



REVISÃO

Adaptações metabólicas dos crustáceos ao déficit de oxigênio ambiental

Daiana da Silva-Castiglioni¹, Bibiana Kaiser Dutra², Felipe Amorim Fernandes²,
Ludwig Buckup¹ e Guendalina Turcato Oliveira^{2,3}

Recebido: 28 de março de 2011 Recebido após revisão: 02 de setembro de 2011 Aceito: 10 de outubro de 2011
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1876>

RESUMO: (Adaptações metabólicas dos crustáceos ao déficit de oxigênio ambiental). O teor de oxigênio na água tem importância fundamental na distribuição da vida, especialmente dos animais. O oxigênio é um dos gases mais importantes na dinâmica e na caracterização de ecossistemas aquáticos podendo ocorrer uma redução de seus níveis (hipóxia) ou até mesmo sua ausência (anoxia). A tolerância a hipóxia/anoxia é muito variável entre os animais. Em crustáceos foram identificadas estratégias adaptativas que permitem a sobrevivência de espécies podendo-se destacar: a utilização de vias anaeróbicas para a produção de ATP, manutenção de altas concentrações de glicogênio e de fosfato em condições aeróbicas e a depressão metabólica. Na utilização das vias anaeróbicas a glicólise é a via fundamental para a produção de ATP. A estratégia da depressão metabólica é um mecanismo muito comum utilizado pelos animais para enfrentar o estresse ambiental e para muitas espécies, essa é a estratégia primária utilizada. A manutenção de altas concentrações de glicogênio e fosfato também é uma adaptação apresentada por várias espécies de crustáceos ao ambiente hipóxico/anóxico. Além da tolerância a esse ambiente, os animais precisam enfrentar períodos de recuperação aos níveis normais de oxigênio. A fase de recuperação é importante para a reposição das reservas energéticas e para a remoção dos produtos finais armazenados. Pesquisas sobre as adaptações das espécies, principalmente as metabólicas, são essenciais para a melhor compreensão dos mecanismos utilizados pelas espécies para sobreviverem em ambientes com níveis reduzidos de oxigênio.

Palavras-chave: Crustacea, oxigênio, metabolismo.

ABSTRACT: (Metabolic adaptations of Crustaceans to environmental oxygen deficit). The oxygen levels in water are fundamental importance in the distribution of life, especially the animals. Oxygen is one of the most important gases in the dynamics and the characterization of aquatic ecosystems where it could cause a reduction in their levels (hypoxia) or even the absence (anoxia). The tolerance to hypoxia/anoxia is highly variable among animals. In crustaceans were identified adaptive strategies that allow the survival of the species can be highlighted: the use of anaerobic pathways for ATP production, maintenance of high concentrations of glycogen and phosphate under aerobic and metabolic depression. The use of anaerobic glycolysis pathways is the fundamental way to produce ATP. The strategy of metabolic depression is a very common mechanism used by animals to cope the environmental stress and for many species, this is the primary strategy. The maintenance of high concentrations of glycogen and phosphate is also an adaptation made by several species of crustaceans to hypoxia/anoxic. Beyond tolerance to this environment, animals must contend with periods of recovery to normal levels of oxygen. The recovery phase is important for the replenishment of energy reserves and the removal of the finished products stored. Research on the adaptations of species, mainly metabolic, are essential to a better understanding of the mechanisms used by the species to survive in environments with low oxygen levels.

Key words: Crustacea, oxygen, metabolism.

INTRODUÇÃO

Diferentes graus de adaptações ao meio ambiente têm sido constatados em todos os níveis de organização biológica e nos mais diversos organismos. Estas adaptações, tanto estruturais como funcionais, permitiram aos seres vivos a colonização de diferentes habitats. Ao longo dos últimos anos, as adaptações bioquímicas e fisiológicas a um ambiente hipóxico ou anóxico têm sido estudadas em moluscos intertidais, em tartarugas aquáticas e em alguns mamíferos, contudo, poucos trabalhos têm abordado a influência da hipóxia ou da anoxia sobre as adaptações do metabolismo intermediário em crustáceos (Oliveira *et al.* 2004).

O teor de oxigênio na água tem importância fundamental na distribuição da vida, especialmente dos animais. A disponibilidade de oxigênio, em sistemas aquáticos, é aproximadamente 25 vezes menor do que no ar atmosférico, o qual é constituído de 21% de oxigênio. Além disso, a alta densidade e viscosidade da água demandam maiores esforços para sua extração por parte dos aparelhos respiratórios dos animais aquáticos, representando um custo metabólico elevado. Por estas razões e pela baixa difusão desta molécula no meio aquático quando comparado com o ambiente aéreo, o oxigênio torna-se um fator limitante para os organismos de respiração exclusivamente aquática (Margalef 1974).

1. Departamento de Zoologia, Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

2. Laboratório de Fisiologia da Conservação, Faculdade de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Zoologia, PUCRS. Av. Ipiranga 6681, CEP 90619-900, Porto Alegre, RS, Brasil.

3. Bolsista de Produtividade do CNPq.

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

Os animais aquáticos estão submetidos a alterações mais frequentes e rápidas nos níveis de oxigênio do que os animais que apresentam respiração aérea. Tanto a mistura como a difusão é mais rápida no ar do que na água, de modo que ambientes com reduções nos níveis de oxigênio (hipóxia) ocorrem, mais frequentemente, no meio aquático. Embora a fotossíntese possa causar níveis de oxigênio muito elevados durante o dia em alguns meios aquáticos, o consumo de oxigênio pelos processos biológicos e químicos pode produzir áreas e hipóxia (Randall *et al.* 2000). Muitos invertebrados e vertebrados inferiores, sob estresse hipóxico, direcionam estratégias metabólicas a função anaeróbica; muitas dessas espécies têm determinados mecanismos de proteção contra a hipóxia, os quais são frequentemente referidos como um bom anaeróbico ou como anaeróbico facultativo (Hochachka 1986).

Em crustáceos, as respostas fisiológicas às variações das concentrações de oxigênio incluem alterações significativas na ventilação, na circulação, nas propriedades de afinidade da hemocianina pelo O₂, no metabolismo aeróbio e anaeróbio, além de modificações comportamentais (Hervant & Mathieu 1995, Hervant *et al.* 1997 e 1998, Hochachka & Somero 1984, Storey & Storey 1990, Livingstone 1991, Guppy *et al.* 1994, Lutz & Storey 1997a). O tempo letal médio (TL₅₀) de exposição a um ambiente anóxico varia desde poucas horas, como em *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) (Gäde 1984), *Gammarus fossarum* Koch, 1835 (Hervant & Mathieu 1995) e *Neohelice granulata* Dana, 1851 (Gonçalves 1993), até vários dias, como em *Callinectes californiensis* (Dana, 1854) (Thompson & Pritchard 1969). Esta diferença na capacidade de tolerância à anoxia estaria associada ao tipo de habitat de cada espécie estudada.

Em crustáceos foram identificadas estratégias adaptativas que permitem a sobrevivência das espécies em hipóxia ou anoxia, destacando-se: a utilização de vias anaeróbicas para a produção de ATP, manutenção em todos os tecidos de altas concentrações de glicogênio e de fosfato em condições aeróbicas e a depressão metabólica (Storey & Storey 1990, Hervant & Mathieu 1995, Lutz & Storey 1997b, Childress & Seidel 1998, Hochachka & Lutz 2001). O processo de recuperação, aos níveis normais de oxigênio, também é importante de ser analisado nas espécies porque é fundamental para a rápida reposição das reservas energéticas e para a remoção dos produtos finais armazenados durante a anoxia e a hipóxia.

UTILIZAÇÃO DE VIAS ANAERÓBICAS

Diversas espécies de crustáceos decápodos são muito tolerantes a hipóxia ou até mesmo a anoxia, sobrevivendo sob estas condições por longos períodos. Diferentes espécies apresentam várias adaptações onde a principal estratégia para tolerar e sobreviver às concentrações reduzidas de oxigênio e até mesmo a sua ausência é a

utilização de mecanismos anaeróbicos sendo que a via fundamental para a produção de ATP na ausência do oxigênio é a glicólise (Hochachka 1980, Hochachka & Somero 1984).

A via glicolítica, em anaerobiose, converte o piruvato a lactato por ação da lactato desidrogenase, gerando 2 mols de ATP por mol de glicose. Já em aerobiose a via glicolítica converte a glicose a piruvato e por ação da piruvato desidrogenase, o piruvato é convertido à acetil-coA que será, então, oxidada no Ciclo de Krebs a CO₂ e H₂O, produzindo 36-38 mols de ATP por mol de glicose (Marks *et al.* 1996). A produção energética das vias anaeróbicas é insuficiente, pois a glicólise produz menos de 10% do ATP gerado pelo metabolismo aeróbico, o qual é aproximadamente 18 vezes mais eficiente que a glicólise anaeróbica (Gray *et al.* 1999).

Embora a glicólise seja considerada a via fundamental de produção de energia sob baixas condições de oxigênio, há algumas limitações dessa via no fornecimento de ATP, comparado com as vantagens do catabolismo aeróbico. A primeira limitação é que o metabolismo aeróbico pode utilizar carboidratos, lipídeos e proteínas como combustíveis oxidativos pelas vias mitocondriais, enquanto que em condições anaeróbicas os organismos estão restritos ao uso de carboidratos e poucos aminoácidos como combustíveis fermentáveis. A segunda limitação é com relação à produção de energia, já que a glicólise produz somente 2 mols de ATP por mol de glicose catabolisada a lactato comparada com 36 mols de ATP gerados pela glicólise aeróbica. Outra limitação que podemos destacar sobre a utilização da glicólise é com relação aos produtos finais, visto que, na glicólise anaeróbica, os produtos finais, geralmente o lactato (em animais) e etanol (em plantas), se não excretado ou neutralizado em alguma forma podem causar toxicidade, sendo que o produto final da glicólise aeróbica, o CO₂, é prontamente excretado ou exalado (Storey & Storey 2004).

Como a glicólise anaeróbica produz um rendimento reduzido de ATP por mol de substrato, quando comparado com a respiração aeróbica, existem duas estratégias que podem ser adotadas pelos organismos para manter a carga energética durante a anoxia devido à baixa eficiência glicolítica: a primeira é o aumento da velocidade da glicólise (estratégia glicolítica) e a segunda é a redução da atividade dos processos que consomem energia (estratégia da depressão metabólica) (Lutz & Nilsson 1997, Nilsson 2001). Enquanto a ativação glicolítica pode levar à rápida depleção das reservas energéticas, um estado hipometabólico pode prolongar o tempo que o animal resiste a anoxia, pois esta estratégia tem a vantagem de conservar os estoques de energia (Schmidt & Kamp 1996). Apesar disso, as duas estratégias são utilizadas por diferentes espécies tolerantes à anoxia ou por diferentes órgãos no mesmo animal (Storey 1987, Nilsson & Lutz 2004).

A anaerobiose pode ser dividida em dois tipos: a anaerobiose dependente do hábitat ou anaerobiose am-

biental, a qual ocorre quando o organismo é submetido a um micro-habitat em condições anóxicas; e anaerobiose dependente da atividade ou anaerobiose funcional, a qual ocorre devido a um aumento de atividade de um determinado tecido, geralmente muscular, que excede a sua capacidade aeróbica de produção energética. Na anaerobiose funcional, o organismo necessita de uma disponibilidade energética imediata, mesmo que com custo elevado, para enfrentar uma situação de duração relativamente curta como, por exemplo, a fuga na presença de um predador. Enquanto na anaerobiose ambiental, o organismo precisa utilizar processos energéticos econômicos, pois a situação hipóxica/anóxica pode persistir por vários dias. Portanto, os dois tipos de anaerobiose relacionam-se a processos metabólicos diferentes (Gäde 1983, Ulrich 1994).

Os invertebrados podem utilizar quatro principais vias anaeróbicas segundo Barnes *et al.* (1993): a primeira, e mais conhecida de todas, é a via do lactato. Em crustáceos, o lactato é o principal produto do metabolismo anaeróbico (Zebe 1982, Gäde 1984, Taylor & Spicer 1987, Hill *et al.* 1991, Santos & Keller 1993, Anderson *et al.* 1994, Hervant & Mathieu 1995, 1996 e 1997, Schmitt & Uglow 1998, Spicer *et al.* 2002, Oliveira *et al.* 2004). As duas espécies de lagostins, *Parastacus defossus* Faxon 1898 e *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) mostraram um aumento nos níveis de lactato quando submetidas a hipóxia, mas *P. defossus* mostrou maiores concentrações em normóxia e também nos diferentes tempos de hipóxia. Essa resposta era esperada, pois essa espécie vive em habitações subterrâneas com baixos níveis de oxigênio (Silva-Castiglioni *et al.* 2010). A segunda via anaeróbica é a das opinas, um derivado de aminoácido, similar à via do lactato e também é adaptada para as atividades energéticas intensas, as quais necessitam de uma produção rápida, mas não necessariamente eficiente de ATP.

A terceira via é a via do succinato, que está presente em organismos como os bivalves que habitam substratos lodosos anóxicos e em endoparasitas que vivem em locais anaeróbicos de seus hospedeiros, como o intestino de vertebrados. Esses organismos desenvolveram vias metabólicas que não são capazes de gerar ATP de forma rápida, mas produzem mais ATP por resíduo de glicose do que as vias das opinas e do lactato. A quarta principal via utilizada é a via dos fosfogênios, que são importantes durante períodos de intensa atividade e anoxia. A utilização da fosfoarginina é comum entre os invertebrados, enquanto a fosfocreatina é utilizada por vertebrados (Barnes *et al.* 1993, Livingstone 1991).

Segundo Abe *et al.* (2007), o *Marsupenaeus japonicus* (Bate, 1888) tem grandes de suas fontes energéticas na forma de fosfarginina e de glicogênio, que são usadas principalmente sob a condição de hipóxia e na recuperação, respectivamente. A estocagem de fosfarginina trabalha eficazmente como um tampão de ATP durante a hipóxia periódica que ocorre no habitat natural desta espécie, e a fonte é recuperada prontamente durante a o período de suprimento de oxigênio como um tampão

para a próxima hipóxia aquática.

As diferenças no metabolismo anaeróbico entre os grupos foram discutidas por Gnaiger (1983), o qual comenta que as vias que produzem propionato, acetato (outros produtos de vias anaeróbicas) e succinato são utilizados por animais que estão, freqüentemente, expostos a hipóxia durante períodos longos, uma vez que eles são energeticamente mais eficientes. Ao contrário, a via do lactato é menos eficiente, mas é capaz de uma grande produção de energia durante períodos curtos de atividade. Embora o lactato seja considerado o principal produto final do metabolismo anaeróbico em crustáceos, como mencionado anteriormente, algumas espécies como *Upogebia pugettensis* (Dana, 1852) e *Callianassa californiensis* pesquisadas por Zebe (1982), o isópodo *Saduria (Mesidotea) entomon* (Linnaeus, 1758) pesquisado por Hagerman & Szaniawska (1990) e o lagostim *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) pesquisado por Fujimori & Abe (2002) também produzem alanina além de lactato.

Em várias espécies de crustáceos foi observado um aumento nos níveis de lactato durante a anoxia, onde se pode destacar as pesquisas desenvolvidas por Gäde (1984) com *Orconectes limosus*, Taylor & Spicer (1987) com *Palaemon elegans* Rathk, 1937 e *Palaemon serratus* (Pennant, 1777), Hill *et al.* (1991) com *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758) e Schmitt & Uglow (1998) com *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). Fanjul-Moles *et al.* (1998) em uma pesquisa comparativa com duas espécies de lagostins, observaram que *P. clarkii* pode acelerar a glicólise anaeróbica e aumentar a concentração de lactato enquanto *Procambarus digueti* (Ortmann, 1905) parece incapaz, mostrando uma dependência maior do metabolismo aeróbico. Esse fato corrobora com várias pesquisas mostrando que animais mais tolerantes a anaerobiose apresentam maiores concentrações de lactato durante períodos de hipóxia/anoxia.

Na lagosta *N. norvegicus* embora tenha sido observada uma variação da concentração de lactato, ocorreu um aumento nesses níveis quando submetido em condições de hipóxia (Schmitt & Uglow 1998). Bridges & Brand (1980) comparando espécies de crustáceos que apresentam o hábito escavador com espécies que não apresentam esse hábito, verificaram que as primeiras diminuem mais rápido o nível de lactato durante a fase de recuperação do que os níveis de oxigênio, sendo que as segundas, esta resposta foi acompanhada por um aumento da freqüência cardíaca. O caranguejo *Cancer magister* (Dana, 1852) quando submetido à hipóxia reduziu a freqüência cardíaca e o volume sistólico e como consequência diminuiu o fluxo hemolinfático para os tecidos (McMahhon & Burnett 1990). Head & Baldwin (1986) constataram em *Cherax destructor* Clark, 1936 um aumento significativo da concentração de lactato muscular durante o período de recuperação após uma atividade muscular intensa.

Muitos trabalhos mostram que o aumento dos níveis

de L-lactato durante os períodos de hipóxia ou anoxia estaria associado a uma marcante mobilização de glicogênio. Em *C. maenas* um caranguejo de praia, os níveis de glicogênio tecidual diminuem somente após 6 horas de anoxia, já as concentrações de glicose e oligossacarídeos apresentaram-se reduzidas logo após o início da anoxia (Hill *et al.* 1991). Anderson *et al.* (1994) verificaram uma significativa diminuição da concentração de carboidratos teciduais quando submetiam o camarão *Calocaris macandreae* Bell, 1853 à anoxia ambiental. Zebe (1982), trabalhando com duas espécies de camarões de lodo (*U. pugettensis* e *C. californiensis*), verificou que o glicogênio é o único substrato para o metabolismo anaeróbico, sendo o L-lactato o principal produto acumulado na hemolinfa ao longo da anoxia ambiental. Teal & Carey (1967) constataram uma redução significativa dos níveis de glicogênio quando submetiam o caranguejo *Uca sp.* à anoxia.

Segundo Storey & Storey (2004) há duas limitações da glicólise anaeróbica quando o produto final é o lactato, uma delas é a baixa produção de ATP por glicose catabolisada e a outra limitação é a acidificação celular, pois o metabolismo anaeróbico sempre resulta em acidificação tecidual e baixo pH o que pode consequentemente resultar em consequências negativas para muitas enzimas celulares.

ESTRATÉGIA DA DEPRESSÃO METABÓLICA

Em resposta ao estresse da anoxia ambiental, os animais maximizam seu tempo de sobrevivência usando a depressão metabólica, uma estratégia comum com a qual eles podem reduzir seu metabolismo a uma taxa 10% e 30% de sua taxa metabólica normal quando em repouso (Lutz & Storey 1997, Hochachka & Lutz 2001). As vias anaeróbicas produzem somente uma fração do ATP, mecanismos como a depressão metabólica são capazes de reduzir a demanda energética durante a anoxia, sendo importantes para estabelecer um novo equilíbrio entre a produção e o consumo anaeróbico de ATP durante o período (Hochachka *et al.* 1996, Hochachka & Lutz 2001, Storey 1996, Storey 2002).

Além da depressão metabólica, outra adaptação ao ambiente hipóxico/anóxico é a redução na taxa de consumo de oxigênio (Hüppop 1986, Gillieson 1996, Gannon *et al.* 2001). Em espécies de caranguejos também foi observada uma diminuição no consumo de oxigênio, como foi sugerido por Santos *et al.* (1987) e Gannon *et al.* (2001), em suas pesquisas com os caranguejos *N. granulata* e *Cardisoma guanhumii* Latreille, 1825, respectivamente.

As espécies podem diminuir os seus consumos de oxigênio conforme a diminuição da concentração do mesmo no ambiente, como uma forma de adaptação. Dessa forma, os animais podem ser classificados em dois grupos: (1), reguladores, os quais mantêm o seu consumo de oxigênio (MO_2) independente da sua tensão (PO_2) e (2) conformadores, onde o consumo (MO_2) varia em proporção à tensão de oxigênio da água (Rei-

ber 1995).

A distinção entre conformadores e reguladores nem sempre é muito aparente, mesmo na comparação entre as espécies. Muitos animais regulam seu consumo de oxigênio independentemente da baixa tensão de oxigênio na água a alguns níveis críticos, abaixo dos quais eles se tornam conformadores de oxigênio. O ponto de inflexão é conhecido como ponto crítico, sendo utilizado como o padrão de encontro onde organismos são comparados à tolerância a hipóxia. Nesse ponto o organismo pode alternar usando metabolismo anaeróbico para manter parte de suas necessidades energéticas (Burnett 1997) como observado por Cochran & Burnett (1996) em três espécies estuarinas, *Leiostomus xanthurus* Lacépède, 1802, *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766) e *Palaemonetes pugio* (Holthuis, 1949) que produziram lactato, quando as pressões de oxigênio no ambiente foram inferiores a pressão crítica. Assim, o ponto crítico é uma ferramenta importante na avaliação das respostas adaptativas dos animais a hipóxia (Mangum & Van Winkle 1973, Herreid 1980), pois é um bom indicador da tolerância de um organismo a baixo consumo de oxigênio (Bridges & Brand 1980, Taylor & Spicer 1989).

Os níveis de oxigênio são determinados por variações ambientais e a maior dificuldade em comparar o consumo de oxigênio entre os grupos é que raramente conhecemos o limite de tolerância em relação às concentrações de oxigênio por parte dos animais, pois cada espécie apresenta seu próprio nível metabólico (Bennett 1978). O estresse dos animais, em ambientes anóxicos, depende das suas adaptações às condições ambientais (Hagerman 1998) e em resposta a esse estresse, os animais maximizam seu tempo de sobrevivência (Lutz & Storey 1997a, Hochachka & Lutz 2001).

MANUTENÇÃO DE ALTAS CONCENTRAÇÕES DE GLICOGÊNIO E FOSFATO

Entre as adaptações metabólicas que ajudam a tolerar as variações dos níveis de oxigênio estão as altas concentrações de glicogênio e fosfato. Altas depleções do glicogênio armazenado nos tecidos são minimizadas em organismos anaeróbicos facultativos através de um dos seguintes mecanismos: armazenamento de maiores níveis de glicogênio, maior eficiência na utilização das vias de fermentação ou a depressão das taxas de ATP (isto é, demanda energética) durante períodos de limitação ao oxigênio (Hochachka & Somero 1984).

Uma maior reserva de glicogênio, principal polissacarídeo armazenado nas células animais, foi observada em organismos que apresentam uma maior tolerância a anoxia do que em animais intolerantes a anoxia (Hochachka & Somero 1984, Lutz & Storey 1997b, Urich 1994). Maiores reservas de glicogênio foram observadas em todos os tecidos de *P. defossus*, quando comparado com *P. brasiliensis* (Silva-Castiglioni *et al.* 2010). Além de altas concentrações de glicogênio, as espécies de crustáceos tolerantes a hipóxia e/ou anoxia podem

também manter, freqüentemente, altos estoques de fosfoarginina, um composto de arginina e ácido fosfórico pertencente ao grupo de compostos denominados fosfatos de alta energia (fosfagênios) que desempenha um papel importante na manutenção do nível normal de ATP (tamponamento) (Tjeerdema *et al.* 1991).

O aumento das concentrações de metabólitos é uma estratégia adaptativa dos crustáceos ao ambiente hipóxico/anóxico (Storey & Storey 1990, Hervant & Mathieu 1995, Hervant & Mathieu 1995, Hervant *et al.* 1996, 1998 e 1999, Malard & Hervant 1999). Recentemente, Abe *et al.* (2007) observaram no camarão *Penaeus japonicus* (Bate, 1888) que a fosfoarginina é utilizada principalmente durante a hipóxia e o glicogênio é, principalmente, utilizado durante a fase de recuperação. A fosfoarginina funciona como tampão de ATP durante o período de hipóxia e o armazenamento é restabelecido durante o suprimento de oxigênio, sendo realizado pela arginina quinase, durante a anaerobiose.

Hervant & Mathieu (1995), comparando o tempo de sobrevivência à hipóxia entre duas espécies de crustáceos, constataram que *Niphargus rhenorhodanensis* (Schellenberg, 1937), uma espécie que vive sob baixa concentração de O₂ durante seis meses do ano, sobrevivia por um período significativamente maior à hipóxia severa que *G. fossarum*, que vive em águas bem oxigenadas. Os autores sugerem que esta diferença no tempo de sobrevivência entre as duas espécies seria determinada pelas elevadas concentrações de glicogênio e arginina fosfato assim como, por diferenças no padrão comportamental (hiperatividade seguida de quiescência) e respiratório (hiperventilação seguida de hipoventilação) de *Niphargus sp.* Níveis elevados de arginina fosfato foram observados no hepatopâncreas (1.12mmol/g) e no músculo (3.83 mmol/g) de *P. defossus*. Essa característica associada com as maiores concentrações de glicogênio, pode parcialmente explicar a alta resistência dessa espécie a baixas concentrações de oxigênio em suas galerias subterrâneas (Silva-Castiglioni *et al.* 2010).

De acordo com Buckup *et al.* (2008) tanto em machos quanto em fêmeas de *Parastacus defossus*, o glicogênio do hepatopâncreas e do músculo diminui no outono, sugerindo um aumento da utilização deste polissacarídeo para a síntese de ATP em um período subsequente (inverno) de diminuição dos níveis ambientais de oxigênio (hipóxia) e altas temperaturas ou durante períodos de escassez de alimento. No hepatopâncreas de *M. japonicus*, a fosfoarginina e os níveis de glicogênio são muito menores do que os do músculo, e diminuem durante a hipóxia (1.3 ~ 1.7 mg O₂/L), sugerindo que o tamponamento do ATP pela fosfoarginina não é efetivo e o glicogênio é depletado pelo hepatopâncreas (Abe *et al.* 2007).

Silva-Castiglioni *et al.* (2007), estudando *Parastacus varicosus* observaram que machos e fêmeas apresentaram uma diminuição drástica dos níveis de glicogênio no tecido muscular durante a primavera e o verão, estações nas quais os níveis de oxigênio na água são

mais baixos. De acordo com Baden *et al.* (1994), em *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758) depleção deste polissacarídeo no músculo durante a hipóxia ou o jejum sugere que o músculo pode estocar glicogênio, o qual estará mais acessível durante estes tipos de estresse.

ALTERAÇÕES DOS PADRÕES DE ATIVIDADE DE ENZIMAS DO METABOLISMO INTERMEDIÁRIO

Sob condições severas de hipóxia ambiental, os crustáceos necessitam regular a produção de enzimas proteicas chaves para a sobrevivência em ambientes hostis (Hochachka & Somero 2002). Portanto, pesquisas sobre determinadas enzimas, como a arginina quinase, a glicogênio sintase e fosforilase entre outras, podem ajudar a uma melhor compreensão sobre como os organismos conseguem sobreviver a ambientes hipóxicos e/ou anóxicos.

A arginine quinase é um dos principais membros da família das quinase fosfagênio que catalisa a transferência reversível de um fosfato de alta energia proveniente da molécula do fosfagênio da arginina fosfato de ADP para formar ATP (Ellington 2001). Essa enzima tem um papel fisiológico similar ao da creatina quinase no tamponamento de ATP estando amplamente distribuída nos invertebrados (moluscos, crustáceos, celenterados e equinodermos) e em muitos cordados inferiores (Watts 1975, Ellington 1989, Wallimann *et al.* 1992, Suzuki *et al.* 1997, 2000). A regulação da arginina quinase pode representar uma disposição de recuperação de oxigênio depois de um curto período de hipóxia no habitat natural como foi observado no camarão *Macrobrachium japonicus* (De Haan, 1835) por Abe *et al.* (2007), os quais observaram um reabastecimento nos estoques de fosfoarginina durante a recuperação da hipóxia.

Com relação a glicogênio sintase e fosforilase, sabe-se que são enzimas que estão envolvidas no metabolismo de glicogênio. A enzima glicogênio sintase está envolvida na síntese de glicogênio e a fosforilase na degradação deste metabólito (Oliveira *et al.* 2001). A regulação dessas enzimas, assim como a síntese de glicogênio e a mobilização de glicose foram analisadas no controle de metabolismo de carboidratos durante a anoxia e recuperação no hepatopâncreas de *N. granulata* por Oliveira *et al.* (2001) onde concluíram que a anoxia induziu uma marcante diminuição na síntese de reservas de carboidratos, acompanhado por um aumento na mobilização de glicogênio e na circulação dos níveis de glicose. O metabolismo de glicogênio nessa espécie parece ser controlado pela proporção da enzima glicogênio sintase em relação a glicogênio fosforilase.

A regulação de enzimas, principalmente as envolvidas no metabolismo da glicólise, assim como altas concentrações de glicogênio e fosfato nos tecidos têm importância fundamental no metabolismo de energia dos animais em condições hipóxicas/anóxicas. Uma

vez que, o armazenamento de glicogênio pode ser muito importante sob essas condições bem como, as enzimas envolvidas no seu metabolismo (glicogênio sintase e fosforilase). Oliveira & Da Silva (1997) comprovaram a capacidade de síntese de glicose no hepatopâncreas de *N. granulata* incubado em presença de L-alanina ou de L-lactato, associada a uma alta atividade da enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase.

Oliveira *et al.* (2004) observou que o caranguejo *N. granulata* após oito horas de anoxia demonstram uma marcante diminuição na síntese das reservas de carboidratos no hepatopâncreas, fato este acompanhado pelo aumento da mobilização de glicogênio, dos níveis de glicose e de L-lactato circulantes. Já durante o período de recuperação, ocorreu a ativação de processos de síntese no hepatopâncreas, com diminuição dos níveis glicêmicos na hemolinfa.

PERÍODO DE RECUPERAÇÃO

Além da tolerância a hipóxia/anoxia os animais precisam enfrentar períodos de reoxigenação posterior ao estresse hipóxico/anóxico. Diversas pesquisas procuram avaliar as mudanças ocorridas durante a fase aeróbica de recuperação do animal. A fase de recuperação tem importância funcional para o organismo, pois é nesse período que os produtos do metabolismo anaeróbico precisam ser reoxidados ou excretados e as reservas energéticas utilizadas durante a anoxia precisam ser restabelecidas (Ellington 1983). Segundo Hervant & Renault (2002) a rápida recuperação das reversas energéticas pode ser uma resposta adaptativa de várias espécies subterrâneas como estratégias para sobreviverem em ambientes onde há restrição de oxigênio.

Dois processos básicos ocorrem durante o período de recuperação permitindo o retorno de um organismo ou tecido à condição metabólica anterior a anoxia: o restabelecimento das concentrações de ATP e de fosfogênios e a distribuição dos produtos finais do metabolismo anaeróbico para excreção, oxidação ou reconversão para substratos anaeróbicos, entre estes o glicogênio. Além disso, outros ajustes devem ser realizados, como o referente ao pH intracelular, reduzido pelo acúmulo de produtos finais ácidos. Uma manifestação de todos esses processos celulares reflete-se no fenômeno do débito de oxigênio, ou seja, um aumento significativo do consumo de oxigênio durante a fase de recuperação, sendo esta resposta proporcional ao grau e ao tempo de exposição prévia à baixa concentração de O₂ (Teal & Carey 1967, Thompson & Pritchard 1969, Bridges 1976, Taylor *et al.* 1977, Bridges & Brand 1980, Hill *et al.* 1991). Bridges & Brand (1980), comparando espécies de crustáceos que vivem em tocas com àquelas não cavadoras, verificaram que as primeiras diminuem mais rapidamente que as segundas os níveis de L-lactato durante a fase de recuperação, esta resposta foi acompanhada de um aumento do débito e da frequência cardí-

aca, o que pode indicar que a energia necessária para o período de recuperação seja produzida essencialmente de forma aeróbica (Ellington 1983).

Ecologicamente, é muito importante que os organismos recuperem rapidamente e completamente o estresse hipóxico quando os níveis de oxigênio estão disponíveis novamente no ambiente. Esta recuperação implica em uma restauração de compostos de alta energia, tão bem como a disposição de produtos finais anaeróbicos que podem estar dispostos por três modos diferentes durante a fase de recuperação: (1) pela completa oxidação (Marqueze *et al.* 2006), (2) pela conversão em produtos armazenados utilizando a via gliconeogênese para converter o lactato em glicogênio (Oliveira *et al.* 2004), essa via é responsável pela síntese *de novo* de glicose a partir de precursores como lactato, glicerol, aminoácidos, piruvato e propionato (Moon 1988, Marks *et al.* 1996, Corssmitt *et al.* 2001) e (3) pela excreção (Ellington 1983).

A excreção de lactato não é comum entre os crustáceos (Zebe 1991). No entanto, Malard & Hervant (1999) observaram em cinco espécies de crustáceos submetidos à hipóxia, mas verificaram uma maior abundância nas espécies hipógeas do que nas epígeas. Os autores sugerem que esta excreção, em hipóxia rigorosa, pode ser um simples modo de luta contra acidose metabólica. A acidose é produzida pelo aumento da concentração de CO₂ na água (hipercapnia). Como o PCO₂ na água aumenta, o PCO₂ nos tecidos dos animais também aumenta, conduzindo a uma elevação de ambos os íons hidrocarbonetos e íons hidrogênios na água, tanto quanto nos tecidos, tornando o pH ácido (Burnett 1997).

A pesquisa de Malard & Hervant (1999) também contribuiu de forma significativa porque além uma revisão sobre o fornecimento do oxigênio e a sensibilidade dos organismos hipógeos a baixas concentrações de oxigênio (menor que 3.0 mg L⁻¹) os pesquisadores realizaram uma comparação entre três espécies hipógeas, os anfípodos *Niphargus virei* Chevreux, 1896 e *N. rhenorhodanensis* e o isópodo *Stenasellus virei* Dolfus, 1897 com duas espécies epígeas, o anfípodo *G. fossarum* e o isópodo *Asellus aquaticus* (Linnaeus, 1758). Entre os resultados obtidos observaram uma maior tolerância a hipóxia nas espécies hipógeas, mas estas não sobreviveram por muito tempo (46.7 a 61.7h) a hipóxia rigorosa (níveis de oxigênio dissolvido menor que 0,01mg.L⁻¹O₂). Foi também observado um armazenamento de glicogênio e fosfogênios e baixa taxa metabólica podendo ser uma adaptação ao baixo nível de oxigênio.

Períodos de recuperação pós-hipóxia foram analisados por Silva-Castiglioni *et al.* (2011) em duas espécies de lagostins, *P. defossus* uma espécie fossorial e *P. brasiliensis* uma espécie que vive em ambientes lóticos com maiores níveis de oxigênio. Os animais desenvolveram várias estratégias metabólicas, principalmente *P. defossus* o qual restabeleceu suas reservas mais de forma mais completa e rápida do que *P. brasiliensis*. Essa

resposta era esperada, pois *P. defossus* habita galerias subterrâneas com baixos níveis de oxigênio.

Reduções do consumo de oxigênio, da produção de calor, da atividade locomotora e da frequência cardíaca foram observadas em *C. maenas* quando submetido à anoxia experimental, contudo, os níveis de L-lactato tecidual aumentaram e a ocorrência de distúrbios ácido-básicos foi verificada. Entretanto, durante a fase de recuperação em condições de normóxia, os animais apresentaram um pronunciado aumento do consumo de O₂, da frequência e do débito cardíaco. Os níveis de L-lactato tecidual aumentaram somente na fase inicial da recuperação, e os autores sugerem que a glicólise (com acúmulo de L-lactato) teria um importante papel na produção de energia durante as primeiras horas da fase de recobro após anaerobiose ambiental (Hill *et al.* 1991). Similarmente, Head & Baldwin (1986) constataram em *C. destructor*, um aumento significativo da concentração de L-lactato muscular durante o período de recuperação após uma atividade muscular intensa. Onnen & Zebe (1983) também verificaram um aumento da concentração de L-lactato na hemolinfa de *Cancer cangron* Linnaeus, 1758 durante a hipóxia funcional e após 30 minutos do início da fase de recuperação.

Os organismos evoluíram de maneira a se tornarem capazes de utilizar o oxigênio para a produção de energia, desenvolvendo assim sistemas respiratórios e circulatórios eficientes para assegurar o fornecimento adequado de oxigênio aos diferentes órgãos dos organismos de diferentes habitats (Lutz & Storey 1997b). Entretanto, quando os níveis de oxigênio ambiental estão reduzidos ou ausentes, ou quando esses sistemas não podem fornecer oxigênio a uma taxa suficiente para satisfazer a demanda metabólica, a anaerobiose é muito importante, assim como outras estratégias adaptativas como a depressão metabólica e as altas concentrações de fosfagênio e glicogênio, como já mencionadas, são fundamentais para a sobrevivência das espécies.

As únicas pesquisas no Brasil sobre as adaptações metabólicas das espécies de crustáceos em hipóxia/anoxia foram às desenvolvidas com o caranguejo semi-terrestre *N. granulata* por Oliveira *et al.* (2001, 2004), Marqueze *et al.* (2006), Kirst (2007) e Ribarcki (2007) e com os lagostins, *P. defossus* e *P. brasiliensis* pesquisados por Silva-Castiglioni *et al.* (2010). Devido à escassez de informações sobre as adaptações dos crustáceos aquáticos em ambiente hipóxico/anóxico no Brasil, pesquisas sobre essas adaptações são necessárias para o conhecimento e melhor entendimento da dinâmica para a sobrevivência das espécies em ambientes hipóxicos/anóxicos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Brasil), pela bolsa de pesquisador nível 2 dada à Dra. Guendalina Turcato Oliveira.

REFERÊNCIAS

- ABE, H., HIRAI, S. & OKADA, S. 2007. Metabolic responses and arginine kinase expression under hypoxic stress of the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 146A: 40-46.
- ANDERSON, S.L., TAYLOR, A.C. & ATKINSON, R.J.A. 1994. Anaerobic metabolism during anoxia in the burrowing shrimp *Callinectes macandreae* Bell (Crustacea, Thalassinidea). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 108A: 515-522.
- BADEN, S.P., DEPLEDGE, M.H. & HAGERMAN, L. 1994. Glycogen depletion and altered copper and manganese handling in *Nephrops norvegicus* following starvation and exposure to hypoxia. *Marine Ecology Progress Series*, 103: 65-72.
- BARNES, R.S.K., CALOW, P. & OLIVE, P.S.W. 1993. *The invertebrates: a new synthesis*. Oxford: Blackwell Science. 488 p.
- BENNETT, A.F. 1978. Activity metabolism of lower vertebrates. *Annual Review of Physiology*, 40: 447-469.
- BRIDGES, C.R. & BRAND, A.T. 1980. The effect of hypoxia on oxygen consumption and blood lactate levels of some marine Crustacea. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 65A: 399-409.
- BUCKUP, L., DUTRA, B.K. & RIBARCKI, F.P. 2008. Seasonal variations in the biochemical composition of the crayfish *Parastacus defossus* (Crustacean, Decapoda) in its natural environment. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 149A: 59-67.
- BURNETT, L.E. 1997. The challenges of living in hypoxic and hypercapnic aquatic environments. *American Zoologist*, 37: 633-640.
- CHILDRESS, J.J. & SEIDEL, B.A. 1998. Life at stable low oxygen levels: adaptations of animals to oceanic oxygen minimum layers. *Journal of Experimental Biology*, 201: 1223-1232.
- COCHRAN, R.E. & BURNETT, L.E. 1996. Respiratory responses of the salt marsh animals, *Fundulus heteroclitus*, *Leiostomus xanthurus*, and *Palaemonetes pugio* to environmental hypoxia and hypercapnia and to the organophosphate pesticide, azinphosmethyl. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 195: 125-144.
- CORSSMITT, E.P., ROMINJ, A. & SAUERWEIN, H.P. 2001. Regulation of glucose production with special attention to non classical regulatory mechanisms: a review. *Metabolism Clinical and Experimental*, 50: 742: 755.
- ELLINGTON, W.R. 1983. The recovery from anaerobic metabolism in invertebrates. *The Journal of Experimental Zoology*, 228: 431-444.
- ELLINGTON, W.R. 1989. Phosphocreatine represents a thermodynamic and functional improvement over other muscle phosphagens. *Journal of Experimental Biology*, 143: 177-194.
- ELLINGTON, W.R. 2001. Evolution and physiological roles of phosphagen systems. *Annual Reviews of Physiology*, 63: 289-325.
- FANJUL-MOLES, M.L., BOSQUES-TISTLER, T.B., PRIETO-SAGREDO, J., CASTANÓN-CERVANTES, O. & FERNÁNDEZ-RIVERA-RÍO, L. 1998. Effect of variation in photoperiod and light intensity on oxygen consumption, lactate concentration and behavior in crayfish *Procambarus clarkii* and *Procambarus dugueti*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 119A(1): 263-269.
- FUJIMORE, T. & ABE, H. 2002. Physiological roles of free D- and L-alanine in the crayfish *Procambarus clarkii* with special reference to osmotic and anoxic stress responses. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 131A: 893-900.

- GÄDE, G. 1983. Energy metabolism of arthropods and mollusks during environmental and functional anaerobiosis. *Journal of Experimental Zoology*, 228: 415-429.
- GÄDE, G. 1984. Effects of oxygen deprivation during anoxia and muscular work on the energy metabolism of the crayfish, *Orconectes limosus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 77: 495-502.
- GANNON, A.T., ARUNAKUL, N. & HENRY, R.P. 2001. Respiratory, cardiovascular, and hemolymph acid-base changes in the amphibious crab, *Cardisoma guanhumi*, during immersion and emersion. *Marine and Freshwater Behavior and Physiology*, 34: 73-92.
- GILLIESON, D.S. 1996. *Caves: Processes, Development*. Oxford, England and Malden, Massachusetts: Blackwell Publishers. 324 p.
- GNAIGER, E. 1983. Heat dissipation and energetic efficiency in animal anaerobiosis: economy contra power. *Journal of Experimental Zoology*, 228: 471-490.
- GONÇALVES, A.A. 1993. *Adaptações metabólicas do caranguejo Chasmagnathus granulatus (Dana, 1851) (Crustácea: Decapoda: Grapsidae) durante a anoxia ambiental*. Monografia (Graduação em Oceanografia Biológica). FURG, Rio Grande, 1993.
- GRAY, M.W., BURGER, G. & LANG, B.F. 1999. Mitochondrial evolution. *Science*, 283: 1467-1481.
- GUPPY, M., FUERY, C.J. & FLANIGAN, J.E. 1994. Biochemical principles of metabolic depression. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 109B(2): 175-189.
- HAGERMAN, L. 1998. Physiological flexibility: a necessity for life in anoxic and sulphidic habitats. *Hydrobiologia*, 375/376: 241-254.
- HAGERMAN, L. & SZANIAWSKA, A. 1990. Anaerobic metabolic strategy of the glacial relict isopod *Saduria (Mesidotea) entomon*. *Marine Ecology Progress Series*, 59: 91-96.
- HEAD, G. & BALDWIN, J. 1986. Energy metabolism and the fate of lactate during recovery from exercise in the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 37: 641-646
- HERREID, C.F. 1980. Hypoxia in invertebrates. *Comparative Biochemistry*, 67: 311-320.
- HERVANT, F. & MATHIEU, J. 1995. Ventilatory and locomotory activities in anoxia subsequent recovery of epigeal and hypogean crustacean. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris*, 318 (5): 585-592.
- HERVANT, F., MATHIEU, J., GARIN, D. & FRÉMINET, A. 1996. Behavioral, ventilatory and metabolic responses of the hypogean amphipod *Niphargus virei* and the epigeal isopod *Asellus aquaticus* to severe hypoxia and subsequent recovery. *Physiological Zoology*, 69: 1277-1300.
- HERVANT, F., MATHIEU, J. & MESSANA, G. 1997. Locomotory, ventilatory and metabolic responses of the subterranean *Stenasellus virei* (Crustacea, Isopoda) to severe hypoxia and subsequent recovery. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris*, 320(2): 139-148.
- HERVANT, F., MATHIEU, J. & MESSANA, G. 1998. Oxygen consumption and ventilation in declining oxygen tension and posthypoxic recovery in epigeal and hypogean aquatic crustaceans. *Journal of Crustacean Biology*, 18: 717-727.
- HERVANT, F., GARIN, D., MATHIEU, J. & FRÉMINET, A. 1999. Lactate metabolism and glucose turnover in the subterranean crustacean *Niphargus virei* during post-hypoxic recovery. *Journal of Experimental Biology*, 202: 279-292.
- HERVANT, F. & RENAULT, D. 2002. Long-term fasting and reaerimentation in hypogean and epigeal isopods: a proposed adaptive strategy for groundwater organisms. *The Journal of Experimental Biology*, 205: 2079-2087.
- HILL, A.D., TAYLOR, A.C. & STRANG, R. H. C. 1991. Physiological and metabolic responses of the crab *Carcinus maenas* (L.) during environmental anoxia and recovery. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 150: 51-62.
- HOCHACHKA, P.W. 1980. *Living without oxygen. Closed and Open Systems in Hypoxia Tolerance*. New York: Harvard University Press.
- HOCHACHKA, P.W. 1986. Defense strategies against hypoxia and hypothermia. *Science*, 231: 234-238.
- HOCHACHKA, P.W. & SOMERO, G.N. 1984. *Biochemical adaptation*. Princeton: Princeton University Press. 181 p.
- HOCHACHKA, P.W. & SOMERO, G.N. 2002. *Biochemical adaptation: mechanisms and process in physiological evolution*. Oxford: Oxford University Press. 466 p.
- HOCHACHKA, P.W., BUCK, L.T., DOLL, C. J. & LIND, S.C. 1996. Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93: 9493-9498.
- HOCHACHKA, P.W. & LUTZ, P.L. 2001. Mechanism, origin, and evolution of anoxia tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 130 B (4): 435-459.
- HÜPPOP, K. 1986. Oxygen consumption of *Astyanax fasciatus* (Characid Pisces): a comparison of epigeal and hypogean populations. *Environmental Biology of Fishes*, 17: 299-308.
- KIRST, I.B. 2007. *Efeito da anoxia e da recuperação sobre o metabolismo de carboidratos em brânquias de Chasmagnathus granulatus alimentados com uma dieta rica em proteínas ou carboidratos*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Fisiologia) - Instituto de Biociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- LIVINGSTONE, D.R. 1991. Origins and evolution of pathways of anaerobic metabolism in the animal kingdom. *American Zoology*, 31: 522-534.
- LUTZ, P.L. & NILSSON, G.E. 1997. Diverse strategies for anoxic brain survival - glycolysis on or off. *Journal of Experimental Biology*, 200: 411-419.
- LUTZ, P.L. & STOREY, K.B. 1997a. Adaptations to variations in oxygen tension by vertebrates and invertebrates. In: DANTZLER, W.H. (Ed.) *Handbook of Physiology, Section 13, Comparative Physiology*. v. 2. Oxford: Oxford University Press. p. 1479-1522.
- LUTZ, P.L. & STOREY, K.B. 1997b. Strategies for dealing with variations in gas tensions—vertebrates and invertebrates. In: DANTZLER, W.H. (ed.) *Handbook of Physiology, Section 13, Comparative Physiology*. Oxford: Oxford University Press. p. 1479-1522.
- MALARD, F. & HERVANT, F. 1999. Fornecimento (estoque-supply) de oxigênio e adaptações dos animais em água subterrânea. *Freshwater Biology*, 41: 1-30.
- MANGUM, C. & VAN WINKLE, W. 1973. Responses of aquatic invertebrates to declining oxygen conditions. *American Zoology*, 13: 529-541.
- MARGALEF, R. 1974. *Ecologia*. Barcelona: Omega. 951 p.
- MARKS, D., MARKS, A.D. & SMITH, C.M. 1996. *Basic medical biochemistry*. Baltimore: RR Donnelley and Sons. 806 p.

- MARQUEZE, A., KUCHARSKI, L. C.R. & DA SILVA, R.S.M. 2006. Effects of anoxia and post-anoxia recovery on carbohydrate metabolism in the muscle of *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on carbohydrate-rich or high-protein diets. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2(332): 198-205.
- McMAHON, B.R. & BURNETT, L.E. 1990. The crustacean open circulatory system: a reexamination. *Physiology Zoology*, 63: 35-71.
- MOON, T.W. 1988. Adaptation, Constraint, and Function of gluconeogenic pathway. *Canadian Journal of Zoology*, 66(5): 1059-1068.
- NILSSON, G.E. 2001. Surviving anoxia with the brain turned on. *News in Physiological Science*, 16: 217-221.
- NILSSON, G.E. & LUTZ, P.L. 2004. Anoxia tolerant brains. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 24: 475-486.
- OLIVEIRA, G.T. & DA SILVA, R.S.M. 1997. Gluconeogenesis in hepatopancreas of *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 118A: 1429-1435.
- OLIVEIRA, G.T., ROSSI, I.C. & DA SILVA, R.S.M. 2001. Carbohydrate metabolism during anoxia and post-anoxia recovery in *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate diets. *Marine Biology*, 139: 335-342.
- OLIVEIRA, G.T., EICHELER P., ROSSI, I.C. & DA SILVA, R.S.M. 2004. Hepatopancreas gluconeogenesis during anoxia and post anoxia recovery in *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate rich diets. *Journal of Experimental Zoology*, 301A: 240-248.
- ONNEN, T. & ZEBE, E. 1983. Energy metabolism in the tail muscles of the shrimp *Crangon crangon* during work and subsequent recovery. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 74A: 833-838.
- RANDALL, D., BURGGREN, W. & FRENCH, K. 2000. *Fisiologia Animal. Mecanismos e Adaptações*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 729 p.
- Reiber, C.L. 1995. Physiological adaptations of crayfish to the hypoxic environment. *American Zoology*, 35: 1-11.
- RIBARCKI, F.P. 2007. *Efeito da anoxia e recuperação sobre o metabolismo de carboidratos em Chasmagnathus granulata alimentados com dieta rica em proteínas ou rica em carboidratos*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Fisiologia) - Instituto de Biociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- SANTOS, E.A., BALDISSEROTO, B., BIANCHINI, A., COLARES, E.P., NERY, L.E.M. & MANZONI, G.C. 1987. Respiratory mechanisms and metabolic adaptations of an intertidal crab, *Chasmagnathus granulata* Dana 1851. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 88A: 21-25.
- SANTOS, E.A. & KELLER, R. 1993. Regulation of circulating levels of the crustacean hyperglycemic hormone: evidence for a dual feedback control system. *Journal of Comparative Physiology*, 163B(5): 374-379.
- SCHMIDT, H. & KAMP, G. 1996. The Pasteur in facultative anaerobic metazoan. *Experientia*, 52: 440-448.
- SCHMITT, A.S.C. & UGLOW, R.F. 1998. Metabolic responses of *Nephrops norvegicus* to progressive hypoxia. *Aquatic Living Resources*, 11(2): 87-92.
- SILVA-CASTIGLIONI, D., DUTRA, B.K., OLIVEIRA, G.T. & BOND-BUCKUP, G. 2007. Seasonal variations in the intermediate metabolism of *Parastacus varicosus* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 148A: 204-213.
- SILVA-CASTIGLIONI, D., OLIVEIRA, G.T. & BUCKUP, L. 2010. Metabolic responses of *Parastacus defossus* and *Parastacus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) to hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 156A: 436-444.
- SILVA-CASTIGLIONI, D., OLIVEIRA, G.T. & BUCKUP, L. 2011. Metabolic responses in two species of crayfish (*Parastacus defossus* and *Parastacus brasiliensis*) to post-hypoxia recovery. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 159A: 332-338.
- SPICER, J.I., DANDO, C.L. & MALTBY, L. 2002. Anaerobic capacity of a crustacean sensitive to low environmental oxygen tensions, the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.). *Hydrobiologia*, 477: 189-194.
- STOREY, K.B. 1987. Tissue-specific controls on carbohydrate catabolism during anoxia in goldfish. *Physiological Zoology*, 60: 601-607.
- STOREY, K.B. 1996. Metabolic adaptations supporting anoxia tolerance in reptiles: recent advances. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 113B(1): 23-35.
- STOREY, K.B. 2002. Life in the slow lane: molecular mechanisms of estivation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 133A: 733-754.
- STOREY, K.B. & STOREY, J.M. 1990. Metabolic rate depression and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation, estivation. *Quarterly Review of Biology*, 65: 145-174.
- STOREY, K.B. & STOREY J.M. 2004. Oxygen limitation and metabolic rate depression. In: STOREY, K.B. (Ed.) *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. Hoboken: Wiley-Liss. p. 415-442.
- SUZUKI, T., KAWASAKI, Y. & FURUKOHRI, T. 1997. Evolution of phosphagen kinase: isolation, characterization and cDNA-derived amino acid sequence of two-domain arginine kinase from the sea anemone *Anthopleura japonicus*. *Biochemical Journal*, 328: 301-306.
- SUZUKI, T., FUKUTA, H., NAGATO, H. & UMEKAWA, M. 2000. Arginine kinase from *Nautilus pompilius*, a living fossil. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(31): 23884-23890.
- TAYLOR, A.C. & SPICER, J.I. 1987. Metabolic responses of the prawns *Palaemon elegans* and *P. serratus* (Crustacea: Decapoda) to acute hypoxia and anoxia. *Marine Biology*, 95: 521-530.
- TAYLOR, E.W. & SPICER, J.I. 1989. Interspecific comparison of the respiratory response to declining oxygen tension and the oxygen transforming properties of the blood of some *Palaemonid* prawns (Crustacea: Palaemonidae). *Marine Behaviour and Physiology*, 14: 81-91.
- TEAL J.M. & CAREY, F.G. 1967. The metabolism of marsh crabs under conditions of reduced oxygen pressure. *Physiology Zoology*, 40: 83-91.
- THOMPSON, R.K. & PRITCHARD, A.W. 1969. Respiratory adaptations of two burrowing crustaceans. *Callinassa californiensis* and *Upogebia pugettensis*. *The Biological Bulletin*, 136: 274-287.
- TJEERDEMA, R.S., FAN, T.W., HIGASHI, R.M. & CROBY, D.G. 1991. Sublethal effects of pentachlorophenol in the abalone (*Haliotis rufescens*) as measured by *in vivo* 31P NMR spectroscopy. *Biochemical Toxicology*, 6(1): 45-56.

- URICH, K. 1994. *Comparative Animal Biochemistry*. New York: Springer. 782 p.
- WALLIMANN, T., WYSS, M., BRDIEZKA, D., NICOLAY, K. & EPPENBERGER, H.M. 1992. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes: the phosphor-creatine circuit for cellular energy homeostasis. *Biochemical Journal*, 281: 21-40.
- WATTS, D.C. 1975. Evolution of phosphagens along the chordate line. *Symposia of the Zoological Society of London*, 36: 105-127.
- ZEBE, E. 1982. Anaerobic metabolism in *Upogebia pugettensis* and *Callinassa californiensis* (Crustacea: Thalassinidea). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 72B: 613-617.
- ZEBE, E. 1991. Arthropods. In: BRYANT, C. (Ed). *Metazoan Life Without Oxygen*. London: Chapman and Hall. p. 186-217.