**ESTUDO DO METABOLISMO OXIDATIVO DE
HOMOGENADOS DE HEPATOPÂNCREAS DE UCIDES
CORDATUS (L., 1763), CRUSTACEA – BRACHYURA,
DA BAÍA DE PARANAGUÁ, PARANÁ.**

**STUDY OF OXYGEN CONSUMPTION BY
HEPATOPANCREAS HOMOGENATES OF UCIDES
CORDATUS (L., 1763), CRUSTACEA – BRACHYURA,
FROM PARANAGUÁ BAY, PARANÁ.**

CARLOS ESTEVAM NOLF DAMIANI *

RECEBIDO EM 11/07/83

APROVADO EM 25/07/83

INTRODUÇÃO

O caranguejo *Ucides cordatus* (L., 1763) pertence à família Gecarcinidae RATHBUN (26), sendo a única espécie encontrada nos manguezais do litoral paranaense LOYOLA, SILVA & TAKAI (16). Segundo COSTA (12), é também a única espécie do gênero *Ucides* encontrada no Brasil. Trata-se de espécie de alta distribuição latitudinal tendo sido registrada a ocorrência nas Índias Ocidentais (Cuba, Jamaica, Porto Rico, São Tomás), na Costa Atlântica da América do Sul desde o Panamá até o Sudeste do Brasil RATHBUN (26), HOLTHUIS (14), ocorrendo também, segundo MANNING & PROVENZANO (18), na Flórida. Atualmente, CASTRO (9), CHANCE & HOBBS (10) e NAKAMURA (12) escreveram sobre aspectos morfológicos desta espécie, e as publicações de OLIVEIRA (24), HOLTHUIS (14), CHACE & HOBBS (10) e COSTA (12) analisam suas condições ecológicas. JAKOBI & ALVES DE SOUZA (15), em estudo que visou chamar a atenção para a importância sócio-econômica de desenvolvimento da pesca e do melhor aproveitamento de pescado na alimentação humana em nosso estado, determinaram as variações de salinidade e de temperatura do meio em que esta espécie é encontrada.

Há trabalhos EDWARDS & IRVING (13), AYERS (2) correlacionando o consumo de oxigênio com o teor de oxigênio do habitat do caran-

* Professor Assistente do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Paraná.

queijo de areia *Emerita talpoida* Say, e analisando as variações de consumo de oxigênio de várias espécies de caranguejos estuarinos, na dependência de maior ou menor proximidade da terra; e considerando ainda as adaptações anatômicas e fisiológicas necessárias para permitir a sobrevivência em ambiente seco e com menor teor de oxigênio.

Entretanto, os levantamentos bibliográficos efetuados não mostram a mesma preocupação com a pesquisa da fisiologia da espécie mencionada, principalmente no que diz respeito ao estudo do metabolismo oxidativo de *U. cordatus*.

MUNRO FOX (20) determinou o consumo do oxigênio de numerosos invertebrados marinhos, e procurou estabelecer uma correlação entre a quantidade de oxigênio consumida e a temperatura ambiente, bem como com a atividade motora, as variações de movimentos respiratórios e a frequência cardíaca de animais habitantes de diferentes latitudes. BELDING *et alii* (7), estudando o metabolismo de tecidos de invertebrados marinhos, analisaram a atividade respiratória do hepatopâncreas do caranguejo *Pugettia producta* Randall. WEYMOUTH *et alii* (32) estudaram, com o método de Wincler, a respiração de *Pugettia producta*, não encontrando diferenças no consumo de oxigênio entre os sexos. Comparando o consumo de oxigênio total e o consumo de oxigênio pelo hepatopâncreas, verificaram que o hepatopâncreas consome seis vezes mais oxigênio que o animal inteiro. Por outro lado, o consumo de oxigênio do hepatopâncreas equivale, em ratos, ao dos tecidos menos ativos metabolicamente, tais como a pele e o esqueleto.

SCHEER *et alii* (29), estudando os processos oxidativos em crustáceos, observaram que o consumo endógeno de oxigênio é elevado. Observaram ainda que os intermediários do metabolismo de aminoácidos e carboidratos não estimulavam o consumo de oxigênio, tendo alguns ação inibidora. Por outro lado, dentre os inibidores do metabolismo oxidativo dos carboidratos, somente o iodoacetato tem alguma ação.

Em trabalhos anteriores, SCHEER & SCHEER (28) observaram que a glicose não era utilizada no metabolismo oxidativo da lagosta, e concluíram que os mecanismos oxidativos destes crustáceos eram sensivelmente diferentes dos encontrados em vertebrados.

BALL & MEYERHOF, em trabalho citado por SCHEER *et alii* (29). Observaram que o músculo cardíaco da lagosta americana contém desidrogenase succínica, mas não encontraram esta enzima no músculo esquelético. Entretanto, SCHEER *et alii* (29) não conseguiram evidenciar a participação da desidrogenase succínica nos processos oxidativos de músculos de crustáceos ou hepatopâncreas. Outra verificação dos mesmos autores diz respeito à influência do sexo e das fases do ciclo de muda sobre o metabolismo de crustáceos. Esta observação contraria o estabelecido anteriormente por SCHEER & SCHEER (28), que haviam concluído, por análise da variância, que as diferenças devidas a sexo e remoção do pedúnculo ocular não eram significativas. Os mesmos autores admitem, ainda, que a glicose não é usada no metabolismo oxidativo da lagosta, e que sua importância no metabolismo deste como de outros crustáceos corresponderia à forma-

ção de quitina no exoesqueleto. O produto de secreção do pedúnculo participaria na regulação deste processo, através de um hormônio regulador dos níveis circulantes de glicose, que inibe a transformação da glicose em quitina; portanto, tende a manter elevada a taxa glicêmica.

SCHEER (27), analisando o controle hormonal do metabolismo de crustáceos decápodos, observa que há variações durante o ciclo de muda e, como característica diferencial importante, a glicose é precursora da quitina e não substrato para o metabolismo oxidativo ou para a glicólise; além disso, o glicogênio ou funciona como precursor direto da quitina, ou como forma de armazenamento de glicose. A conversão da glicose em quitina é controlada por um fator endócrino do pedúnculo ocular que também funciona como inibidor da muda e regulador dos níveis circulantes de substâncias redutoras, particularmente da glicose.

BEECHY (5), trabalhando com homogenizados de hepatopâncreas do caranguejo *Carcinus maenas*, fez a separação de pigmentos respiratórios verificando que estes pigmentos eram iguais aos encontrados na cadeia respiratória de mamíferos. Baseados nesta verificação experimental, o autor lança a hipótese de que os pigmentos apresentariam o mesmo grau de especificidade da cadeia respiratória de mamíferos, mas não há evidências que permitam esta conclusão. Comparando estes resultados com outros da literatura referentes a outros crustáceos, cujos pigmentos respiratórios são semelhantes, o autor adverte para as dificuldades de generalização das conclusões para todos os crustáceos.

Ainda BEECHY (6), trabalhando com homogenizados de *Carcinus maenas*, sugere, a partir dos resultados encontrados, que a cadeia respiratória fosforilativa ocorra nas partículas subcelulares isoladas. O material testado foi capaz de oxidar succinato, fumarato e alfa-oxoglutarato, sem produção de trifosfato de adenosina, sendo este mecanismo de fosforilação desacoplado pelo dinitrofenol.

BAXTER & BEECHY (4), usando partículas respiratórias de *Carcinus maenas*, enfatizam a semelhança desse material com as mitocôndrias de coração e fígado de mamíferos.

OBUCHOWICZ (22-23) encontrou, em mitocôndrias de hepatopâncreas, do caranguejo de rio *Astacus leptodactylus* Eschz, desidrogenase succínica, oxidase succínica, citocromo c oxidase e citocromo c redutases.

CHAPEAU (11), em 1932, havia analisado detalhadamente o metabolismo celular de alguns invertebrados marinhos e, mais particularmente, o de ostras. O autor observa que a intensidade respiratória, de células de invertebrados independe do meio, ao contrário do que acontece com células de vertebrados. No caso particular do metabolismo de ostras, o autor conclui que a intensidade respiratória não se modifica pelo acréscimo de substratos como aminoácidos, alguns açúcares e ácido láctico; da mesma forma, os glicídeos não afetam a intensidade das fermentações lácticas destes tecidos. Como explicação, propõe o autor que tal comportamento pode ser devido ao acúmulo de abundante material de reserva, mantendo as enzimas celulares constantemente saturadas de moléculas alimentares. Corroborando esta hipótese, lembra o autor que os tecidos de mexilhão constituem uma

fonte quase industrial de glicogênio.

WOLVEKAMP & WATERMAN (33), usando os conhecimentos relacionados com a respiração de crustáceos, admitiram a hipótese de que a glicose, e ciclo de ácidos tricarboxílicos e o sistema de transporte de elétrons sejam, em crustáceos, como está comprovado em vertebrados, insetos e muitos microorganismos, a via metabólica de maior importância. Como, entretanto, não dispunham de dados experimentais capazes de verificar esta hipótese, sua assertiva se situa no terreno da suposição. Outro aspecto assinalado é a diferença da atividade metabólica quando se comparam vários tecidos de um mesmo indivíduo.

VONK (31), analisando os dados relacionados com a digestão de crustáceos, assinala, como verificação importante, o fato de que a etapa final do metabolismo anaeróbico em músculos de crustáceos é a formação de ácido láctico, indicando semelhança com a utilização anaeróbica de glicogênio muscular em vertebrados superiores. Também observa que, no músculo de crustáceos, há formação de fosfato de arginina, e não de fosfato de creatina como acontece em vertebrados superiores. As etapas intermediária do metabolismo não estavam, até a época, relacionadas. Por outro lado, não relata dados que comprovem, de modo preciso, a ocorrência ou ausência do ciclo dos ácidos tricarboxílicos, embora vários autores citados por VONK (31) tenham encontrado, em crustáceos, a desidrogenase succínica. Outra observação importante é a de que o metabolismo intermediário de crustáceos está baseado na utilização, principalmente, de glicogênio e ácidos graxos.

Estas observações discordam dos dados relatados por SCHEER *et alii* (29), que admitem serem as proteínas mais importantes como fontes energéticas no metabolismo de crustáceos do que os carboidratos e gorduras. Além disso, SCHEER *et alii* (29) apontam o malato como inibidor do consumo de oxigênio e não conseguiram evidenciar a participação da desidrogenase succínica nos processos oxidativos de músculo e hepatopâncreas de crustáceos.

Na bibliografia nacional, o que existe no assunto em pauta é um trabalho de MENDES (19), que estuda, profundamente, o metabolismo e o equipamento enzimático do músculo longitudinal de *Holothuria grisea* Selenka 1867. Embora seja espécie bastante distante do material que empregamos, a adição de glicose aos frascos de respirometria não estimulou o consumo de oxigênio; o material não apresentou atividade indicadora da presença de desidrogenase succínica, havendo, entretanto, alguma atividade da desidrogenase málica.

AMORIM (1), utilizando metodologia idêntica à empregada para o estudo do consumo de oxigênio por homogenados de hepatopâncreas, analisou a atividade respiratória de homogenados de brânquias de *U. cordatus*, tendo verificado que este material tem boa capacidade de consumo de oxigênio.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a medida da atividade respiratória de homogenados de hepatopâncreas de *U. cordatus*, os caranguejos eram coletados no estuário do rio Itiberê, na baía de Paranaguá (Paranaguá-Paraná), em manhãs de domingos, sendo imediatamente transferidos para caixas em que eram transportados para Curitiba. A Figura 1 indica a situação geográfica da baía, estando assinalado o local em que foram feitas as coletas. A Figura 2 reproduz o animal utilizado em todas as experiências.

No mesmo local em que se fazia a coleta dos caranguejos, recolhiam-se 20 litros de água e um balde de areia, que eram usados, posteriormente, para manutenção dos animais no laboratório. Os animais eram imediatamente transportados para Curitiba. Chegados ao laboratório, os animais eram mantidos em cubas de plástico medindo 0,57m x 0,24m x 0,16m. Em cada cuba se colocava uma camada de areia e água colhida no estuário, em quantidade suficiente para chegar até a metade do corpo dos animais, sendo a água completada diariamente para a manutenção deste nível. Os animais eram conservados nestas cubas durante um período máximo de 6 dias, sem receber alimentação, e à temperatura ambiente do laboratório.

Para cada experiência eram utilizados quatro animais. Estes eram apanhados arbitrariamente nas caixas, isto é, não se fazia seleção nem de tamanho nem de sexo. Removiam-se suas pinças e em seguida as suas patas. Com uma tesoura retirava-se a carapaça, expondo-se o hepatopâncreas. Com o auxílio de uma pinça, o hepatopâncreas era transferido para uma cuba de porcelana, sendo lavado 3 a 4 vezes com Ringer-fosfato preparado no laboratório. Os hepatopâncreas assim obtidos eram triturados manualmente em um gral, sendo adicionado um volume de Ringer-fosfato equivalente a 20ml. Este homogenado era filtrado em gaze. Todas estas operações eram realizadas em banho de gelo e aerado (com bomba de aeração do tipo usado comumente para aquários) durante 15 minutos.

O Ringer-fosfato usado foi o recomendado por BARRON *et alii* (3), sendo a seguinte sua composição:

NaCl	0,15M		876 ml
KCl	0,154M		26 ml
CaCl ₂	0,11M		10 ml
MgSO ₄	0,154M		5 ml

Para cada 80ml de Ringer-fosfato, acrescentavam-se, no momento de usar, 20ml de tampão fosfato pH 7,4, preparados pela mistura de 16ml, de Na₂HPO₄ e de KH₂PO₄ 0,1M.

O consumo de oxigênio pelos homogenados foi determinado com a técnica convencional de Warburg. A temperatura usada foi de 28 graus centígrados, com 100 agitações por minuto. O sistema usado era de 2,5ml de homogenado mais 0,2ml de substrato (= 20μM) ou 0,2ml de água destilada e 0,15ml de KOH 15%. Levado ao Warburg, o material era mantido em equilíbrio, com o sistema aberto em agitação durante 10 minutos, sendo a seguir fechada a comunicação manômetro-frasco com o meio ambiente e ligada a

FIG. 1 — Mapa da baía de Paranaguá, PR, indicando o local das coletas. Escala 1:24.995 na lat. 25°31'05". (Baseado no mapa da Ilha do Mel a Paranaguá, elaborado pela Marinha do Brasil, 1975.)

FIG. 2 — Vista dorsal de *Ucides cordatus* (L.), exemplar colhido no estuário do rio Itiberê, na baía de Paranaquá, PR.

agitação; após 10 minutos fazia-se uma leitura de contrôlo, à qual se seguia a mistura dos substratos ao meio e a leitura do tempo zero. A partir deste tempo zero, o material era observado durante 190 minutos, sendo feitas leituras aos 10, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 110, 130, 150, 170 e 190 minutos.

Para cada experiência, fazia-se a determinação do peso seco do material, descontando-se sempre o peso de sais correspondentes ao meio em estudo. A estufa para a secagem do material era mantida à temperatura de 103 graus centígrados.

Os substratos usados foram: sacarose, glicose e, sob a forma de sais sódicos, lactato, alfa-cetogluturato, succinato, citrato, malato, beta-hidroxibutirato e glutamato. Todos os substratos foram testados utilizando-se como meio a solução de Ringer-fosfato. Em cada experiência, faziam-se três frascos para controle do material endógeno e três frascos para o substrato em estudo, sendo feitas três experiências em cada um dos substratos.

Os cálculos de consumo de oxigênio foram feitos sempre em relação a miligramas de peso seco de tecidos existentes no homogenado.

Todo o material foi submetido à análise estatística.

RESULTADOS

Da Tabela I constam as médias referentes ao consumo de oxigênio por miligrama de peso seco de homogenados de hepatopâncreas de *U. cordatus*. Tais médias foram obtidas para o endógeno e para cada um dos substratos em cinco tempos selecionados para a avaliação (30, 60, 110, 150 e 190 minutos), usando-se o Ringer-fosfato como meio.

A Figura 3 corresponde à representação gráfica dos valores médios referentes ao consumo de oxigênio, usando-se Ringer-fosfato como meio.

A Tabela II mostra os dados referentes à interação substratos x meio; a Tabela III apresenta os resultados referentes à interação substratos x tempos; e a Tabela IV se refere à interação meio x tempos.

Com os dados constantes das Tabelas II, III, IV, foi feita a análise da variância segundo o esquema fatorial, e os resultados desta análise constam da Tabela V.

A análise da variância indica haver efeito altamente significativo ($P < 0,01$) para substratos, meio e tempos, e para as interações substratos x meio, e meio x tempos, não havendo significância quando foi analisada a interação substratos x tempos.

As médias de substratos, afetadas de um erro-padrão da média s_x , = 0,040 $\mu\text{O}_2/\text{mg}$ de peso seco, foram as constantes a seguir:

1 — Endógeno	$\bar{x} = 0,649 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
2 — Alfa-cetoglutarato	$\bar{x} = 0,733 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
3 — Beta-hidroxibutirato	$\bar{x} = 0,565 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
4 — Citrato de sódio	$\bar{x} = 0,703 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
5 — Glicose	$\bar{x} = 0,649 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
6 — Glutamato	$\bar{x} = 0,484 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
7 — Lactato	$\bar{x} = 0,658 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
8 — Malato	$\bar{x} = 0,961 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
9 — Sacarose	$\bar{x} = 0,498 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
10 — Succinato	$\bar{x} = 0,783 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$

A D.M.S. Tuckey 5% foi 0,195. O Quadro I corresponde à comparação entre os valores médios de consumo de oxigênio por homogenados de hepatopâncreas para vários substratos.

Analisando os dados constantes do Quadro I, observa-se que só não é significativa a diferença de consumo de oxigênio do malato em relação ao succinato, sendo significativa em relação ao endógeno e aos demais substratos usados. No caso do succinato, houve significância quando o consumo foi comparado ao consumo do oxigênio em presença de beta-hidroxibutirato, de sacarose e de glutamato. O alfa-cetoglutarato apresentou significância quando o consumo de oxigênio foi comparado ao obtido em presença de sacarose e de glutamato. O citrato só apresentou diferença significativa com relação ao consumo em presença de sacarose e de glutamato. Entre os demais substratos, não houve diferença significativa quanto ao consumo de oxigênio.

As médias referentes a $\mu\text{l O}_2$ consumidos/mg de peso seco do endógeno e dos vários substratos, usando Ringer-fosfato como meio, afetadas de um erro-padrão da média $s_{\bar{x}} = 0,058 \mu\text{l O}_2$ consumidos/mg do peso seco, estão na Tabela VI.

A média do meio, levando-se em conta o erro-padrão da média $s_{\bar{x}} = 0,018 \mu\text{l O}_2$ consumidos/mg de peso seco é de $\bar{x} = 0,833 \mu\text{l O}_2$ consumidos/mg de peso seco.

A Figura 4 corresponde à representação gráfica dos valores constantes da Tabela VI, e apresenta, ainda, a comparação entre as médias do meio.

Na Tabela VII, estão as médias dos tempos, para o meio Ringer-fosfato com erro-padrão da média $s_{\bar{x}} = 0,041 \mu\text{l O}_2$ consumidos/mg de peso seco. Estes mesmos valores estão representados na Figura 5.

As médias de tempo, com erro-padrão da média $s_{\bar{x}} = 0,029 \mu\text{l O}_2$ consumidos/mg de peso seco, estão relacionados abaixo:

30'	$\bar{x} = 0,158 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
60'	$\bar{x} = 0,328 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
110'	$\bar{x} = 0,670 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
150'	$\bar{x} = 0,947 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$
190'	$\bar{x} = 1,239 \mu\text{l O}_2/\text{mg}$

TABELA I – Médias de consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.)

SUBSTRATOS	RINGER-FOSFATO				
	30'	60'	110'	150'	190'
Endógeno	0,187	0,407	0,884	1,201	1,460
Alfa-cetoglutarato	0,145	0,427	1,038	1,460	1,793
Beta-hidroxibutirato	0,155	0,354	0,720	1,006	1,286
Citrato	0,211	0,489	1,058	1,386	1,609
Glicose	0,298	0,604	1,084	1,369	1,644
Glutamato	0,113	0,231	0,590	0,925	1,290
Lactato	0,091	0,212	0,547	0,891	1,179
Malato	0,393	0,926	1,558	1,856	2,288
Sacarose	0,119	0,227	0,492	0,783	1,173
Succinato	0,156	0,348	0,750	1,009	1,221

TABELA II – Interação substratos x meio no consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.)

SUBSTRATOS	RINGER-FOSFATO
Endógeno	4,139
Alfa-cetoglutarato	4,863
Beta-hidroxibutirato	3,521
Citrato	4,753
Glicose	4,999
Glutamato	3,149
Lactato	2,920
Malato	7,021
Sacarose	2,794
Succinato	3,484

FIG. 3 — Consumo médio de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucidus cordatus* (L.), usando-se o Ringer-fosfato como meio.

TABELA III — Interação substratos x tempos, no consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.)

SUBSTRATOS	30'	60'	110'	150'	190'
Endógeno	0,302	0,603	1,278	1,857	2,448
Alfa-cetogluturato	0,277	0,657	1,496	2,145	2,755
Beta-hidroxibutirato	0,245	0,516	1,053	2,611	2,226
Citrato	0,360	0,712	1,426	1,997	2,534
Glicose	0,353	0,709	1,336	1,792	2,297
Glutamato	0,199	0,421	0,914	1,378	1,933
Lactato	0,266	0,554	1,294	1,947	2,522
Malato	0,552	1,161	2,064	2,592	3,245
Sacarose	0,214	0,465	0,936	1,387	1,983
Succinato	0,386	0,757	1,613	2,243	2,830

TABELA IV — Interação meio x tempos, no consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.)

TEMPO	RINGER-FOSFATO
30'	1,868
60'	4,225
110'	8,721
150'	11,886
190'	14,943

TABELA V – Análise da variância, no consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.)

Causas de Variação	G.L.	S. Quadrados	Q. Médios	F
Substratos (S)	9	1,786	0,198	11,65**
Meio (M)	1	2,705	2,705	159,12**
Tempos (T)	4	15,599	3,900	229,41**
(TRATAMENTOS)	(14)	(20,090)		
Interação S x M	9	2,566	0,285	16,76**
Interação S x T	36	0,358	0,010	0,59 NS
Interação M x T	4	0,774	0,194	11,41**
Resíduo	36	0,620	0,018	
TOTAL	99	24,408		

** Significativo a 1% ($P < 0,01$)
 NS Não significativo.

C.V. = 0,19,07%

QUADRO I – Comparação entre os valores médios de consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenizados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.).

	Malato	Succinato	Alfa-ceto-glutarato	Citrato	Lactato	Endógeno	Glicose	Beta-hidroxi-butirato	Sacarose	Glutamato
Malato		NS	*	*	*	*	*	*	*	*
Succinato			NS	NS	NS	NS	NS	*	*	*
Alfa-ceto-glutarato				NS	NS	NS	NS	NS	*	*
Citrato					NS	NS	NS	NS	*	*
Lactato						NS	NS	NS	NS	NS
Endógeno							NS	NS	NS	NS
Glicose								NS	NS	NS
Beta-hidroxi-butirato									NS	NS
Sacarose										NS
Glutamato										NS

Menor consumo →

← Maior consumo

* Significativo a 5% ($P < 0,05$).
NS Não significativo.

TABELA VI — Médias de substratos, em presença de Ringer-fosfato, afetadas de um erro-padrão $s_{\bar{x}} = 0,058 \mu l O_2$ consumidos por mg de peso seco.

SUBSTRATO	MÉDIAS
	Ringer-fosfato
Endógeno	0,828
Alfa-cetoglutarato	0,973
Beta-hidroxibutirato	0,704
Citrato	0,951
Glicose	1,000
Glutamato	0,630
Lactato	0,584
Malato	1,404
Sacarose	0,559
Succinato	0,697

D.M.S. Tuckey 5% = 0,166.

TABELA VII — Médias de consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas, em diferentes tempos, usando-se como meio o Ringer-fosfato, considerando-se um erro-padrão da média $s_{\bar{x}} = 0,041 \mu l O_2$ por mg de peso seco.

TEMPOS	MÉDIAS
	Ringer-fosfato
30'	0,187
60'	0,422
110'	0,872
150'	1,189
190'	1,494

D.M.S. Tuckey 5% = 0,118

FIG. 4 — Representação gráfica do consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.), em 190 minutos, usando-se o Ringer-fosfato em presença dos vários substratos e incluindo a média do meio.

FIG. 5 — Consumo médio de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.), considerando-se o erro-padrão da média.

A D.M.S. Tuckey 5% foi de 0,118. No Quadro II estão relacionados os vários tempos, mostrando que foi significativa a diferença de consumo de oxigênio quando variou o tempo.

Finalmente, a média geral de consumo de oxigênio, expresso em $\mu\text{ l O}_2$ consumidos/mg de peso seco, foi de $\bar{x} = 0,668 \pm 0,013$.

DISCUSSÃO

Analisando os resultados obtidos quando se mediu o consumo de oxigênio por homogenizados de hepatopâncreas de *U. cordatus*, o primeiro aspecto que chama a atenção é o baixo consumo de oxigênio, se forem tomados como valores comparativos aos encontrados na maioria dos tecidos de outras espécies. Tal fato já havia sido anteriormente assinalado por BELDING *et alii* (7) e WEYMOUTH *et alii* (32) em estudo sobre a atividade respiratória de hepatopâncreas de *Pugettia producta*.

Outro ponto importante, também já mencionado na literatura por CHAPHEAU (11), é o valor elevado de consumo endógeno de oxigênio, fato confirmado no material ora estudado.

Os homogenizados de hepatopâncreas de *U. cordatus* preparados em Ringer-fosfato apresentavam consumo de oxigênio superior ao endógeno quando usados como substratos o citrato de sódio, a glicose, o alfa-cetoglutarato e o malato. Este material não se mostrou capaz de utilizar, em aerobiose, o glutamato, o beta-hidroxibutirato, o succinato, o lactato e a sacarose. Comparando o consumo de oxigênio dos homogenizados de hepatopâncreas preparados em Ringer-fosfato, verifica-se que a utilização de oxigênio foi melhor para o controle endógeno, e quando os substratos usados foram o alfa-cetoglutarato, o beta-hidroxibutirato, o citrato, o malato, o glutamato, a glicose e a sacarose.

Uma análise dos resultados constantes do Quadro I, em que se estabelece a comparação dos valores obtidos para o consumo médio de oxigênio, mostra que é estatisticamente significativa a diferença de consumo de oxigênio do malato em relação ao endógeno e demais substratos, com exceção do succinato. O consumo de oxigênio em presença de succinato foi significativo quando comparado com o consumo na presença de beta-hidroxibutirato, de sacarose e de glutamato. O alfa-cetoglutarato apresentou consumo de oxigênio significativo em relação ao obtido na presença de sacarose e glutamato; e o citrato revelou-se capaz de estimular o consumo de oxigênio em nível significativo se comparado com a sacarose e o glutamato.

O tempo de incubação, considerados os vários tempos de controle de oxigênio, foi significativo quando se compararam as médias globais de consumo de 190 para 150, 110, 60, e 30 minutos, de 150 em relação a 110, 60 e 30 minutos, e 110 comparado com 60 e 30 minutos, e significativo entre 60 e 30 minutos.

Não é fácil estabelecer uma comparação entre os resultados ora obtidos e os existentes na literatura, devido à diferença entre as técnicas empregadas e as espécies estudadas.

QUADRO II – Comparação entre os valores médios de consumo de oxigênio no metabolismo oxidativo de homogenados de hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (L.).

	190	150	110	60	30	<div>↑ Maior consumo</div>
190		*	*	*	*	
150			*	*	*	
110				*	*	
60					*	
30						
<div>Menor consumo →</div>						

* Significativo a 5% ($P < 0,05$).

WEYMOUTH *et alii* (32), estudando o consumo de oxigênio total e do hepatopâncreas de *Pugettia producta*, verificaram a inexistência de diferenças significativas de consumo entre os sexos e observaram que, embora o hepatopâncreas apresentasse consumo de oxigênio bem maior do que o de extratos totais, os valores correspondiam aos de tecidos pouco ativos em mamíferos. Em *U. cordatus* não houve preocupação, no trabalho atual, em comparar resultados de sexos diferentes e, os valores obtidos para consumo de oxigênio revelaram, como os obtidos em *Pugettia producta*, baixa atividade metabólica se o termo de comparação usado for material de mamíferos.

Comparando-se os valores médios obtidos com homogenados de hepatopâncreas preparadas em Ringer-fosfato com resultados obtidos com o mesmo meio em fatias e em homogenados de miocárdio de ratos, por BRANCO (8), e em fatias de medula e de córtex de rim de suíno, por SILVEIRA (30), evidencia-se a menor capacidade oxidativa dos homogenados de hepatopâncreas de *U. cordatus* em relação a tecido de mamíferos.

SCHEER (27) observou que, em crustáceos decápodos, a glicose funciona como precursora da quitina e não como substrato do metabolismo oxidativo ou para a glicólise; os baixos valores encontrados em *U. cordatus*, quando se comparam resultados da respiração endógena e os obtidos em presença de 20 μ M de glicose, parecem concordar com o relatado por SCHEER (27).

Anteriormente, SCHEER *et alii* (29) já haviam observado, em crustáceos, que o consumo de oxigênio é elevado, e que alguns intermediários do metabolismo de aminoácidos e carboidratos não estimulavam o consumo de oxigênio, tendo alguns ação inibidora. Resultado semelhante foi encontrado em *U. cordatus*, observando que, os homogenados de hepatopâncreas preparados em Ringer-fosfato, tiveram um consumo de oxigênio inferior ao consumo endógeno quando se fez a adição de glutamato, de beta-hidroxibutirato, de succinato, de lactato e de sacarose. Dentro da mesma linha de observação, SCHEER & SCHEER (28) haviam concluído que a lagosta também não utiliza a glicose no metabolismo oxidativo, e sim como precursor de quitina do exoesqueleto.

BEECHEY (5) estudou os pigmentos respiratórios de homogenados de hepatopâncreas de *Carcinus maenas*, e encontrou grande semelhança com os pigmentos existentes na cadeia respiratória de mamíferos, advertindo, entretanto, para as dificuldades de uma generalização das conclusões para todos os crustáceos. Por outro lado, com base em resultados obtidos em partículas respiratórias de *Carcinus maenas*, BAXTER & BEECHEY (4) consideram haver grande semelhança do material estudado com as partículas respiratórias de mitocôndrias do coração e fígado de mamíferos.

Os resultados obtidos em *U. cordatus* poderiam, de certa forma, reforçar a afirmação de BEECHEY (6), em relação ao metabolismo oxidativo, desde que os substratos utilizados por *U. cordatus* são semelhantes aos capazes de estimular o consumo de oxigênio em preparações de mitocôndrias de mamíferos.

Desde 1932, CHAPHEAU (11), estudando o metabolismo oxidativo de ostra e outros invertebrados marinhos, observou que o acréscimo de nu-

merosos substratos não modificava a intensidade de consumo de oxigênio, e admitiu que tal comportamento se deve ao acúmulo de grandes quantidades de material de reserva. Isto explicaria os altos níveis de consumo endógeno de oxigênio obtidos de hepatopâncreas de *U. cordatus*, e a não utilização de numerosos substratos acrescentados ao sistema experimental.

Embora WOLVEKAMP & WATERMAN (33) admitam a ocorrência do ciclo do ácido tricarboxílico e o sistema de transporte de elétrons em crustáceos, semelhante ao de mamíferos, os resultados de *U. cordatus* não parecem concordar com esta assertiva. Convém lembrar de que SCHEER *et alii* (29), discordando das observações de WOLVEKAMP & WATERMAN (33) e das hipóteses de WONK (31), admitiram que as proteínas seriam, em crustáceos, uma fonte energética mais importante que os carboidratos e gorduras.

Entretanto, embora os mesmos autores (29) afirmem ser o malato inibidor de consumo de oxigênio, o malato, desde que os homogenados de hepatopâncreas fossem preparados em Ringer-fosfato se revelou o substrato de maior capacidade de estimular o metabolismo em *U. cordatus*.

Os resultados de Mendes (19), apesar de obtidos em músculo longitudinal de *Holothuria grisea*, assemelha-se aos encontrados em hepatopâncreas de *U. cordatus*, pois não houve consumo de glicose em ambos os casos. O material de Mendes (19) não apresentou atividade indicadora da presença de desidrogenase succínica, enquanto os homogenados de hepatopâncreas de *U. cordatus*, não tenham aumentado o consumo de oxigênio em Ringer-fosfato pela adição de succinato.

Mendes (19) encontram alguma atividade de desidrogenase málica em músculo longitudinal de *Holothuria grisea*, mas em hepatopâncreas, o malato se revelou excelente estimulante do consumo de oxigênio nos homogenados preparados em Ringer-fosfato.

Comparando-se os resultados obtidos com homogenados de hepatopâncreas e os obtidos com homogenados de brânquias (1), observa-se que a capacidade de consumo de oxigênio é maior nas brânquias do que no hepatopâncreas.

A temperatura empregada na avaliação do consumo de oxigênio está dentro da faixa de variações normais de temperatura do habitat natural do caranguejo relacionadas por Jakobi & Alves de Souza (15). A salinidade do meio, entretanto, difere dos valores de salinidade da água em que o animal vive naturalmente, determinados por Jakobi & Alves de Souza (15) e dos encontrados por Loyola e Silva *et alii*. (17).

O que parece mais evidente, na análise global dos resultados encontrados, medindo o consumo de oxigênio por homogenados de hepatopâncreas de *U. cordatus*, é que o comportamento deste material difere bastante do registrado em preparações em tecidos de mamíferos. Embora os dados de microscopia eletrônica indiquem que a estrutura de partículas respiratórias de invertebrados é análoga à de mitocôndria de mamíferos (4) e alguns trabalhos em partículas respiratórias (6) tenham comprovado a síntese de ATP, o acréscimo de alguns substratos vão alterar o consumo endógeno de oxigênio de homogenados de hepatopâncreas de *U. cordatus*. Cabe admitir que,

havendo abundante material de reserva, fato já registrado em outros invertebrados por Chapheau (11), e substrato acrescentado não tem condições de alterar o nível de consumo de oxigênio, o que não significa incapacidade de metabolização deste substrato, mas sim uma saturação dos sistemas enzimáticos com o material de reserva endógena.

CONCLUSÕES

1. Usando-se o Ringer-fosfato como meio para a preparação dos homogenizados de hepatopâncreas de *U. cordatus* (L.), houve consumo de oxigênio superior ao endógeno quando se usaram os substratos citrato, glicose, alfa-cetoglutarato e malato.

2. Comparando-se o consumo de oxigênio dos diversos substratos, e submetidos estes resultados à análise estatística, conclui-se que:

- a) é significativa a diferença de consumo de oxigênio de malato em relação ao endógeno e demais substratos, salvo o succinato;
- b) o consumo de oxigênio, em presença de succinato, foi significativo em relação ao verificado na presença de betahidroxibutirato, de sacarose e de glutamato;
- c) o consumo de oxigênio, em presença de alfa-cetoglutarato, foi significativo quando comparado ao obtido em presença de sacarose e de glutamato;
- d) o consumo de oxigênio, em presença de citrato, foi significativo quando comparado ao consumo obtido pela adição de sacarose e de glutamato.

3. O consumo de oxigênio, usando-se o Ringer-fosfato, foi melhor quando se utilizavam homogenizados de hepatopâncreas, no caso de endógeno, alfa-cetoglutarato, citrato, glicose, glutamato, malato e sacarose.

4. Houve diferença significativa de consumo quando se compararam os vários tempos de incubação.

RESUMO

O estudo do consumo de oxigênio por homogenizados de hepatopâncreas de *U. cordatus* (L.) foi realizado utilizando-se o clássico método de Warburg. Os homogenizados foram preparados usando-se a solução Ringer-fosfato. Os substratos adicionados ao meio foram os sais sódios de alfa-cetoglutarato, beta-hidroxibutirato, citrato, glutamato, lactado, malato e succinato e, também, glicose e sacarose.

Todos os resultados foram analisados estatisticamente.

PALAVRAS CHAVE: *Ulcides cordatus* (L.), hepatopâncreas, metabolismo oxidativo, Crustacea, Brachyura.

SUMARY

A study of oxygen consumption by hepatopancreas homogenates of *U. cordatus* (L.) was carried on using the classical Warburg method. Homogenates were prepared using Ringer-phosphate solution. The substrates added to the media were sodium salts of alfa-ketoglutarate, beta-hydroxybutyrate, citrate, glutamate, lactate, malate and succinate and also, glucose and saccharose.

All the results were statistically analysed.

KEY WORDS: *Ucides cordatus* (L.), hepatopancreas, oxidative metabolism, Crustacea, Brachyura.

RÉSUMÉ

L'utilisation de l'oxygène par les homogénats d'hépatopancreas de *U. cordatus* (L.) a été étudiée avec la méthode classique de Warburg. Les homogénats ont été préparés avec la solution de Ringer-phosphate. Les substrats ajoutés au milieu ont été les sels sodiques de alfa-cetoglutarate, beta-hydroxybutyrate, citrate, glutamate, lactate, malate et succinate, aussi que glucose et saccharose.

Tous les résultats ont été soumis à l'analyse statistique.

MOTS CLÉS: *Ucides cordatus* (L.), hépatopancreas, métabolisme oxydatif, Crustacea, Brachyura.

BIBLIOGRAFIA

1. AMORIM, P. C. S. *Sobre o metabolismo oxidativo de homogenados de brânquias de Ulcides cordatus* (L., 1763). Curitiba, 1980. Tese de mestrado. Departamento de Zoologia. Universidade Federal do Paraná.
2. AYERS, J. C. Relationship of habitat to oxygen consumption by certain estuarine crabs. *Ecology*, San Diego, **19**:523-7, 1938.
3. BARRON, E. S. G.; MEYER, U. & MILLER, Z. B. The metabolism of skin. Effect of vesicant agents. *J. invest. dermatol.*, Baltimore, **11**:97, 1948.
4. BAXTER, M. I. & BEECHY, R. B. The fine structure of respiring particles isolated from the hepatopancreas of the crab *Carcinus maenas*. *Exp. cell res.*, New York, **27**:335-8, 1962.
5. BEECHY, R. B. Some spectrophotometric studies on respiring particle isolated from the hepatopancreas of *Carcinus maenas*. *Comp. biochem. physiol.*, Oxford, **3**:161-74, 1961.
6. —. Respiratory chain phosphorylation in sub-celular particles isolated from the hepatopancreas of *Carcinus maenas*. *Nature*, London,

7. BELDING, H. S. et al. Studies on the metabolism of marine invertebrate tissue. I. Respiration of the midgut gland of the kelp crab (*Pugettia producta*). *Physiol. zool.*, Chicago, **15**:75-87, 1942.
8. BRANCO, C. L. Contribuição ao conhecimento da ação da heparina sobre o coração. Curitiba, 1963. 23 p. Tese de Docência Livre. Curso de Veterinária da Escola de Agronomia e Veterinária da Universidade Federal do Paraná.
9. CASTRO, A. L. Sobre os crustáceos referidos por Marcgrave em sua *Historia Naturalis Brasiliae* (1648). *Arq. Mus. Nac.*, Rio de Janeiro, **52**:37-51, 1962.
10. CHACE Jr., F. A. & HOBBS Jr., H. H. The freshwater and terrestrial decapod crustaceans of the West Indies with special reference to Dominica. *Bull. U. S. Nat. Mus.*, Washington, **292**:219-23, 1969.
11. CHAPHEAU, M. Recherches sur le métabolisme cellulaire de quelques invertébrés marins. *Bull. Station Biol. d'Arcachon*, Bordeaux, **29**:85-152, 1932.
12. COSTA, R. S. *Fisioecologia do caranguejo Uçá, *Ulcides cordatus* (Linnaeus, 1763)*. Crustacea, Decápode do Nordeste brasileiro. São Paulo, 1972. 121 p. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências e Biologia Marinha da USP.
13. EDWARDS, G. A. & IRVING, L. The influence of temperature and season upon the oxygen consumption of the sand crab, *Emerita talpoida* Say. *J. Cell. comp. physiol.*, Philadelphia, **21**:169-82, 1943.
14. HOLTHUIS, L. B. The crustacea of Suriname (Dutch Guiana). *Zool. Verh.*, Leiden, **44**:250-9, 1959.
15. JAKOBI, H. & ALVES DE SOUZA, E. Contribuição ao conhecimento da pesca no Paraná. *B. Univ. Fed. Pr., Zoologia II*, Curitiba, **14**:329-58, 1968.
16. LOYOLA E SILVA, J. & TAKAY, M. E. *Controle do desembarque no litoral paranaense*. Relatório da Base de Operações do Programa de Desenvolvimento Pesqueiro (PDP) em Paranaguá, PR, 1975.
17. LOYOLA E SILVA, J.; NAKAMURA, I. T. & MONTEIRO, C. L. B. *Estudos de Decapoda do estuário do rio Itiberê, PR*, Curitiba, 1980. Trabalho não publicado, comunicação pessoal.
18. MANNING, R. B. & PROVENZANO Jr., A. J. The occurrence of *Ulcides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda) in the United States. *Crustaceana*, Leiden, **2**:158-9, 1961.
19. MENDES, E. G. Sobre o metabolismo e o equipamento enzimático do músculo longitudinal de *Holothuria*. *Cienc. cult.*, São Paulo, **6**:123-93, 1954.
20. MUNRO FOX, H. The activity of poikilothermal animal in different latitudes, 1. *Proc. Zool. Soc.*, London, **106**:954-5, 1936.
21. NAKAMURA, I. T. *Sobre a fenologia de *Ulcides cordatus* (L., 1763)*, Crustacea — Brachyuria, da Bafa de Paranaguá. Curitiba, 1979.

- 71 p. Tese de Mestrado. Departamento de Zoologia. Setor de Ciências Biológicas UFPr.
22. OBUCHOWICZ, L. Respiratory enzymes in the crayfish *Astacus leptodactylus* Eschz. I. The activity of succinic dehydrogenase, succinic oxidase and cytochrome-c oxidase in mitochondria from hepatopancreas. *Bull. Soc. Amis Sci. Lettres*, Poznan, **30**:3-22, 1962.
 23. — . — . II. The activity of DPNH and TPNH cytochrome c reductases and of some copper oxidases in the hepatopancreas. *Bull. Soc. Amis Sci. Lettres*, Poznan, **30**:23-37, 1962.
 24. OLIVEIRA, L. P. Estudos ecológicos dos crustáceos comestíveis Uçá e Guaiamu, *Cardisoma guanhumi* Latreille e *Ulcides cordatus* (L.) Gecarcinidae, Brachyura. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, **44**:295-323, 1946.
 25. PANTIN, C. A. F. *Notes on microscopical technique for zoologists*. London, Cambridge Univ. Press, 1948. 79 p.
 26. RATHBUN, M. J. The grapsoid crabs of America. *Bull. U. S. Nat. Mus.*, Washington, **97**:347-9, 1918.
 27. SCHEER, B. T. The hormonal control of metabolism in decapod crustaceans. In: *Recent Advances in Invertebrate Physiology*. Eugene, University of Oregon, 1957, p. 213-227.
 28. SCHEER, B. T. & SCHEER, M. A. R. Hormonal regulation of metabolism in crustaceans. I. Blood sugar in spiny lobsters. *Physiol. comp. oecol.*, Den Haag, **2**:327-38, 1952.
 29. SCHEER, B. T.; SCHWABE, C. W. & SCHEER, M. A. R. Hormonal regulation of metabolism in crustaceans. III. Tissue oxidations in crustaceans. *Physiol. comp. oecol.*, Den Haag, **2**:327-38, 1952.
 30. SILVEIRA, O. *Aspectos do metabolismo oxidativo em rim de suíno*. Curitiba, 1968. Tese de mestrado. Instituto de Bioquímica UFPr.
 31. VONK, H. J. The physiology of crustacea. In: WATERMAN, T. H. Academic press, New York, v. 1, p. 291-316, 1960.
 32. WEYMOUTH, F. W. et al. Total tissue respiration in relation to body weight. A comparison of the kelp crab with other crustaceans and with mammals. *Physiol. zool.*, Chicago, **17**:50-71, 1944.
 33. WOLVEKAMP, H. P. & WATERMAN, T. H. The physiology of crustacea. Edited by Talbot H. Waterman. Dept. Zool., Yale University. Academic Press, New York, **1**:291-316, 1960.