

## AVALIAÇÃO DO EFEITO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA “A” SOBRE PORCENTAGENS DE FAGOCITOSE EM HEMÓCITOS E CONCENTRAÇÃO DA GLICOSE NA HEMOLINFA DO CAMARÃO-ROSA *Farfantepenaeus paulensis*

GABRIELA HOLLMANN<sup>1\*</sup>; RONALDO O. CAVALLI<sup>2</sup>; GILMA S. TRINDADE<sup>1</sup>; PABLO E. MARTÍNEZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas (Fisiologia Animal Comparada), Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Campus Carreiros, Avenida Itália, km 8, Rio Grande – RS

<sup>2</sup>Estação Marinha de Aquicultura (EMA-FURG), Caixa Postal 474, Cassino, Rio Grande – RS.

E-mails: gabihbr@yahoo.com.br, Cavalli@micos.com.br, gilma@octopus.com.br, dcfpem@furg.br.

\* Autor correspondente: gabihbr@yahoo.com.br

### RESUMO

Os crustáceos estão naturalmente expostos à radiação ultravioleta, podendo esta produzir mudanças bioquímicas e na função imune e predispor ao aparecimento de doenças. **Objetivo:** Quantificar a concentração de glicose na hemolinfa e avaliar o índice fagocitário em hemócitos de camarões *Farfantepenaeus paulensis* expostos à radiação UVA. **Metodologia:** 21 camarões foram divididos em três grupos submetidos à radiação UVA (tratamentos de 1, 5 e 10 dias) e grupo controle. A fagocitose foi efetuada em lâminas, nas quais os hemócitos foram avaliados pela sua capacidade de ingerir leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*). A glicose foi determinada por método enzimático (glicose oxidase). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio-padrão e efetuada análise de variância e teste de Tuckey “a posteriori”. **Resultados:** A fagocitose (%) e a concentração de glicose (mmol/l) dos animais expostos por 1, 5 e 10 dias e do grupo controle foram respectivamente, 71,70 $\pm$ 2,03 e 0,36 $\pm$ 0,19; 70,0 $\pm$ 4,73 e 0,88 $\pm$ 0,47; 63,80 $\pm$ 3,67 e 0,18 $\pm$ 0,03 e 85,65 $\pm$ 2,81 e 2,41 $\pm$ 0,74. O grupo controle apresentou maior índice fagocitário ( $P>0,05$ ) e os animais expostos durante 10 dias mostraram o índice inferior ( $P>0,05$ ). Observou-se menor concentração de glicose em todos os grupos expostos em relação ao controle ( $P>0,05$ ). **Conclusão:** Os resultados corroboram a hipótese de imunodepressão pela exposição à UVA.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fagocitose, UVA, Glicose, *Farfantepenaeus paulensis*, Crustáceos.

### ABSTRACT

#### Percentages phagocytosis' evaluation uva irradiation effects of haemocytes and glucose's concentration haemolymph in pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*

The crustacean are naturally exposed to ultraviolet radiation, it can produce biochemical and in immune function changes and predispose to diseases manifestation. **Objective:** To quantify the haemolymph glucose concentration and evaluate the phagocytary index of haemocytes in shrimp *Farfantepenaeus paulensis* exposed to UVA irradiation. **Methodology:** 21 shrimps were divided in one control group and 3 treatment groups exposed to UVA radiation for 1, 5 and 10 days. Phagocytosis was carried out in slide glass, the haemocytes capacity to engulf heat-killed yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) were analyzed. Glucose was determined by enzymatic method (oxidase glucose). The results were expressed by mean  $\pm$  standard deviations and analyzed by ANOVA follow Tuckey test. **Results:** Phagocytosis (%) and the glucose concentration (mmol/l) of the animals exposed for 1, 5 and 10 days and control group were respectively, 71.70 $\pm$ 2.03 and 0.36 $\pm$ 0.19; 70.0 $\pm$ 4.73 and 0.88 $\pm$ 0.47; 63.80 $\pm$ 3.67 and 0.18 $\pm$ 0.03 and 85.65 $\pm$ 2.81 and 2.41 $\pm$ 0.74. Control group showed higher phagocytosis index ( $P>0.05$ ) and the exposition during 10 days impaired the index ( $P>0.05$ ). It was observed lower concentration of glucose in groups exposed than to control group ( $P>0.05$ ). **Conclusion:** The results reached with the hypothesis of immunosuppression by the exposition to UVA.

**KEY-WORDS:** Phagocytosis, UVA, Glucose, *Farfantepenaeus paulensis*, Crustacean.

## INTRODUÇÃO

No estuário da Lagoa dos Patos (RS), salienta-se a exploração do camarão-rosa, *Farfantepenaeus paulensis*, como meio de sustento de mais de 6500 famílias. As safras anuais capturadas pela pesca artesanal apresentam flutuações que vão de 500 a 8.000 toneladas por ano. (D'Incao *et al.* 2002).

Apesar do destaque do Brasil na carcinocultura mundial, termos de rendimento anual/há, o principal fator limitante para o sucesso, atualmente, consiste no controle das infecções. O aumento na incidência e prevalência de doenças está relacionado à alta densidade populacional requerida nos cultivos, propiciando o rápido alastramento dos agentes infecciosos, resultando geralmente em mortalidades

maciças, as quais são influenciadas pela presença de patógenos, poluentes, limitações no suprimento de alimentos e por fatores ambientais como alterações climáticas globais.

Além da cutícula rígida, que funciona como uma barreira física protetora contra agressões e invasão de patógenos, a integridade corpórea dos crustáceos é mantida por seu sistema imunológico. Assim como outros invertebrados, os crustáceos contam apenas com o sistema imune inato ou natural, diferentemente dos vertebrados, que possuem, além deste, o sistema adaptativo ou adquirido (Barracco *et al.* 2001).

Os diversos mecanismos que contribuem para a resistência não-específica a doenças oferecem proteção imediata contra ampla variedade de

patógenos e substâncias estranhas, e seus mecanismos de resistência incluem as barreiras externas, mecânica e química, fornecidas pela epiderme e mucosas; e várias defesas não-específicas internas, incluindo proteínas antimicrobianas, células citotóxicas naturais e fagócitos (Barracco *et al.* 2001).

A fagocitose nos invertebrados, assim como nos vertebrados, é o primeiro sistema de defesa contra a invasão de microrganismos. Neste processo, o agente estranho é englobado, interiorizado e destruído intracelularmente pelos fagócitos através de mecanismos degradativos e microbicidas.

Os crustáceos estão constantemente expostos às mudanças climáticas globais, como a radiação ultravioleta (UV), a qual pode provocar mudanças bioquímicas e alterar a expressão gênica, comprometendo a integridade da epiderme, as propriedades da imunidade inata e predispor o aparecimento de processos patológicos (Barracco *et al.*, 2001).

Em muitos ambientes aquáticos a radiação ultravioleta é eficientemente absorvida por partículas de matéria orgânica dissolvida. Em camadas profundas de água e, particularmente, em águas turbidas, os organismos aquáticos são bem protegidos da UV. Entretanto, os organismos que habitam águas oligotróficas, águas de superfície, ou mesmo aqueles que costumam se expor frequentemente ao sol estão sujeitos a altas intensidades de UV (Kaweewat & Hofer 1997).

A morte celular induzida pelas radiações UVB (290-320 nm) e UVC (200-290 nm) leva à condensação da cromatina, diminuição do volume celular e extrusão de organelas citoplasmáticas, que constituem alterações morfológicas, as quais determinam a morte por apoptose (Dive *et al.* 1992, Godar & Lucas 1995). A radiação UV induz apoptose aparentemente por duas vias distintas, de acordo com o comprimento de onda da radiação. A apoptose induzida pelo UVB e UVC depende da síntese de proteínas e ocorre cerca de 20 horas após a irradiação das células, enquanto que a apoptose induzida pela UVA parece ser independente de síntese protéica e ocorre cerca de 4 horas após a irradiação (Godar, 1996). São vários os trabalhos demonstrando que a radiação UVA provoca

preferencialmente danos ao nível citoplasmático celular e pouco a nível nuclear; ao contrário das radiações UVB e UVC, as quais provocam danos preferenciais nucleares (Kochevar 1990, Beer *et al.* 1993).

Os níveis de glicose na hemolinfa, necessários ao funcionamento de órgãos e músculos, são influenciados por fatores endógenos e exógenos, incluindo principalmente ritmo circadiano (Hall & Van Ham 1998), estágio de muda (Telford 1968a, Chang & O'Connor 1983), condição nutricional (Meenakshi & Scheer 1961), temperatura (Kuo & Yang, 1999), cativeiro, manejo e exposição ao ar (Telford 1968b, Santos & Keller 1993a, Speed *et al.* 2001). O Hormônio Hiperglicêmico de Crustáceos (CHH – crustacean hyperglycaemic hormone) produzido pelo complexo órgão-X/glândula do seio desempenha importante função na homeostase da glicose, através da sua mobilização, proveniente do glicogênio armazenado nos músculos e glândula digestiva (Santos *et al.* 1988, Santos & Keller 1993a, 1993b).

Quando os níveis de glicose na hemolinfa estão baixos, o complexo órgão-X/glândula do seio secreta o hormônio CHH e isso induz a hidrólise do glicogênio com o conseqüente incremento das concentrações de glicose na hemolinfa. De modo oposto, quando as concentrações de glicose na hemolinfa estão altas, a liberação do CHH é inibida, revertendo o processo de produção da glicose em tecidos como músculo e hepatopâncreas (Santos & Keller 1993b, Glowik *et al.* 1997).

Assim, o presente trabalho tem por objetivo obter valores de referência para os parâmetros da imunidade celular (fagocitose) e da concentração de glicose na hemolinfa do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*), avaliando a resposta destes parâmetros em animais mediante diferentes níveis de exposição à radiação ultravioleta "A".

## MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e um camarões-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) obtidos na Estação Marinha de Aquicultura (EMA-FURG) foram mantidos no biotério aquático do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF-FURG) para realização do experimento; com temperatura de 21 °, salinidade de 35, fotoperíodo de

12h claro / 12h escuro e alimentados com ração comercial para camarão *ad libitum*. A aclimação ocorreu durante sete dias. Os animais foram divididos em três grupos de tratamento (1, 5 e 10 dias de exposição à radiação UVA), com seus respectivos grupos controle. As exposições diárias à radiação UVA tinham duração de 45 min, ocorria com os animais imersos em coluna de água com 25 cm de altura, a 21° C, em câmara isolada. Os animais do grupo controle receberam irradiações diárias de lâmpada fluorescente durante 45 min, sob as mesmas condições dos grupos de tratamento.

A lâmpada de UVA utilizada nos tratamentos (modelo VL 115C, 30W) (Vilbert Loumart, USA) apresentava irradiância de 1.39 mW/cm<sup>2</sup>. Para o grupo controle, foi utilizada lâmpada fluorescente (Philips TLT 40W/75, Brasil) irradiando 96 mW/cm<sup>2</sup> de luz visível, sem contaminação de UVC. As radiações foram monitoradas através de radiômetro/fotômetro com sensor a prova de água (modelo IL 1400A, Internacional Light, MA, USA). Os camarões receberam uma dose de irradiação de UVA (3,6 J/cm<sup>2</sup>) numa intensidade média de irradiação de 500 µW/cm<sup>2</sup>, protocolo similar ao realizado em peixes por Salo *et al.* (2000).

Vinte e quatro horas após finalizada a exposição, a hemolinfa foi coletada dos animais em jejum, com seringa por punção do seio hemolinfático pericárdico com utilização de solução anticoagulante (400mM NaCl; 8mM KCl; 8mM HEPES; e 10mM EDTA dissódico), com pH ajustado para 7,3, segundo Vargas-Albortes *et al.* (1993).

Foi efetuada a contagem total de hemócitos e verificada sua viabilidade pelo teste de exclusão com Azul Tripán na câmara de Neubauer. Para efetuar os ensaios de fagocitose, foi colocado sobre lâminas 0.5ml de hemócitos em meio de cultura M199 e incubados em câmara úmida a 20°C por 60 minutos. Após, as lâminas foram lavadas com PBS e acrescidas de 0,5ml de leveduras *Sacharomyces*

*cerevisae* (mortas por aquecimento a 80° C) em meio de cultura M199 e incubadas a 20°C por mais 60 minutos. Depois de serem coradas pela técnica May Grunwald e Giemsa, foi determinada por microscopia óptica a porcentagem de fagocitose em cada lâmina.

Para complementar as análises e verificar se houve alterações bioquímicas conseqüentes à radiação ultravioleta, foram efetuadas as quantificações de glicose na hemolinfa dos animais. Essa quantificação foi determinada pelo método enzimático Glicose Oxidase, segundo o protocolo do Kit comercial GLUCOX 500 (Doles, Goiânia, GO, Brasil).

Os resultados foram expressos como média aritmética ± desvio-padrão e analisados por análise de variância seguida de teste Tuckey, com significância de 0,05%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Índice fagocitário nos grupos controle não apresentou diferenças nos diferentes períodos e por isso foi considerado um único grupo. O índice fagocitário nos diferentes tratamentos e no grupo controle é apresentado na figura 1.

A fagocitose tornou-se significativamente prejudicada nos animais expostos à UVA quando comparados com o grupo controle ( $P < 0,05$ ). Entretanto, entre os animais expostos durante 1 dia e 5 dias, o índice fagocitário não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ), porém, esses grupos apresentaram médias superiores em relação ao tratamento de 10 dias ( $P < 0,05$ ). Portanto, todos os tratamentos apresentaram uma diminuição desses valores em relação ao grupo Controle, mostrando um comprometimento de sua imunidade inata quando submetidos à radiação UVA.

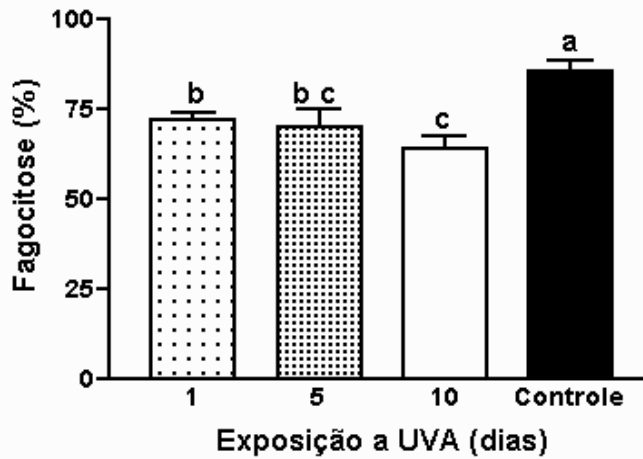


FIGURA 1 – Índice fagocitário (média±desvio-padrão) de hemócitos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) expostos à radiação ultravioleta A por 1, 5 e 10 dias e grupo controle. Barras com letras iguais não são significativamente diferentes ( $P>0,05$ ).

Os efeitos do aumento da radiação ultravioleta sobre crustáceos têm sido pouco estudados, mas recentemente Santos (2005) observou que doses diárias de UVA, de 1,5 J/cm<sup>2</sup> durante 15 min e 3,0 J/cm<sup>2</sup> durante 30 min alteraram as durações dos estágios larvais e acarretaram modificações na morfologia (comprimento e largura dos espinhos rostral e dorsal, base do telso e ramos da furca) de larvas do caranguejo *Neohelice granulata*.; assim como Gouveia et al. (2005), expondo o tegumento de *Neohelice granulata* ao UVA e UVB, verificaram que melanóforos desse tegumento apresentando agregação pigmentar obtiveram dano em relação aos melanóforos com pigmentos dispersos.

Lasser (2001), verificou o aumento na atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) em embriões da salamandra *Ambystoma maculatum* expostas à UVA ou à UVA e UVB, demonstrando que esses animais produzem altas concentrações de espécies reativas de oxigênio (EROs) durante a exposição.

Diversos efeitos da UV têm sido descritos para organismos marinhos, incluindo espécies de organismos zooplantônicos encontrados em águas rasas, onde altos fluxos de UV estão presentes (Dey et al. 1988). Dados recentes têm mostrado um aumento significativo no dano de DNA (medido através do aumento na formação de Dímeros de Ciclobutano Pirimidina (CPD) em peixes e crustáceos eufausiáceos coletados em águas superficiais da Antártica (Malloy et al. 1997).

Neste trabalho também foi verificado o efeito da exposição à radiação UVA na concentração de glicose na hemolinfa do camarão-rosa (Figura 2). A concentração de glicose (mmol/l) mostrou valores inferiores ( $P<0,05$ ) nos animais expostos por 1 dia (0,36±0,19), 5 dias (0,88±0,47) e 10 dias (0,18±0,03) quando comparados com o grupo controle (2,41±0,74). Deste modo, foi evidenciado que exposições à radiação UVA afetaram significativamente a concentração de glicose no camarão-rosa e que mudanças nesse parâmetro não indicam simplesmente alterações patológicas, mas também pode ser o reflexo de mudanças no meio ambiente biológico.

A hiperglicemia é uma típica resposta bioquímica de muitos animais marinhos frente a poluentes e estressores. Em crustáceos, o aumento do hormônio CHH circulante e hiperglicemia aparecem quando o animal é exposto a algum agente estressor (Durand et al. 2000, Lorenzon et al. 1997, Santos et al. 2001). Chang et al. (1998) monitorou, através de testes ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), as variações do CHH na hemolinfa da lagosta *Homarus americanus* frente a diversos estressores. Estudos realizados em camarões *Palaeomonetes elegans* expostos ao Cobre mostraram um rápido incremento nos níveis de CHH em sua hemolinfa quando expostos às altas concentrações desse elemento; e uma diminuição nas descargas de CHH quando expostos às baixas concentrações de Cobre (Lorenzon et al. 2004).

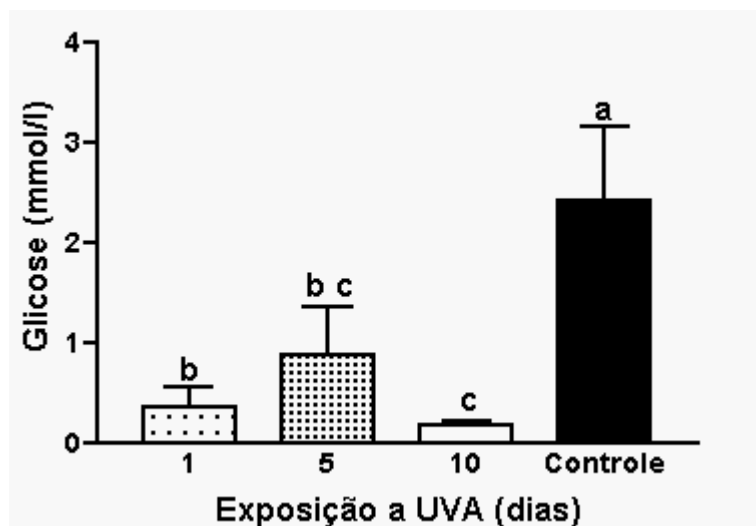


FIGURA 2 – Concentração da glicose na hemolinfa de *Farfantepenaeus paulensis* (média±desvio-padrão) dos Tratamentos de 1, 5 e 10 dias de exposição consecutivos à UVA e grupo Controle. Barras com letras iguais não são significativamente diferentes ( $P>0,05$ ).

A radiação UVA atua como agente estressor, mas a concentração de glicose na hemolinfa de *F. paulensis* apresentou comportamento oposto aos resultados observados em outros invertebrados e frente a outros agentes estressores (Durand *et al.* 2000, Lorenzon *et al.* 1997, Santos *et al.* 2001). Entretanto, o estresse da UVA pode ter prejudicado a ingestão de alimento nestes animais causando diminuição da glicose. Além disso, em nosso experimento foi verificado dano no sistema imune inato dos camarões provocados pela exposição UVA. Essas alterações podem ser extensivas ao sistema endócrino e produzir uma inibição na liberação do CHH, causando hipoglicemia e, com isso, um maior comprometimento da homeostase desses animais.

Em resumo, este trabalho mostrou que a exposição à radiação UVA, mesmo em baixas doses ambientais, afetou a imunidade inata (o índice fagocitário) e a concentração de glicose. Estes achados evidenciam circunscritas alterações que podem ser induzidas pela exposição à UVA e permitem inferir que acarretaram prejuízo na saúde das populações destes crustáceos.

## CONCLUSÃO

Os resultados relativos às porcentagens de fagocitose dos grupos de tratamentos com UVA foram inferiores em relação ao grupo controle, evidenciando que essa radiação pode acarretar alterações no

sistema imune de *Farfantepenaeus paulensis*, predispondo ao aparecimento de processos patológicos. Assim como o estresse provocado pela radiação UVA, os tratamentos, podem ter inibido a liberação do CHH, ou diminuído a ingestão de alimento, resultando em hipoglicemia na hemolinfa desses animais.

Esses resultados evidenciam uma situação de imunodepressão provocada pelo aumento da exposição ao UVA em hemócitos do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*), agravada pela diminuição nas concentrações de glicose na hemolinfa dos animais irradiados, comprometendo ainda mais seu sistema imune inato.

## REFERÊNCIAS

- BARRACCO, M.A.; LM PERAZZOLO & ER ANDREATTA. 2001. 2001. Produção de moléculas microbidas (ânion superóxido) pelos hemócitos do camarão *Farfantepenaeus paulensis*, durante o processo de fagocitose. *Livro de Resumos da Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Caxambú, MG*. 455p.
- BEER, JZ, KM OLVEY, SA MILLER, DP THOMAS & DE GODAR. 1993. Non-nuclear damage and cell lysis are induced by UVA, but not UVB or UVC, radiation in three strains of L5178Y cells. *Photochem. Photobiol.*, 58: 676-681.
- CHANG, ES & JD O'CONNOR. 1983. Metabolism and transport of carbohydrates and lipids. *The biology of Crustacea, Internal anatomy and physiological regulation*, vol. 5, Academic Press, New York, L.H. Mantel, Editor.
- CHANG, ES, R KELLER & SA CHANG. 1998. Quantification of crustacean hyperglycemic hormone by ELISA in hemolymph of

- the lobster, *Homarus americanus*, following various stress. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 111: 359-366
- DEY, DB, DM DAMAKAER & GA HERON. 1988. Dose/dose rate responses of seasonally abundant copepod of Puget Sound. *Oecol.*, 76: 321-329.
- D'INCAO, F, H VALENTINI & LF RODRIGUES. 2002. Avaliação da pesca de camarões nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, 1965-1999. *Atlântica*, 24: 103-116.
- DIVE, C, CD GREGORY, DJ PHIPPS, DL EVANS, AE MILNER & AH WYLLIE. 1992. Analysis and discrimination of necrosis and apoptosis (programmed cell death) by multiparameter flow cytometry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Res.*, 1133(3): 298-285.
- DURAND, F, N DEVILLERS, FH LALLIER & M REGNAULT. 2000. Nitrogen excretion and change in blood components during emersion of the subtidal spider crab *Maia squinado*. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 127: 259-271.
- GLOWIK, RM, J GOLOWASCH, R KELLER & E MARDER. 1997. D-Glucose-sensitive neurosecretory cells of the crab *Cancer borealis* and negative feedback regulation of blood glucose level. *J. Exp. Biol.*, 200: 1421-1431.
- GODAR, DE. 1996. Preprogrammed and programmed cell death mechanisms of apoptosis: UV-induced immediate and delayed apoptosis. *Photochem. Photobiol.*, 63(6): 825-30.
- GODAR, DE & AD LUCAS. 1995. Spectral dependence of UV-induced immediate and delayed apoptosis – the role of membrane and DNA-damage. *Photochem. Photobiol.*, 62(1): 108-113.
- GOUVEIA, GR, DS MARQUES, BP CRUZ, LA GERACITANO, LEM NERY, & GS TRINDADE 2005. Antioxidant defenses and DNA damage induced by UV-A and UV-B radiation in the crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). *Photochem. Photobiol.*, 81: 398-403.
- KAWEEWAT, K & R HOFER. 1997. Effect of UV-B radiation on globet cells in the skin of different fish species. *Photochem. Photobiol., B Biol.* 41: 222-226.
- KOCHEVAR, IE. 1990. UV-induced protein alterations and lipid oxidation in erythrocyte-membranes. *Photochem. Photobiol.*, 52(4): 795-800.
- KUO, CM & YH YANG. 1999. Hyperglycaemic responses to cold shock in the freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Comp. Physiol. B*, 169: 49-54.
- LASSER, MP. 2001. Exposure to ultraviolet radiation (290-400 nm) causes oxidative stress, DNA damage, and expression of p53/p73 in laboratory experiments on embryos of the spotted salamander *Ambystoma maculatum*. *Physiol. Biochem. Zool.*, 74: 157-164
- LORENZON, S, PG GIULIANINI & EA FERRERO. 1997. Lipopolysaccharide-induced hyperglycemia is mediated by CHH release in crustaceans. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 108:395-405.
- LORENZON, S, P EDOMI, PG GIULIANINI, R METTULIO & EA FERRERO. 2004. Variation of crustacean hyperglycemic hormone (cHH) level in the eyestalk and hemolymph of the shrimp *Palaemon elegans* following stress. *J. Exp. Biol.*, 207: 4205-4213.
- MALLOY, KD, MA HOLMAN, D MITCHELL & HW DETRICH III. 1997. Solar UV-B induced DNA damage and photoenzymatic DNA repair in Antarctic zooplankton. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 94: 1258-1263.
- MEENAKSHI, VR & BT SCHEER. 1961. Metabolism of glucose in the crabs *Cancer magister* and *Hemigrapsus nudus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 3: 30-41.
- SALO, HM, EI JOKINEN, SE MARKKULA, TM ALTONEN & HT PENTTILÄ. 2000. Comparative effects of UVA and UVB irradiation on the immune system of fish. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 56: 154-162.
- SANTOS, EA, LFM NERY & GC MANZONI. 1988. Action of the crustacean hyperglycemic hormone of *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) (Decapoda: Grapsidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, A 89: 329-332.
- SANTOS, EA & R KELLER. 1993a. Effect of exposure to atmospheric air on blood glucose and lactate concentrations in two crustacean species: a role for the crustacean hyperglycemic hormone (CHH). *Comp. Biochem. Physiol.*, A 106: 343-347.
- SANTOS, E. & R KELLER. 1993b. Regulation of circulating levels of the hyperglycemic hormone: evidence for a dual feedback control system. *J. Comp. Physiol.*, B 163: 374-379.
- SANTOS, EA, R KELLER, E RODRIGUEZ & L LOPEZ. 2001. Effects of serotonin and fluoxetine on blood glucose regulation in two decapod species. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 34: 75-80.
- SANTOS, ALF. (2005). Efeitos da radiação UVA no desenvolvimento pós-embrionário de *Chasmagnathus granulata*, Dana 1851 (Crustácea, Decapoda, Brachyura), em laboratório. Fundação Universidade Federal do Rio Grande – Tese de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Animal Comparada, 53p.
- SPEED, SR, J BALDWIN, RJ WONG & RMG WELLS. 2001. Metabolic characteristics of muscles in the spiny lobster, *Jasus edwardsii*, and responses to emersion during simulated live transport. *Comp. Biochem. Physiol.*, B 128: 435-444.
- TELFORD, M. 1968a. Changes in blood sugar composition during the moult cycle of the lobster *Homarus americanus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 26: 917-926.
- TELFORD, M. 1968b. The effects of stress on blood sugar composition of the lobster, *Homarus americanus*. *Can. J. Zool.*, 46: 819-826.
- VARGAS-ALBORTES, F, MA GUZMAN & JL OCHOA. 1993. An anticoagulant solution for hemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). *Comp. Biochem. and Physiol.*, 106: 299-303.

Entrada: 16/03/2007

Aceite: 16/08/2007