatores.

Os resultados mostram, de forma geral, que os machos estocam, tanto nas brânquias anteriores quanto nas posteriores, glicogênio e proteínas nos meses de inverno, utilizando de forma intensa estes metabólitos na primavera e no outono, respectivamente. Já os lipídios totais são estocados nos meses de outono, sendo utilizados de forma intensa no inverno. Na comparação das brânquias anteriores com as posteriores, observa-se uma maior intensidade nas respostas tanto de estocagem quanto de mobilização de todos os metabólitos estudados em machos, nas brânquias anteriores.

Estas respostas podem, também, estar relacionadas a comportamentos agonistas dos machos como também ao aumento da atividade de exploração do meio ambiente, principalmente em busca de alimento e de parceiras reprodutivas visto que Silva-Castiglioni *et al.* (2007)

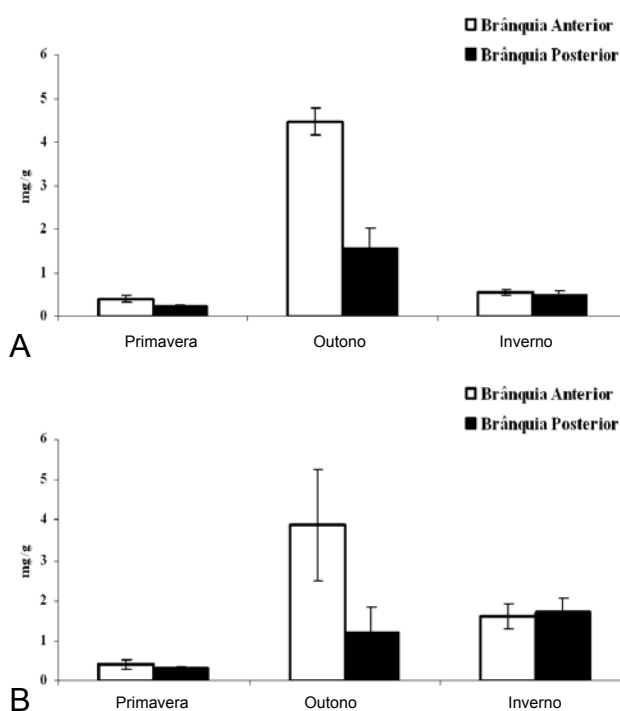


Figura 3. Níveis de lipídios totais nas brânquias anteriores de machos (A) e de fêmeas (B) de *Parastacus varicosus* durante as estações do ano. As barras representam as médias ± erro padrão. Letras diferentes são significativamente diferentes. * representa comportamento ao longo do ano diferente entre machos e fêmeas. # representa comportamento ao longo do ano diferente entre brânquias anteriores e brânquias posteriores.

caracterizaram os meses de primavera e verão como o período reprodutivo desta espécie. Tais comportamentos levariam a um maior consumo de oxigênio para uma maior produção de ATP, levando a uma maior demanda energética das brânquias anteriores, o que levaria a uma intensa mobilização do glicogênio na primavera e possivelmente das proteínas e do glicogênio no verão. Cabe salientar que para outros crustáceos, principalmente em animais estuarinos, as brânquias anteriores são tecidos mais especializados nas trocas respiratórias (Mantel & Farmer 1983, Kucharski & Da Silva 1991). Contudo, para crustáceos límnicos, nenhum estudo foi realizado. Díaz-Muñoz *et al.* (1985) mostraram que no córtex cerebral de ratos durante períodos de atividade motora e alimentar a atividade enzimática da glutatona diminui aumentando a lipoperoxidação. No estudo de Fanjul-Moles *et al.* (2003) com o lagostim *Procambarus clarkii* Girard, 1852, apesar da lipoperoxidação no hepatopâncreas não ter sido determinada, verifica-se um aumento do ritmo respiratório, demonstrando que produz um aumento da demanda metabólica no período noturno ou de atividade desta espécie. Tal fato coincide com o aumento dos níveis de glutatona oxidada e a ativação de outras enzimas antioxidantes.

A dificuldade de amostragem de *P. varicosus* nos meses do verão (dezembro a fevereiro) pode ter sido influenciada pela baixa precipitação onde a média histórica da precipitação esperada para esse período, para a região de estudo, seria de 99,63 mm. Entretanto, a média nesse trimestre foi de apenas 25,83 mm (EMBRAPA 2005). Segundo Silva-Castiglioni *et al.* (2007), com déficit na precipitação, os lagostins aprofundam suas tocas na procura de água, uma vez que foi observada uma diminuição nos níveis de água nos locais de amostragem, o que pode levar a um aumento na reclusão dos animais em suas tocas para evitar o estresse por dissecação e também, uma alteração de seu padrão alimentar, podendo ocorrer períodos de jejum, no verão e no outono, tornando difícil a coleta dos animais.

As respostas encontradas mostram que no outono o principal metabólito utilizado como fonte de energia são as proteínas. A intensa diminuição das proteínas totais verificadas em ambos os sexos, tanto nas brânquias anteriores quanto nas posteriores, nos meses de outono podem ser consequência deste período de jejum. Nesta estação (outono), as reservas de glicogênio nos machos e de lipídios totais em ambos os sexos começam ou são restabelecidas. As proteínas podem estar sendo quebradas em aminoácidos, os quais são transferidos para a síntese de ATP e outra parte para a síntese de glicogênio no tecido branquial. In *C. granulata* Dana, 1851, a capacidade gliconeogênica e a atividade da PEPCK foram previamente demonstradas no hepatopâncreas, nas brânquias posteriores e anteriores e no músculo (Oliveira & Da Silva 1997, Vinagre & Da Silva 2002, Oliveira *et al.* 2004).

Na segunda metade do outono até a metade do inverno, registraram-se as maiores precipitações pluviométricas e as temperaturas mais baixas, assim como uma facilidade

de coleta dos animais, o que permite supor que os lagostins aumentem a atividade de exploração do ambiente na busca possivelmente de alimento para repor as reservas energéticas, principalmente de glicogênio e de proteínas e sustentar os eventos reprodutivos verificados nos meses de primavera e verão.

Fica claro que as brânquias de *P. varicosus* atuam de maneira diferente quanto a sua posição (anterior e posterior), principalmente em relação à intensidade de estocagem e mobilização dos substratos estudados. Torna-se necessários o desenvolvimento de estudos que permitam explicar quais fatores estão influenciando este comportamento (ambientais/comportamentais) e, ainda, se as brânquias disponibilizam suas reservas energéticas para outros tecidos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pelo suporte financeiro e concessão de uma bolsa de Iniciação Científica para a presente pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA AO & BUCKUP L. 1997. Aspectos anatômicos e funcionais do aparelho reprodutor de *Parastacus brasiliensis* (von Martens) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 14 (2): 497-509.
- ALMEIDA AO & BUCKUP L. 1999. Caracteres sexuais primários e secundários do lagostim *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea, Parastacidae). *Nauplius*, 7: 113-126.
- ALMEIDA AO & BUCKUP L. 2000. Occurrence of protandric hermaphroditism in a population of the neotropical freshwater crayfish *Parastacus brasiliensis* (Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology*, 20(2): 224-230.
- BUCKUP L. & ROSSI A. 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 40(4): 663-681.
- BUCKUP L. 1999. Família Parastacidae. In: Ludwig Buckup e Georgina Bond-Buckup (organizadores). *Os Crustáceos do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, Ed. UFRGS, p.319-327.
- COPELAND DE & FITZJARRELL AT. 1968. The salt absorbing cells in the gills of the blue crab (*Callinectes sapidus* rathbun) with notes on modified mitochondria. *Cell and Tissue Research*, 92(1): 1-22.
- DÍAZ-MUÑOZ M, HERNÁNDEZ-MUÑOZ R, SUÁREZ J & CHAGOYA-DE-SÁNCHEZ V. 1985. Day-night cycle of lipid peroxidation in rat cerebral cortex and their relationship to the glutathione cycle and superoxide dismutase activity. *Neuroscience*, 16: 859-863.
- DUTRA BK, ZANK C, SILVA KM, CONTER MR & OLIVEIRA GT. 2008. Seasonal Variations in the Intermediate Metabolism of the Crayfish *Parastacus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) in the Natural Environment and Experimental Culture. *Iheringia*, 98 (3): 355- 361.
- EMBRAPA. 2005. Sistema de Monitoramento Agrometeorológico. Disponível em: <www.agritempo.com.br>. Acessado durante todo o desenvolvimento do trabalho.
- FANJUL-MOLES ML, DURÁN-LIZARRAGA ME, GONSEBATT ME & PRIETO-SAGREDO J. 2003. The effect of photoperiod and light irradiance on the antioxidant circadian system of two species of crayfish from different latitudes: *Procambarus clarkii* and *P. digueti*. *Photochemical and Photobiology*, 77: 210-218.
- FOLCH J, LEES M & SLOANE-STANLEY GH. 1957. A simple method

- for isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal Biological Chemistry*, 26: 497-509.
- FONTOURA NF & BUCKUP L. 1989a. O crescimento de *Parastacus brasiliensis* (Von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 49: 897-909.
- FONTOURA NF & BUCKUP L. 1989b. Dinâmica populacional e reprodução em *Parastacus brasiliensis* (Von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 49: 911-921.
- FRIES BG. 1980. Observações sobre o lagostim de água doce *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) em condições de cultivo experimental em laboratório (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 44: 409-416.
- GEARY N, LANGHANS W & SCHARRER E. 1981. Metabolic concomitants of glucagon-induced suppression of feeding in the rat. *American Journal of Physiology*, 241: R330-R335.
- GILLES R & PÉQUEUX A. 1985 Osmoregulatory processes in mollusks and crustacean from media with fluctuating salinity regime. *Biological Physiology Animal*, 6:1-36.
- KUCHARSKI LCR & DA SILVA RSM. 1991. Effect of diet composition on the carbohydrate and lipid metabolism in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). *Comparative Biochemistry and Physiology A – Integrative and Molecular Physiology*, 99: 215-218.
- LOWRY OH, ROSENBOUGH NJ & RANDAL RG. 1951. Protein measurements with the folin phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry*, 183: 265-275.
- MANTEL LH & FARMER LL. 1983. Osmotic and ionic regulation. *The Biology of Crustacea*, 5: 53-161.
- MEYER E & WALTER A. 1980. Methods for the estimation of protein, lipid, carbohydrate and chitin levels in fresh water invertebrates. *Archives of Hydrobiology*, 113: 161-177.
- OLIVEIRA GT & DA SILVA RSM. 1997. Glyconeogeneses in hepatopancreas from *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. *Comparative Biochemistry and Physiology A – Integrative and Molecular Physiology*, 118: 1429-1435.
- OLIVEIRA GT, EICHLER P, ROSSI ICC & DA SILVA RSM. 2004. Hepatopancreas gluconeogenesis during anoxia and post-anoxia recovery in *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. *The Journal Experimental Zoology*, 301A: 240-248.
- SILVA-CASTIGLIONI D, DUTRA BK, OLIVEIRA GT & BOND-BUCKUP G. 2007. Seasonal variations of the intermediate metabolism of *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) *Comparative Biochemistry and Physiology A – Integrative and Molecular Physiology*, 148: 204-213.
- TOWLE DW & KAYS WT. 1986. Basolateral localization of Na⁺+K⁺-ATPase in gill epithelium of two osmoregulating crabs, *Callinectes sapidus* and *Carcinus maenas*. *The Journal of Experimental Zoology*, 239(3): 311-318.
- VAN HANDEL E. 1965. Estimation of glycogen in small amount soft tissue. *Analytical Biochemistry*, 11: 256-265.
- VINAGRE AS & DA SILVA RSM. 2002. Effects of fasting and refeeding on metabolic processes in crabs *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). *Canadian Journal of Zoology*, 80: 1413-1421.
- WELCOMME L & DEVOS P. 1988. Cytochrome c oxidase and Na⁺-K⁺ ATPase activities in the anterior and posterior gills of the shore crab *Carcinus maenas* L. after adaptation to various salinities. *Comparative Biochemistry and Physiology B – Biochemistry and Molecular Biology*, 89(2): 339-341.