

METABOLIZAÇÃO «IN VITRO» DA GLICOSE ¹⁴C E LIPÍDEOS TOTAIS DOS TECIDOS DO SIRI AZUL, *CALLINECTES SAPIDUS*, ACLIMADO A DIFERENTES TEMPERATURAS

JOÃO EDMUNDO LUNETTA

Departamento de Fisiologia Geral do Instituto de Biociências e Instituto de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo — Belle W. Baruch Coastal Research Institute, Universidade da Carolina do Sul, Estados Unidos da América do Norte.

RESUMO:

Em animais aclimados a 10°C, encontrou-se nos tecidos (muscular, branquial e da glândula do intestino médio) maior tendência a acumular lipídeos do que nos tecidos dos animais aclimados a 25°C. A glândula do intestino médio, tanto nos siris submetidos a 10°C, como a 25°C, é o órgão que mais acumula lipídeos. Na temperatura de aclimação a 10°C, a lipogênese, estudada por meio da glicose marcada com ¹⁴C, é mais intensa no tecido branquial, fato este demonstrado pela atividade específica dos lipídeos extraídos desse órgão. Em seguida temos o tecido muscular e por fim a glândula do intestino médio. Esta seqüência já não é observada nos animais aclimados a 25°C.

METABOLIZATION "IN VITRO" OF GLUCOSE ¹⁴C AND TOTAL LIPIDS OF THE TISSUES OF THE BLUE CRAB, *CALLINECTES SAPIDUS*, ACCLIMATED AT DIFFERENT TEMPERATURES

ABSTRACT:

In muscles, gills and hepatopancreas tissues of the animals acclimated at 10°C, there is a major tendency to accumulate lipids than of the same tissues from animals acclimated at 25°C. The hepatopancreas, in both group of animals acclimated at 10°C and 25°C, is an organ where the lipids accumulation is more intense.

Agradecimentos: Expresso neste trabalho meu respeito e minha admiração ao Prof. Dr. Paulo Sawaya, a quem sou muito grato por haver me iniciado na pesquisa científica.

The lipogenesis studied in the acclimation temperature of 10°C with the labeled glucose ^{14}C is more intense in the gills, and this figure can be shown by the specific activity of those lipids extracted from the organ. This specific activity is followed by muscle tissues and them by the hepatopancreas. This following sequence is not observed in those animals acclimate at 25°C. Comparing the muscle tissues of those animals acclimated at 25°C with those acclimated at 10°C, the lipogenesis activity of those animals of the first group, is higher than the lipogenesis activity of the second group.

The animals acclimated at 25°C are more active than those animals acclimated at 10°C, so must have at 25°C a greater elaboration of lipids of neo-formation to compensate the energetics loss resulting from such activity. The gills show, in general, a greater quantity of total lipids than the muscles, and yet produce more lipids than these structures. This fact looks quite clear; the gills are an organ of continuous functions and, of course, the energetic demand is very high and this is compensate by a lipogenesis more intense, comparing with the muscles, which have great resting periods.

CONCLUSIONS:

1. The isolated tissues, muscles, gills and hepatopancreas from the blue crab *Callinectes sapidus* had a capacity to metabolise "in vitro" labeled glucose ^{14}C .
2. The metabolization "in vitro" of labeled glucose is always more intense in the gills tissue, following the hepatopancreas and finally the muscle tissue, in both 10°C and 25°C of acclimation temperature.
3. There are more quantity of total lipids in muscles, hepatopancreas and gills tissues in those animals acclimated at 10°C than the same corresponding tissues of those acclimate at 25°C.
4. The lipogenic activity in all tissues, except from gills tissues is higher in those animals acclimate at 25°C.
5. In both acclimate animal at 25°C and 10°C the lipogenic activity is higher in the gills, following after by the muscles tissues and finally the hepatopancreas.

1. INTRODUÇÃO

Conhece-se há muito tempo o fato de que a estrutura química dos lipídeos de um organismo, vegetal ou animal é influenciada pela temperatura na qual sua biossíntese ocorre; em geral os lipídeos depositados em temperaturas mais elevadas são mais saturados do que aqueles sintetizados em temperaturas mais baixas, permanecendo as demais condições ambientais constantes.

Os organismos em geral apresentam a habilidade de se adaptar às mudanças de temperatura do meio ambiente e em muitas espécies

estas modificações induzidas pela temperatura de aclimação estão relacionadas com mudanças nos tipos de ácidos graxos constituintes dos lipídeos.

Os animais poiquilotérmicos têm sido estudados intensamente com a finalidade de se compreender as alterações que ocorrem nos lipídeos e ácidos graxos, em particular, durante a aclimação à temperatura (Prosser, 1962-1967). Assim, no peixe *Carassius auratus*, Hoar e Cottle (1952) verificaram que há um aumento da relação colesterol-ácidos graxos quando a temperatura de aclimação é elevada, enquanto que a relação colesterol-fosfolípideo varia inversamente com a temperatura de aclimação. Musacchia e Clark (1957), em peixes antárticos, *Myoxocephalus quadricornis*, mostraram que nestes animais mantidos em temperaturas elevadas, havia um aumento do colesterol do fígado e decréscimo de fosfolípídeos do músculo. No peixe *Carassius auratus*, Johnston e Roots (1964) verificaram que a quantidade de lipídeos totais do cérebro desses animais aumentava quando diminuía a temperatura de aclimação e Roots (1968) mostrou que a temperatura de aclimação não tinha efeito significativo sobre vários fosfolípídeos do cérebro desse mesmo peixe.

Há muito fatores conhecidos que influenciam a quantidade e a composição dos lipídeos em geral e ácidos graxos, nos animais: dieta (Lovern, 1964; Kelly *et al.*, 1958; Lee *et al.*, 1970; Walker e Kummerov, 1964), estação do ano (Herodek e Farkas, 1959; Littlepage, 1964; Wolfe *et al.*, 1965; Zar, 1968), idade (Nelson *et al.*, 1967).

Como se depreende da extensa literatura pertinente ao estudo dos lipídeos, a maior parte dos trabalhos são referentes aos peixes, em face do valor comercial destes animais. Muito pouco tem sido pesquisado sobre os lipídeos em geral e lipogênese em particular nos crustáceos, principalmente nos decápodes. Assim, no presente trabalho procurou-se verificar a influência da temperatura de aclimação sobre a quantidade de lipídeos totais do siri azul (*Callinectes sapidus*), aclimados a 10°C e a 25°C, bem como a síntese "in vitro" de lipídeos totais pelo emprego de substância marcada como a glicose ^{14}C , em ambas as temperaturas de aclimação referidas anteriormente.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais experimentais, siri azul, *Callinectes sapidus*, foram coletados em Beaufort, Carolina do Norte, Estados Unidos. Este crus-

táceo, de grande importância econômica nos Estados Unidos da América do Norte, vive numa variedade de fundos, em estuários e águas oceânicas não profundas, ocorrendo desde a Nova Escócia até o Uruguai (Williams, 1965).

O passo inicial na execução desta pesquisa consistiu na aclimação do siri azul. Após a coleta, cada animal era colocado em uma caixa plástica com água do mar a 30‰, convenientemente arejado e separados em dois lotes, mantidos em câmaras de aclimação a 10°C e a 25°C, durante três semanas, no mínimo. Eram alimentados com pedaços de fígado (O'Connor *et al.*, 1969) duas vezes por semana e submetidos a um fotoperíodo de 12 horas. A fim de uniformizar as condições experimentais, somente animais machos, na fase de intermuda, foram utilizados, pois é sabido (Damboviceanu, 1932; O'Connor *et al.*, 1968) que durante a muda e nas fases finais da pré-muda há um decréscimo de certos constituintes bioquímicos da glândula do intestino médio e do líquido do meio interior.

Findo o período de aclimação, os animais foram sacrificados e os tecidos, músculo, glândula do intestino médio e brânquias, foram excisados, secos em papel de filtro e pesados um grama de cada tecido. Em seguida, os tecidos foram transferidos para frascos de incubação, contendo água do mar artificial (Pantin, 1948), e o substrato marcado.

a. *Incubação com a glicose uniformemente marcada com ^{14}C*

A cada tecido foram adicionados 2,5 μCi de glicose uniformemente marcada com ^{14}C , cuja atividade específica era 492 mc/mM, após o que, homogeneizavam-se os tecidos.

A incubação processou-se durante 3 horas, tempo este escolhido em face dos resultados obtidos em experiências preliminares. A incubação foi realizada à temperatura de 25°C. Decorrido este tempo, os lipídeos totais foram então extraídos dos homogeneizados.

b. *Extração dos lipídeos totais*

Os lipídeos totais dos homogeneizados de músculo, glândula do intestino médio e brânquias, foram extraídos seguindo a técnica mais empregada atualmente ou seja, o método de Folch *et al.* (1957), uti-

lizando clorofórmio metanol (2:1, V/V) com um volume de 20 vezes o peso da cada tecido. Acrescentado o clorofórmio-metanol, os tecidos eram novamente homogeneizados. A extração dos lipídeos processou-se durante duas horas.

Folch *et al.* (1.c.) expressam a necessidade de remover contaminantes não lipídicos dos extratos preparados, como descritos acima. Torna-se especialmente importante remover os contaminantes não lipídicos, quando trabalhando com substratos radioativos de alta atividade específica, desde que, pequenas quantidades destes contaminantes podem conferir muita atividade aos extratos lipídicos. A técnica de Folch *et al.* prescreve uma seqüência de lavagens, as quais, segundo os autores, removem efetivamente os contaminantes não lipídicos, liberando um extrato lipídico puro. No presente caso, achou-se aconselhável verificar a eficácia do processo de lavagem na remoção do isótopo não metabolizado e de contaminantes não lipídicos que poderiam ter se formado durante o processo de incubação.

c. *Lavagem dos extratos lipídicos*

Os extratos lipídicos foram lavados três vezes da seguinte maneira:

Lavagem n.º 1:

Dois décimos do volume utilizado para a extração dos lipídeos, de uma solução aquosa de NaCl a 0,73% foram adicionados aos extratos lipídicos após a filtragem dos mesmos, empregando papel de filtro previamente desengordurado, e as fases misturadas invertendo-se a proveta graduada. Uma fase constituída de água-metanol (40% do volume total), designada de fase superior 1, separou-se durante 24 horas. Esta fase continha a maior parte dos contaminantes não lipídicos, foi removida e coletada para subsequente estudo da radioatividade.

Lavagem n.º 2:

A lavagem n.º 2 consistiu em se utilizar o mesmo volume retirado na lavagem n.º 1, de uma solução constituída de NaCl a 0,29% em clorofórmio metanol-água (3:47:48). Após a adição desta solução aos

extratos lipídicos, aguardou-se cerca de 12 horas. A epifase resultante, denominada de fase superior 2, foi removida e coletada também para o estudo da radioatividade.

Lavagem n.º 3:

O procedimento usado na lavagem n.º 2 foi repetido nesta lavagem, liberando a epifase n.º 3.

O volume de todas as epifases foi devidamente anotado e alíquotas de 0,1 ml foram colocadas em frascos de vidro cilíndricos, para estudo da atividade no aparelho de cintilação líquida, permitindo assim o cálculo da quantidade total de radioatividade removida em cada epifase.

Em se tratando de uma solução aquosa, cuja atividade deve ser medida, a fim de se evitar o problema do "quenching", que poderia falsear os resultados, usou-se como solução cintiladora a proposta por Bray (1960), própria para a medida de radioatividade de soluções aquosas. As medidas foram efetuadas num contador de cintilação líquida (Beckman-L-S-200B), com calibração automática de "Quench" e eficiência para $^{14}\text{C} > 90\%$.

A Tabela I apresenta os resultados, em contagem por minuto (CPM) das lavagens 1, 2, 3 descritas acima, realizadas nos tecidos de 3 animais.

Os dados expressos na Tabela I demonstram claramente que a 3.ª lavagem remove muito pouco das substâncias adicionais não lipídicas dos extratos lipídicos, a maior parte sendo eliminada pelas duas primeiras lavagens. Não obstante isso, os extratos lipídicos, em todas as experiências realizadas, foram, por precaução, rotineiramente lavados 3 vezes.

Folch *et al.* (1.c.) verificaram que no procedimento da lavagem alguns lipídeos polares são removidos dos extratos lipídicos. Assim, o uso de 3 lavagens consecutivas apresenta a desvantagem de que maior quantidade de lipídeos são perdidos do que se procedesse somente a duas lavagens.

d. *Peso dos lipídeos totais*

Eliminados os contaminantes não lipídicos, o extrato lipídico foi passado em coluna cromatográfica, contendo sulfato de sódio anidro,

TABELA I

Remoção da radioatividade dos contaminantes não lipídicos, dos extratos lipídicos dos tecidos do siri azul, *Callinectes sapidus* expressos em CPM

Animal N.º	Tecido	Lavagem 1	Lavagem 2	Lavagem 3
1	Músculo	126.120	25.030	3
	Gl. Intest. médio	107.240	43.720	8
	Brânquias	130.126	10.930	5
3	Músculo	123.860	27.025	6
	Gl. Intest. médio	106.127	50.002	8
	Brânquias	135.203	19.013	4
2	Músculo	101.727	29.018	12
	Gl. Intest. médio	87.315	53.007	7
	Brânquias	49.308	11.127	3

lavado previamente com clorofórmio destilado, para remover a água dos extratos. O líquido que fluía da coluna era coletado em balão volumétrico de 20cc, passando-se, após isto, novamente clorofórmio pela coluna, o qual foi recolhido no mesmo balão volumétrico.

Os extratos lipídicos isentos de água foram então evaporados, usando-se um evaporador rotatório a vácuo.

Após a evaporação do clorofórmio, os lipídeos foram dissolvidos em 5 ml de clorofórmio. Um ml deste foi retirado do balão e colocado numa cápsula de Teflon previamente desengordurada e pesada. O solvente foi completamente evaporado dessas cápsulas, empregando uma estufa a vácuo e secas completamente sob vácuo. A seguir, as cápsulas foram repesadas numa balança microanalítica, Sartorius, com a precisão de $\pm 0,01$ mg. Estabelecendo-se as diferenças entre o peso inicial e final das cápsulas, multiplicando-se o resultado por 5, obtemos o peso dos lipídeos totais, contidos em um grama de cada tecido estudado.

Os resultados desta pesquisa acham-se assinalados na Tabela II e gráficos de n.º 1 a 3, expressos em mg de lipídeos por grama de tecido fresco.

No gráfico n.º 1, temos as quantidades de lipídeos encontrados, no músculo, glândula do intestino médio e brânquias de animais aclimados a 10°C. No gráfico n.º 2, nesta mesma seqüência de tecidos, as quantidades de lipídeos totais, em animais aclimados a 25°C. As quantidades de lipídeos totais, em ambas as temperaturas de aclimação estão comparadas no gráfico n.º 3.

TABELA II

Lipídeos totais do músculo, glândula do intestino médio e brânquias do siri azul, *Callinectes sapidus*, aclimados a 10°C e 25°C, expressos em mg/g de tecido fresco

Tecido	Animais aclimados a 10°C						
	Número do animal						
	1	2	3	4	5	6	7
Músculo	4,1	8,16	6,23	7,27	8,14	6,85	7,04
Gland. int. médio	79,4	74,1	49,8	83,5	34,3	60,9	132,0
Brânquias	4,5	11,76	8,89	8,55	8,83	5,94	9,65
	Animais aclimados a 25°C						
	Número do animal						
	1	2	3	4	5	6	7
Músculo	3,6	4,1	3,01	2,84	3,88	2,25	1,30
Gland. int. médio	63,1	64,71	71,85	24,07	18,13	15,04	42,78
Brânquias	8,0	9,83	7,0	6,38	8,04	2,96	7,46

e. *Incorporação da glicose marcada com ¹⁴C nos lipídeos totais*

Para se efetuar a contagem da radioatividade dos lipídeos totais extraídos do músculo, glândula do intestino médio e brânquias, os mesmos foram dissolvidos diretamente em 10 ml do líquido cintilador, contendo PPO, POPOP, dissolvidos em tolueno, nas seguintes propor-

GRÁFICO 1

Lipídeos totais (mg/g tec. fresco)
Animais aclimados a 10°C

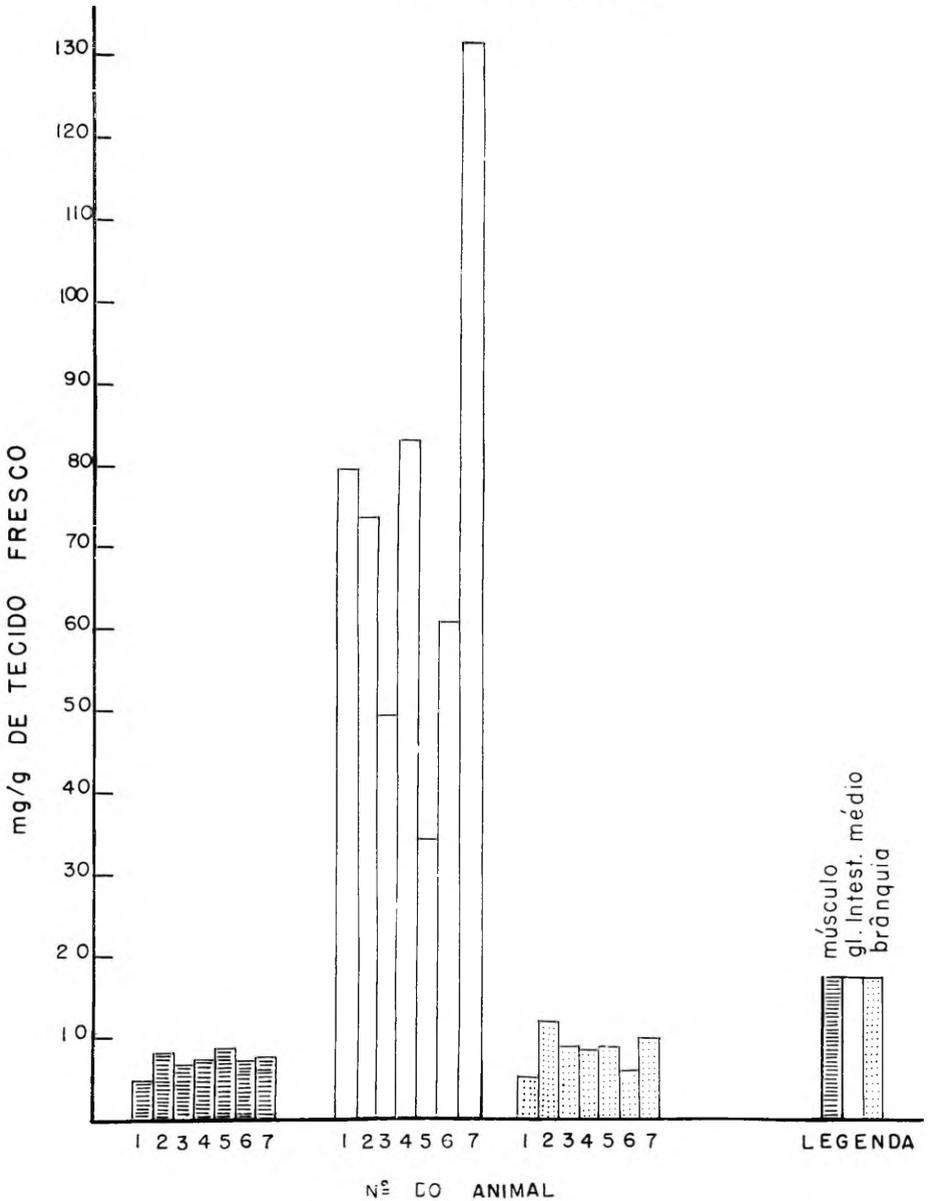


GRÁFICO 2

Lipídeos totais (mg/g tec fresco)
 Animais aclimados a 25°C

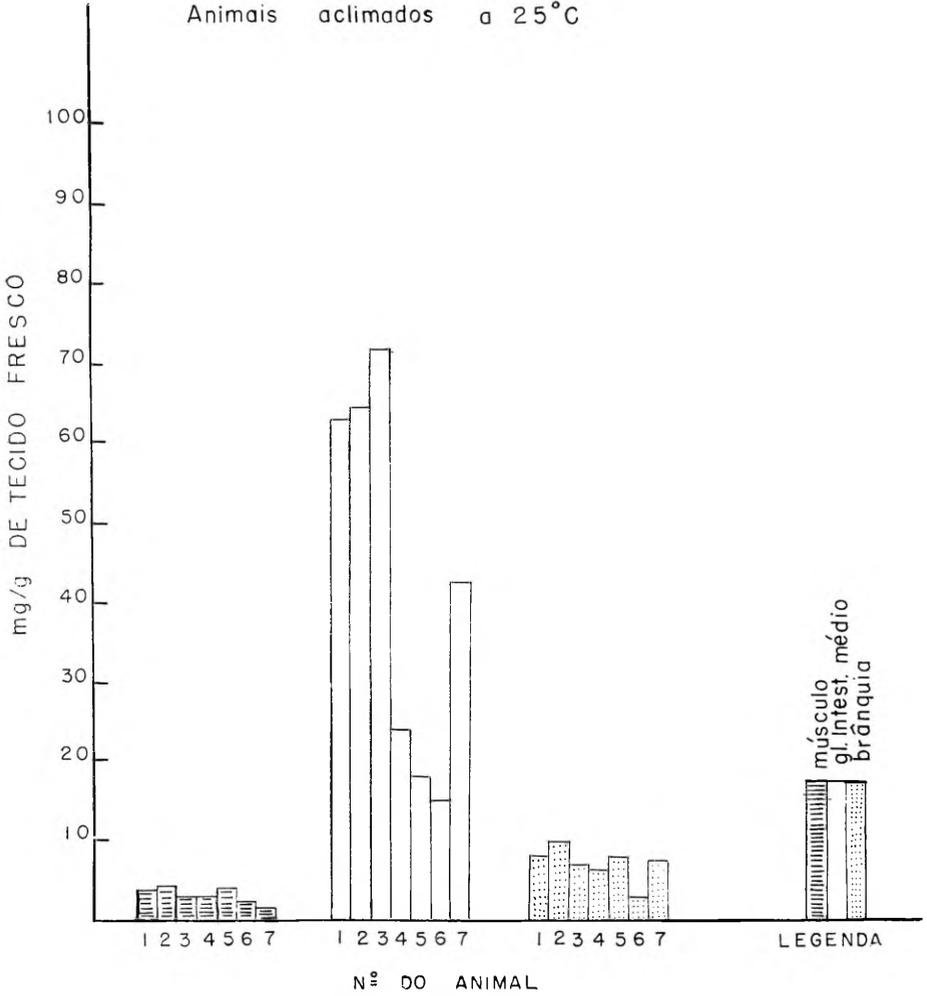
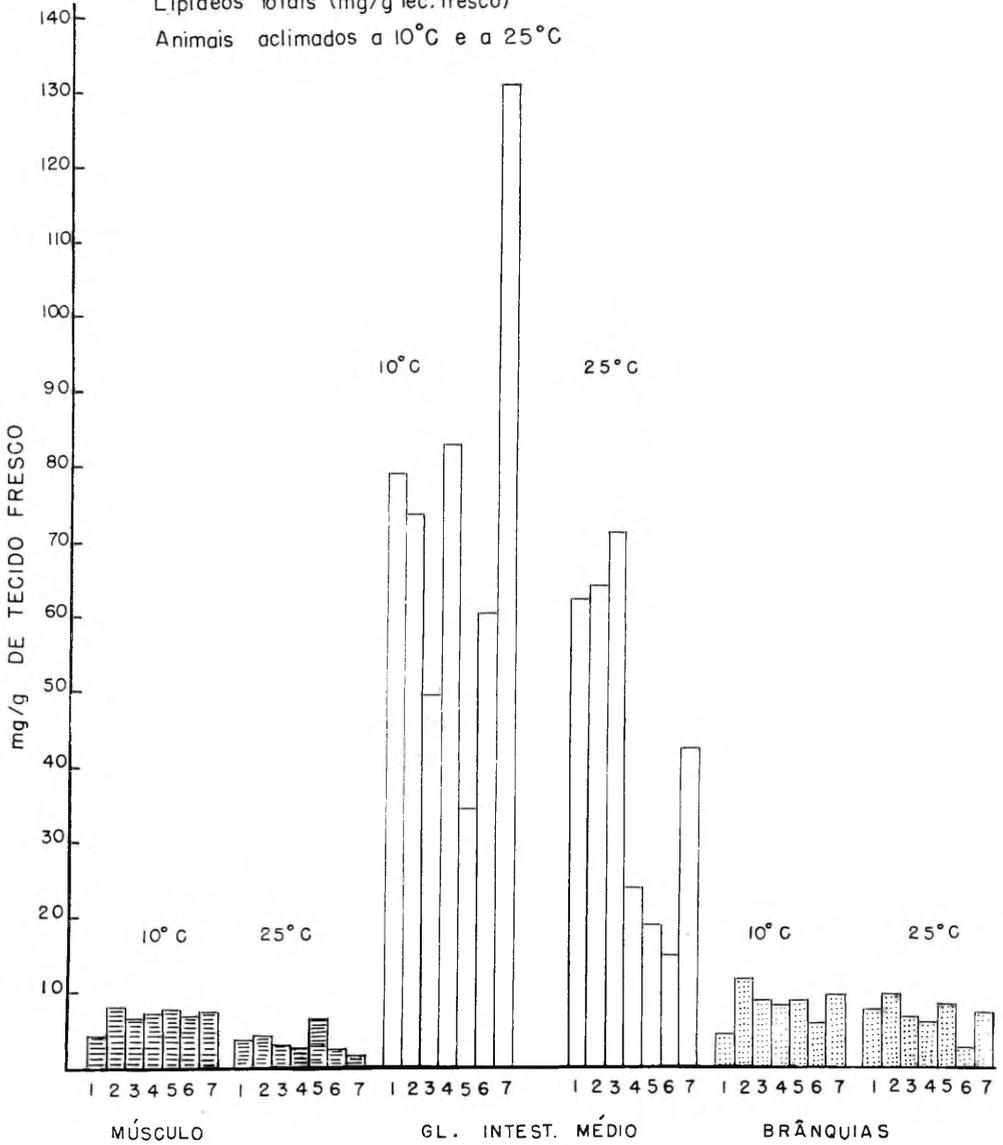


GRAFICO 3

Lipídeos totais (mg/g tec. fresco)
 Animais aclimados a 10°C e a 25°C



ções: 5 g de PPO (2,5 Difeniloxazol) e 300 mg de POPOP (1,4-bis-2-5-feniloxazolil)benzeno), em 100 cc de tolueno.

A radioatividade foi medida num aparelho de cintilação líquida, Bekman LS-200B, com trocador automático de amostras.

A eficiência com a qual uma amostra radioativa é contada num líquido cintilador varia de amostra para amostra. O "quenching", que é o decréscimo na eficiência de contagem, é produzido por processos os quais interferem na produção de luz no líquido cintilador e sua transmissão para o tubo foto-multiplicador do aparelho de cintilação líquida. O "quenching" pode ser produzido de duas formas: por processos químicos ou então devido a cor, no líquido cintilador. Neste último caso, materiais coloridos, como os lipídeos extraídos principalmente da glândula do intestino médio, dissolvidos no líquido cintilador absorvem a luz emitida pelo "fósforo" orgânico e impede a transmissão da mesma ao foto-multiplicador.

A fim de evitar o problema do "quenching", ao invés de se dissolver integralmente os lipídeos totais no líquido cintilador, apenas uma alíquota destes foi dissolvida, e o resultado multiplicado pela quantidade de lipídeos totais. Cada medida da radioatividade foi feita durante 100 minutos e processada a média das contagens obtidas.

Os resultados, que demonstram a lipogênese às expensas do substrato radioativo, durante o período de incubação, encontram-se na Tabela III, expressos em atividade específica (CPM/mg de lipídeos), e gráficos n.º 4 e 5. No primeiro temos os resultados comparativos da atividade específica do músculo e glândula do intestino médio de animais aclimados a 10°C e a 25°C.

No gráfico n.º 5, temos a atividade específica do tecido branquial, comparado a 10 e 25°C.

3. RESULTADOS

Dos três tipos de tecidos estudados, conforme a Tabela II, e gráficos de n.º 1 a 3, a glândula do intestino médio, tanto de animais aclimados a 10°C como a 25°C é a que acumula maior quantidade de lipídeos. Cuenot (1873) já demonstrara que a glândula digestiva, nos crustáceos decápodes, era o órgão onde se acumulava a maior quantidade de lipídeos. Embora tenhamos que levar em consideração

as variações individuais, e isto é verdadeiro principalmente para animais aclimados a 25°C, entre os tecidos estudados, a brânquia é a que ocupa o 2.º lugar na reserva de lipídeos. Comparando-se os animais aclimados a 10°C com os aclimados a 25°C, pode se constatar que há uma tendência geral nos primeiros para acumular maior quantidade de lipídeos.

Com relação à incorporação da glicose ¹⁴C nos lipídeos totais *Callinectes sapidus*, pela tabela III observamos o seguinte: nos animais aclimados a 10°C a brânquia é o tecido no qual a lipogênese é mais intensa, o que se deduz pela atividade específica dos lipídeos extraídos desse órgão. Em seguida temos o músculo e por fim a glândula do intestino médio.

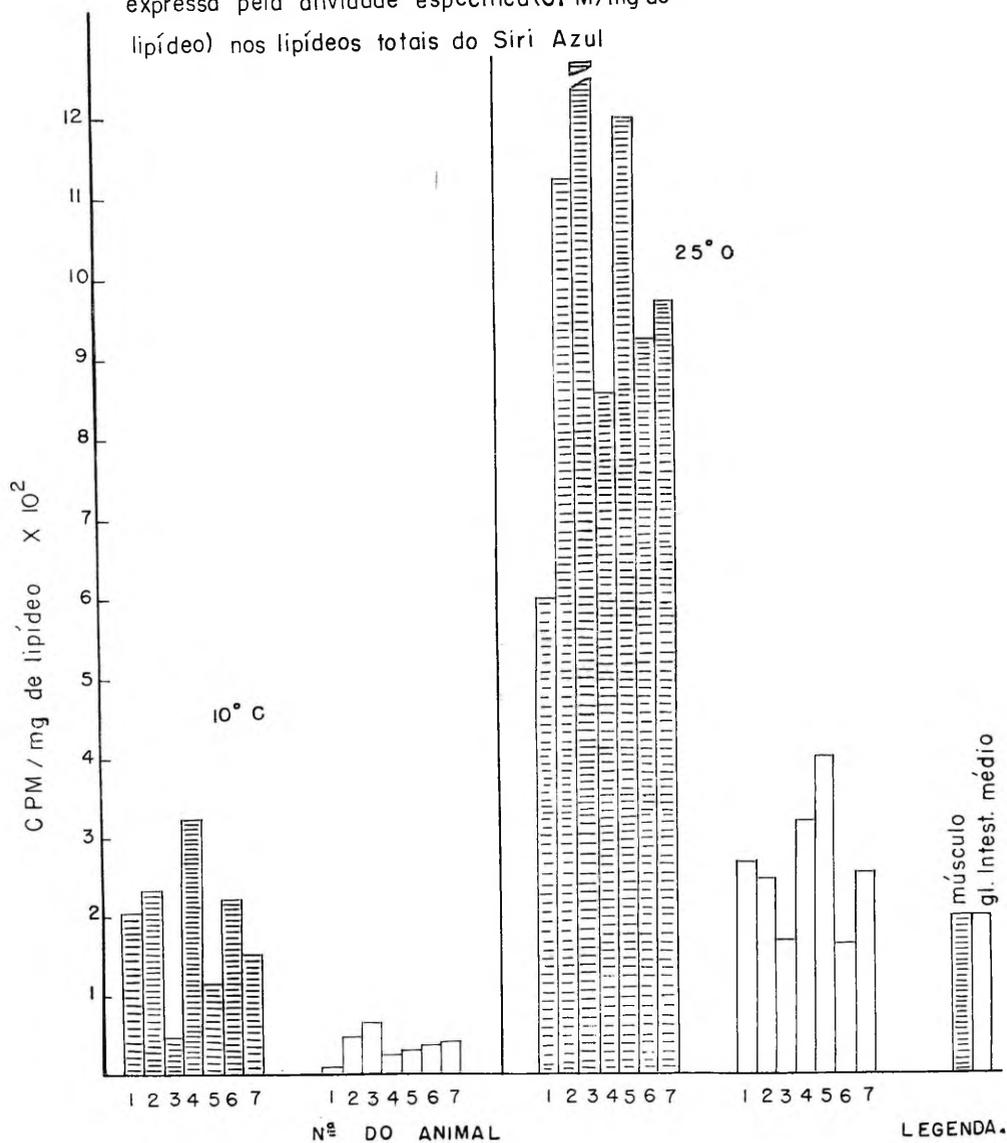
TABELA III

Incorporação da glicose marcada com carbono 14, expressa pela atividade específica (CPM/mg de lipídeos), nos lipídeos totais do siri azul, *Callinectes sapidus*, aclimados a 10°C e 25°C

Tecido	Animais aclimados a 10°C						
	Número do animal						
	1	2	3	4	5	6	7
Músculo	204	234	47	321	114	223	152
Glând. int. médio	3	47	64	24	27	35	40
Brânquias	331	7664	456	1746	2038	702	503
	Animais aclimados a 25°C						
	Número do animal						
	1	2	3	4	5	6	7
Músculo	600	1124	1671	857	1200	925	972
Glând. int. médio	268	245	170	320	401	160	252
Brânquias	2630	1371	318	1206	802	759	931

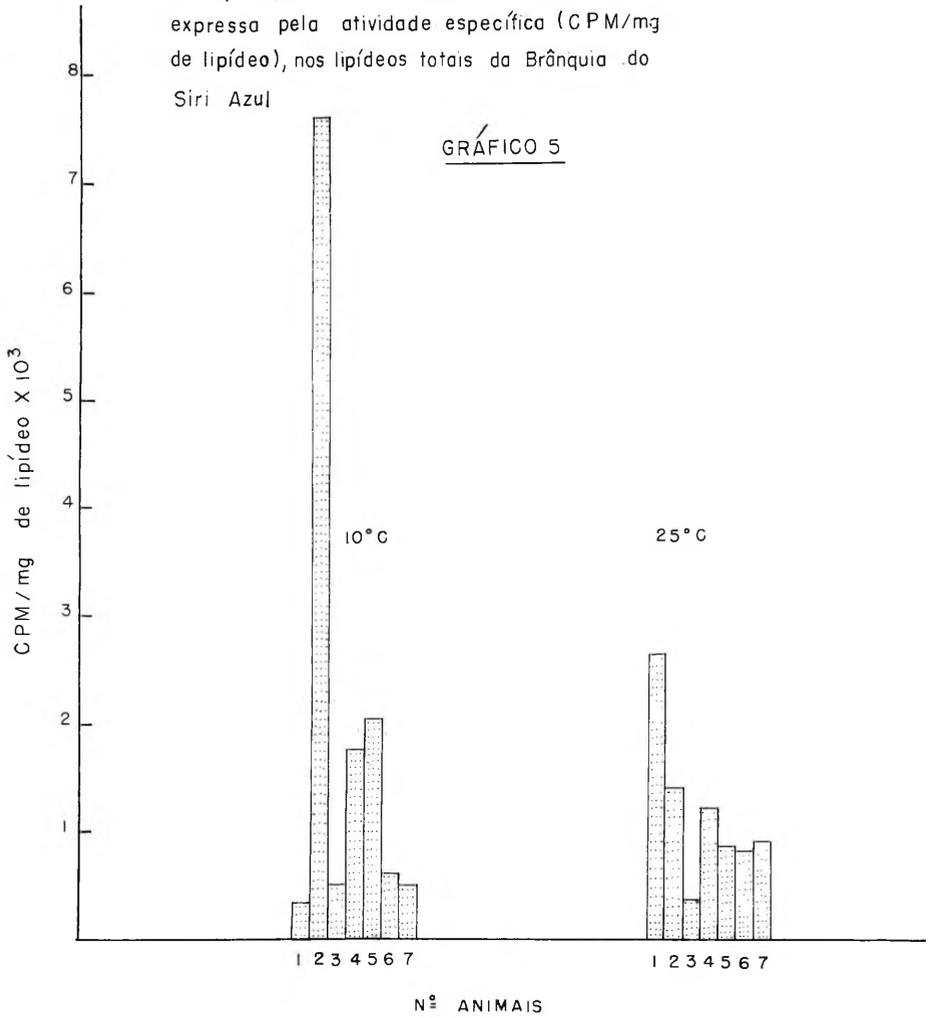
GRÁFICO 4

Incorporação da Glicose marcada com ^{14}C , expressa pela atividade específica (CPM/mg de lipídeo) nos lipídeos totais do Siri Azul



Incorporação da Glicose marcada com ^{14}C , expressa pela atividade específica (CPM/mg de lipídeo), nos lipídeos totais da Brânquia do Siri Azul

GRÁFICO 5



Nos animais aclimados a 25°C esta seqüência já não é observada pois várias figuras expressas pela atividade específica, do músculo e da brânquia se recobrem. Entretanto, nestes animais a lipogênese é mais intensa no músculo e na brânquia do que em relação a glândula do intestino médio, coincidindo com o que ocorre nos animais aclimados a 10°C.

Comparando-se agora o músculo e glândula do intestino médio (Tabela III, gráfico n.º 4) de animais aclimados a 10°C e a 25°C, ver-se-á, que a metabolização da glicose é nitidamente maior nestes últimos.

Com relação às brânquias (gráfico n.º 5) os resultados são inconclusivos uma vez que os dados obtidos se recobrem em ambas temperaturas de aclimação.

4. DISCUSSÃO

Dois aspectos principais foram considerados referentes à utilização "in vitro" da glicose uniformemente marcada com ^{14}C . O primeiro foi verificar se realmente havia metabolização "in vitro" deste monossacarídeo. Desde que Scheer e Scheer (1951), ao estudarem a regulação hormonal do metabolismo nos crustáceos, não conseguiram demonstrar na lagosta *Panulirus penicillatus* a utilização da glicose "in vitro", em preparação do músculo, glândula do intestino médio e epiderme, o problema ficou praticamente aberto à investigação. Mesmo injetando glicose marcada nas lagostas, muito pouco ou nada do ^{14}C da glicose encontraram no CO_2 respiratório. Os autores concluíram que a glicose não servia como substrato para o metabolismo oxidativo nestes crustáceos e aventaram a hipótese de neles a glicose estar relacionada com a formação de quitina no tegumento o que, a seu ver, seria de importância fundamental. Posteriormente, Huggins (1966) verificou que nos tecidos, músculo, glândula do intestino médio e brânquias do siri, *Carcinus maemnas*, havia metabolização "in vitro" de cerca de 50% da glicose, cuja radioatividade era encontrada principalmente na alanina e ácido láctico. Lockwood (1967), fazendo uma revisão da fisiologia dos crustáceos, expressou-se da seguinte forma a respeito desse problema: "de fato, pensou-se que o metabolismo dos crustáceos diferia do metabolismo dos vertebrados pois, parecia que a glicose marcada, injetada nas lagostas *Panulirus japo-*

nica e *Panulirus penicillatus* não dava origem ao $^{14}\text{CO}_2$. No entretanto, a glicose injetada no sangue desaparece rapidamente; é aparente que pelo menos um certo mecanismo ocorre no metabolismo e armazenamento da glicose nesses animais"

Constatou-se que variação de temperatura leva a modificações químicas nos organismos, tanto qualitativa como quantitativa. Sob o ponto de vista quantitativo, os resultados obtidos em siris aclimados a 10°C e a 25°C relativos aos lipídeos totais, concordam plenamente com os dados fornecidos pela literatura. Hoar e Cottle (1952) e Johnston e Roots (1964), entre outros, verificaram que no peixinho dourado, *Carassius auratus*, a quantidade de lipídeos totais diminuía quando a temperatura de aclimação aumentava. Em crustáceos planctônicos polares, Littlepage (1964), assinala maiores quantidades de lipídeos totais, que nos animais do mesmo gênero, mas que habitam águas quentes. Nos siris aclimados a 10°C , encontrou-se maior quantidade de lipídeos totais que nos animais aclimados a 25°C , conforme é indicado na Tabela II e nos gráficos de números 1, 2 e 3.

O aumento da temperatura promove uma elevação na taxa do metabolismo o que acarreta maior consumo de alimentos. Assim, poder-se-ia interpretar o fato de que nos animais aclimados a 25°C , o consumo de maior quantidade de alimentos promove uma redução da taxa de lipídeos dos tecidos. O inverso ocorreria nos animais aclimados a 10°C , e a maior quantidade de lipídeos encontrada nestes animais teria um efeito protetor contra a diminuição da temperatura.

Na Tabela III e gráfico 4 e 5 nota-se pela atividade específica dos lipídeos totais, que tanto nos animais aclimados a 10°C e a 25°C a atividade lipogênica é maior nas brânquias seguidas pelos músculos e por fim pela glândula do intestino médio. Vê-se ainda por essa Tabela, com exceção para as brânquias, que os animais aclimados a 25°C apresentam uma atividade lipogênica maior do que os aclimados a 10°C . Isto à primeira vista parece estar em desacordo com o que foi dito anteriormente, isto é, que animais aclimados a 25°C apresentam menor quantidade de lipídeos totais do que os aclimados a 10°C , e tenham atividade lipogênica maior. É lógico que se nos siris aclimados a 25°C o consumo de alimentos é maior, a lipogênese também deverá ser maior, equilibrando assim o metabolismo destes animais.

Comparando-se agora os músculos dos animais aclimados a 25°C com os dos aclimados a 10°C , como foi dito, a atividade lipogênica

dos animais do primeiro grupo, supera aos do segundo grupo. Sendo os animais aclimados a 25°C mais ativos que a 10°C, deve haver a 25°C maior elaboração de lipídeos de neo-formação para compensar os gastos energéticos resultantes de tal atividade.

As brânquias apresentam, em geral, maior quantidade de lipídeos totais do que o tecido muscular e ainda assim, produzem mais lipídeos do que o músculo. Este fato parece claro também, uma vez que a brânquia é um órgão de funcionamento ininterrupto, e o gasto energético sendo muito alto, é compensado por uma lipogênese mais intensa do que os músculos, que apresentam grandes períodos de repouso.

CONCLUSÕES

1. Os tecidos isolados, músculos, glândula do intestino médio e brânquias do siri azul, *Callinectes sapidus*, têm a capacidade de metabolizar "in vitro" a glicose marcada com ^{14}C .
2. A metabolização "in vitro" da glicose marcada é sempre mais intensa no tecido branquial, seguindo-se a glândula do intestino médio e, finalmente, os músculos, tanto a 10°C como a 25°C.
3. Há maior quantidade de lipídeos totais nos músculos, glândula do intestino médio e brânquias nos animais aclimados a 10°C do que nos correspondentes tecidos de animais aclimados a 25°C.
4. A atividade lipogênica em todos os tecidos, excetuadas as brânquias, é maior nos animais aclimados a 25°C.
5. Tanto em animais aclimados a 25°C como a 10°C, a atividade lipogênica é maior nas brânquias, seguindo-se os músculos e por fim a glândula do intestino médio.

B I B L I O G R A F I A

- BRAY, G. A. (1960) — A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter. *Analyt. Biochem.*, 1:279-285.
- CUÉNOT, L. (1873) — Études physiologiques sur les crustacés décapodes. *Arch. Biol.*, 13:245-303.
- DAMBOVICEANU, A. (1932) — Composition chimique et physico-chimique du liquide cavitare chez les crustacés décapodes (physiologie de la calcification). *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.*, 2:239-309.

- FOLCH, J.; LEES, M. & STANLEY, G. H. S. (1957) — A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**:497-509.
- HERODEK, S. & FARKAS, T. (1959) — Seasonal changes in the fatty acid composition of *Astacus leptodactylus*. *Biol. Koslemenyek*, **7**:53-59 (Chem. Abstr., **56**:787 f).
- HOAR, W. S. & COTTLE, M. K. (1952) — Some effects of temperature acclimatization on the chemical constitution of goldfish tissues. *Canad. J. Zool.*, **30**:49-54.
- HUGGINS, A. K. (1966) — Intermediary Metabolism in *Carcinus maenas*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **18**(2):283-290.
- JOHNSTON, P. V. & ROOTS, B. I. (1964) — Brain lipid fatty acids and temperature acclimation. *Comp. Biochem. Physiol.*, **11**:303-309.
- KELLY, P. B.; REISER, R. & HOOD, D. W. (1958) — The origin and metabolism of marine fatty acids: The effect of diet on the depot fats of *Mugil cephalus* (the common mullet). *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **35**:189-192.
- LEE, R. F.; NEVENZEL, J. C. & PAFFENHOFER, G. A. (1970) — Wax esteres in marine copepods. *Science*, **167**:1510-1511.
- LITTLEPAGE, J. L. (1964) — Seasonal variations in lipid content of two antarctic marine crustacea. SCAR — Symposium on Antarctic Biology, 1962. In *Antarctic Actualités Scientifiques et Industrielles*, **1312**:463-470.
- LOCKWOOD, A. P. M. (1967) — Aspects of the physiology of Crustacea, pp. 110-159. W. H. Freeman and company, S. Francisco.
- LOVERN, J. A. (1964) — The lipids of marine organisms. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **2**:169-191.
- MUSACCHIA, X. J. & CLARK, M. R. (1957) — Effects of elevated temperatures on tissue chemistry of the Arctic sculpin, *Myoxocephalus quadricornis*. *Physiol. Zool.*, **30**(1):12-17.
- NELSON, D. R.; TERRANOVA, A. C. & SUKKESTAD, D. R. (1967) — Fatty acid composition of the glyceride and free fatty acid fractions of the fat body and hemolymph of the cockroach, *Periplaneta americana* (L). *Comp. Biochem. Physiol.*, **20**:907-917.
- O'CONNOR, J. D. & GILBERT, L. I. (1968) — Aspects of lipid metabolism in crustaceans. *Amer. Zool.*, **8**:529-539.
- O'CONNOR, J. D. & GILBERT, L. I. (1969) — Alterations in lipid metabolism associated with premolt activity in a land crab and freshwater crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **29**:889-904.
- PANTIN, C. F. A. (1948) — Notes on microscopical technique for zoologists. Cambridge at the University Press, 79 p.
- PROSSER, C. L. (1962) — Acclimation of poikilothermic vertebrates to low temperatures. In *Comparative Physiology of Temperature Regulation* (Editado por Hannon, J. P. & Viereck, E.) pp. 1-34. Artic Aeromedical Laboratory, Alasca.

- PROSSER, C. L. (1967) — Molecular mechanisms of temperature adaptation in relation to speciation. In *Molecular Mechanisms of Temperature Adaptation*, pp. 351-376. American Association for the Advancement of Science, Washington, D.C.
- ROOTS, B. I. (1968) — Phospholipids of goldfish (*Carassius auratus* L.) brain: The influence of environmental temperature. *Comp. Biochem. Physiol.*, **25**: 457-466.
- SCHEER, B. T. & SCHEER, M. A. R. (1951) — The hormonal control of metabolism in crustaceans. I. Blood sugar in spiny lobsters. *Physiol. Comp. Oecol.*, **2**:198-209.
- WALKER, B. L. & KUMMEROW, F. A. (1964) — Dietary fat and the structure and properties of rat erythrocytes. III. Response of erythrocyte fatty acids to various dietary fats. *J. Nutr.*, **82**:329-332.
- WILLIAMS, A. B. (1965) — Marine Decapods of the Carolinas. *Fish. Bull.*, **65**(1): 142-174.
- WOLFE, D. A.; RAO, P. V. & CORNWELL, D. G. (1965) — Studies on the fatty acid composition of crayfish lipids. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **42**:633-637.
- ZAR, J. H. (1968) — The fatty acid composition of the ladybird beetle, *Coleomegilla maculata* (De Geer) during hibernation. *Comp. Biochem. Physiol.*, **26**: 1127-1129.