

Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Ricardo Rodrigues da Silva

Ciclo reprodutivo de fêmeas de
Macrobrachium amazonicum
(Crustacea, Palaemonidae)

Fortaleza, Ceará
Janeiro de 2004

Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Ricardo Rodrigues da Silva

Ciclo reprodutivo de fêmeas de
Macrobrachium amazonicum
(Crustacea, Palaemonidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Reprodução de Carnívoros, Onívoros e Aves

Orientadora: Dr^a Célia Maria de Souza Sampaio

Fortaleza, Ceará
Janeiro de 2004

S586c

Silva, Ricardo Rodrigues da.

Ciclo reprodutivo de fêmeas de
Macrobrachium amazonicum
(Crustacea, Palaemonidae) / Ricardo
Rodrigues da Silva. Janeiro, 2004.

72 p.; il.; 30 cm.

Orientadora: Prof^a Dr^a Célia Maria
de Souza Sampaio.

Dissertação (Mestrado em Ciências
Veterinárias) - Universidade Estadual
do Ceará, Faculdade de Veterinária.

1. Reprodução animal 2. Camarão

Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária

Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Título do Trabalho: Ciclo reprodutivo de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum*
(Crustacea, Palaemonidae).

Autor: Ricardo Rodrigues da Silva

Defesa em: 23 / 01 / 2004

Conceito obtido:

Satisfatório

Banca Examinadora

Prof^a Dr^a Célia Maria de Souza Sampaio
Orientadora

Prof^a Dr^a Irene Bastos Franceschini Vicentini
Co-orientadora / Examinadora

Prof. Dr. José Roberto Feitosa Silva
Examinador

Prof^a Dr^a Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro
Examinadora

“Qualquer um que aspire ser um autêntico cientista deve tirar, pelo menos, meia hora por dia para pensar o contrário de seus colegas”.

Albert Einstein

Aos meus pais, Antonio e Miguelina, e à minha amada esposa, Emanuela, ...

... dedico.

AGRADECIMENTOS

Em especial, à Profa. **Célia Maria de Souza Sampaio**, pela amizade cultivada ao longo desses anos, pelo apoio incondicional nos momentos de dificuldade e pela sua brilhante orientação no desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** (CNPq) pela bolsa concedida em parte do período de execução deste trabalho.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** (CAPES) pela bolsa concedida em parte do período de execução deste trabalho.

À **Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa** (FUNCAP) pelo apoio financeiro, através do financiamento desse projeto.

Ao **Laboratório de Ciências Biológicas** (LABIO) e ao **Laboratório de Carcinicultura** (LACAR), ambos da UECE, pelo suporte das condições para a realização da parte prática da pesquisa.

Aos bolsistas **Danielle Lopes Vasconcelos**, **Germana Freitas Beserra**, **Janaína Andrade dos Santos**, **Raniery Alves Memória** e **Sarah de Paiva Sales** pela imensa colaboração para a realização do trabalho e pela grande amizade.

À **Maria Rocilda Oliveira**, técnica de Histologia do Laboratório Suinocultura da UECE, pelo auxílio de grande importância na execução do trabalho.

Ao Senhor **Francisco Ivanildo Lima Barbosa**, pescador do município de Itaiçaba, pela colaboração para o sucesso da pesquisa e pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Prof. **José Roberto Feitosa Silva**, pela grandiosa contribuição e importantes esclarecimentos para o desenvolvimento dos estudos histológicos da pesquisa.

À Prof^a **Irene Bastos Franceschini Vicentini**, pelo auxílio nos momentos de dúvida e por sua colaboração em geral.

À Prof^a **Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira** pelo apoio e disponibilização de seu laboratório para o aprendizado das técnicas histológicas.

RESUMO

Das espécies de camarão de água doce brasileiras, *Macrobrachium amazonicum* é a preferida para cultivos, devido à sua fácil manutenção em cativeiro e rápido desenvolvimento. Este trabalho teve como objetivos caracterizar as fases do ciclo sexual, determinar a idade da primeira maturação, os estádios de maturação ovariana, os índices gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS), e sua relação no processo maturativo, e as características macro e microscópicas de ovários e hepatopâncreas de fêmeas de *M. amazonicum*, coletadas mensalmente, de junho de 2002 a maio de 2003, no Rio Jaguaribe, Itaipaba, Ceará. Uma amostra de água foi também coletada para determinação dos seguintes parâmetros ambientais: temperatura, oxigênio dissolvido, pH e salinidade. Uma amostra de indivíduos foi selecionada para determinação do peso total (W_T), do comprimento do cefalotórax (L_C) e do abdômen+telson (L_{A+T}) e para registro de fêmeas não ovígeras (FNO) e ovígeras (FO). Os ovários foram classificados em imaturo (IM), rudimentar (R), intermediário (IN), maduro (M) e desovado (D). Dentre as FNO e FO amostradas, foram selecionadas duas em cada estádio. Seus ovários e hepatopâncreas foram retirados e submetidos a procedimentos usuais de histologia e em seguida, corados com azul de bromofenol e PAS para identificação de proteínas e polissacarídeos, respectivamente. A idade da primeira maturação foi determinada a partir da frequência relativa de comprimento total (L_T) de fêmeas jovens e adultas. Para testar o efeito da condição (FNO e FO), dos estádios (IM, R, IN, M e D) e dos índices (IGS e IHS) foi utilizado ANOVA. Para testar as diferenças entre as médias foram utilizados o teste de Duncan (condição) e o teste t (estádios e índices). Os parâmetros ambientais do Rio Jaguaribe não influenciaram na quantidade de indivíduos coletados. A ocorrência de FNO foi sempre superior ao de FO, com um aumento destas nos meses em que o rio apresentou aumento de nível. As frequências relativas dos estádios de maturação ovariana para FNO e FO variaram durante o período de coleta, mas de maneira geral apresentaram uniformidade. Tanto em FNO e FO, ocorreu um aumento no IGS de IM a M, com diminuição deste em D. O IGS médio de FNO foi superior ao de FO em todos os estádios, à exceção de D, onde ocorreu predomínio destas. O IGS de IN e M para FNO apresentou diferença estatística significativa entre si e entre os outros estádios. O IHS de IM e R para FNO não diferiu significativamente entre si, mas sim com o de M e D; IN não apresentou diferença significativa com os demais. Comparando-se o IGS com o IHS de FNO, observa-se que houve diferença significativa em todos os estádios. Para FO, o IGS de M foi o único significativamente diferente dos demais. Quanto ao IHS de FO, apenas R apresentou diferenças significativas em relação aos outros estádios. Comparando-se o IGS e o IHS de FO, apenas em IN não houve diferenças significativas. Em todos os testes as médias foram comparadas a um nível de 5% de probabilidade. Fêmeas de *M. amazonicum* atingem a primeira maturação sexual com comprimento total entre 5,0 e 5,5 cm. Ovários e hepatopâncreas de fêmeas de *M. amazonicum* são macroscopicamente semelhantes aos de outras espécies do mesmo gênero. Foram identificadas cinco fases de desenvolvimento ovocitário para a espécie: ovogônias, ovócitos pré-vitelogênicos, ovócitos em vitelogênese inicial, ovócitos em vitelogênese avançada e ovócitos maduros. A análise histoquímica revelou que em fêmeas de *M. amazonicum* existem diferenças entre a intensidade de coloração e o grau de maturação gonadal. Entretanto, não foi possível estabelecer uma relação direta entre a distribuição de proteínas e polissacarídeos em ovários e hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras e ovígeras ao longo do processo maturativo.

ABSTRACT

Of all the Brazilian species of freshwater prawns, the *Macrobrachium amazonicum* is the favourite for cultivation, due to its easy maintenance in captivity and fast development. This work aimed to characterize the phases of the sexual cycle, to determine the age of first maturation (ripening), the stadium of ovarian maturation, the gonadosomatic (IGS) and hepatosomatic (IHS) rates, and its relation in the maturation process, and the ovary and hepatopancreas macro and microscopic characteristics of the female *M. amazonicum*, collected monthly, from June 2002 to May 2003, in the Jaguaribe River, Itaipaba, Ceará. A water sample was also collected to determine the following environment parameters: temperature, dissolved oxygen, pH and salinity. A sample of individuals was selected to determine the total weight (W_T), the cephalothorax (L_C) and abdomen+telson length (L_{A+T}) and to register the non ovigeras (FNO) and the ovigeras females (FO). The ovaries were classified as immature (IM), rudimental (R), intermediary (IN), mature (M) and spawned (D). Among the FNO and FO samples shown, two were selected in each stadium. Their ovaries and hepatopancreas were removed and submitted to usual histology procedures and then coloured with bromofenol blue and PAS to identify protein and polysaccharides, respectively. The age of the first maturation was determined from the relative frequency of the total length (L_T) of young and adult females. To test the condition effect (FNO and FO), of the stadiums (IM, R, IN, M and D) and rates (IGS and HIS), ANOVA was used. To test the differences between the averages the Duncan test (condition) and the T test (stadiums and rates) were used. The environmental parameters of Jaguaribe River had no influence in the quantity of individuals collected. The incident of FNO was always superior to the FO, with an increase of these in the months that the river presented a level raise. The relative frequencies of ovarian maturation stadiums for FNO and FO varied during the collecting period, but in the general run presented uniformity. In both, FNO and FO, occurred an increase in IGS of IM to M, with diminution of this in D. The medium IGS of FNO was superior to the FO in all the stadiums, with the exception of D, where these were predominated. The IGS of IN and M to the FNO presented a significant statistic difference with itself and other stadiums. The IHS of IM and R for FNO didn't differ significantly among itself, but it did with the M and D; IN didn't present a significant difference with the others. Comparing the IGS with the IHS of FNO, it's observed that there was a significant difference in all stadiums. For FO, the IGS of M was the only one significantly different from the others. As for the IHS of FO, only R presented significant differences in relation to the other stadiums. Comparing the IGS and the IHS of FO, only in IN there were no significant differences. In all tests the averages were compared to a 5% level of probability. Females *M. amazonicum* reach the first sexual maturation measuring between 5,0 and 5,5 cm of total length. Ovaries and hepatopancreas of *M. amazonicum* females are macroscopically similar to the other species of the same class. Five phases of oocytary development were identified for the species: oogonias, previtellogenic oocytes, oocytes in initial vitellogenesis, oocytes in advanced vitellogenesis and mature oocytes. The histochemistry analysis revealed that in *M. amazonicum* females, there are differences between the intensity of color and level of gonadal maturation. However, it wasn't possible to establish a direct relation between the distribution of proteins and polysaccharides in ovaries and hepatopancreas of non ovigeras and ovigeras females in the run of the maturation process.

SUMÁRIO

	Página
Lista de tabelas	x
Lista de figuras	xi
Introdução	01
Revisão de literatura	
1. A reprodução em espécies do gênero <i>Macrobrachium</i>	04
2. Desenvolvimento ovariano	08
3. Estrutura e funções do hepatopâncreas	12
3.1 – O papel do hepatopâncreas na maturação ovariana	14
Hipótese	15
Objetivos	
Objetivo Geral	15
Objetivos Específicos	15
Material e métodos	
1. Local de coleta	16
2. Parâmetros ambientais	17
3. Material coletado	17
4. Obtenção dos dados morfométricos	19
5. Determinação dos estádios de maturação gonadal e análise microscópica	20
6. Estabelecimento do ciclo sexual	22
7. Determinação do índice gonadossomático	22
8. Determinação do índice hepatossomático	22
9. Tamanho da primeira maturação	23
10. Análise estatística	23
<i>Resultados</i>	
1. Parâmetros ambientais	24
2. Ciclo reprodutivo	25
3. Determinação dos estádios de maturação ovariana	26

4. Determinação dos índices gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS) e sua relação com os estádios de maturação ovariana	32
– Distribuição do IGS e do IHS por classes de peso, de acordo com o grau de maturação, para fêmeas não ovíferas e ovíferas	36
5. Tamanho da primeira maturação	41
6. Caracterização de ovários e hepatopâncreas de fêmeas de <i>M. amazonicum</i>	
– Anatomia macroscópica de ovários e hepatopâncreas	43
6.2 – Anatomia microscópica de ovários	46
6.3 – Anatomia microscópica de hepatopâncreas	49
6.4 – Histoquímica de ovários e hepatopâncreas de fêmeas de <i>M. amazonicum</i>	50

Discussão

1. Parâmetros ambientais	54
2. Ciclo reprodutivo	55
3. Estádios de maturação	56
4. Índice gonadossomático (IGS) e índice hepatossomático (IHS)	58
5. Tamanho da primeira maturação	59
6. Caracterização histológica e citológica de ovários e hepatopâncreas	60
7. Histoquímica de ovários e hepatopâncreas	62
Conclusões	64
Perspectivas	66
Referências bibliográficas	67
Anexos	73

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Distribuição mensal dos parâmetros ambientais do Rio Jaguaribe, Ceará, no período de junho de 2002 a maio de 2003	24
2 Índice gonadossomático médio (IGS) e índice hepatossomático médio (IHS) de fêmeas não ovígeras por estágio e condição de maturação ovariana	32
3 Índice gonadossomático médio (IGS) e índice hepatossomático médio (IHS) de fêmeas ovígeras por estágio e condição de maturação ovariana	33
4 Índice gonadossomático médio (IGS) para fêmeas não ovígeras e ovígeras por estágio e condição de maturação ovariana	34
5 Índice hepatossomático médio (IHS) para fêmeas não ovígeras e ovígeras por estágio e condição de maturação ovariana	35
6 Reações histoquímicas para evidenciação de polissacarídeos (PAS) e proteínas (azul de bromofenol) nos ovários e no hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras, por estágio e condição de maturação ovariana	50
7 Reações histoquímicas para evidenciação de polissacarídeos (PAS) e proteínas (azul de bromofenol) nos ovários e no hepatopâncreas de fêmeas ovígeras, por estágio e condição de maturação ovariana ..	51
8 Coloração de ovários e hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras e ovígeras por azul de bromofenol, para identificação da presença de proteínas	51
9 Coloração de ovários e hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras e ovígeras por PAS, para identificação da presença de polissacarídeos	52

LISTA DE FIGURAS

	<i>Figura</i>	Página
1	Localização do município de Itaiçaba, Ceará (Fonte: http://www.canaltur.com.brestadoce.htm)	16
2	Segundo par de pleópodes e apêndices de machos e fêmeas de <i>Macrobrachium</i> sp. (PINHEIRO e HEBLING, 1998)	18
3	A. Fêmea não ovígera de <i>M. amazonicum</i> ; B. Abdômen de fêmea não ovígera: destaque para a câmara incubadora abdominal, indicadora de desovas anteriores	19
4	A. Fêmea ovígera de <i>M. amazonicum</i> ; B. Abdômen de fêmea ovígera: destaque para a presença de ovos aderidos aos pleópodes	19
5	Distribuição mensal de freqüência absoluta de machos e fêmeas de <i>M. amazonicum</i> coletados no período de junho de 2002 a maio de 2003, no Rio Jaguaribe, Ceará	25
6	Distribuição mensal de freqüência absoluta de fêmeas não ovígeras e ovígeras de <i>amazonicum</i> coletadas no período de junho de 2002 a maio de 2003, no Rio Jaguaribe, Ceará	26
7	A. Fêmea com ovários no estágio imaturo; B. Ovários no estágio imaturo	28
8	A. Fêmea com ovários no estágio rudimentar; B. Ovários no estágio rudimentar	28
9	A. Fêmea com ovários no estágio intermediário; B. Ovários no estágio intermediário	28
10	A. Fêmea com ovários no estágio maduro; B. Ovários no estágio maduro	29
11	A. Fêmea com ovários na condição desovado; B. Ovários na condição desovado	29
12	Distribuição da freqüência relativa mensal de fêmeas não ovígeras por estádios de desenvolvimento ovariano	30
13	Distribuição da freqüência relativa mensal de fêmeas ovígeras por estádios de desenvolvimento ovariano	31
14	Valores de IGS e IHS médios por estágio e condição de maturação ovariana para fêmeas não ovígeras	33

<i>Figura</i>	Página
15 Valores de IGS e IHS médios por estágio e condição de maturação ovariana para fêmeas ovígeras	34
16 Valores de IGS médio por estágio e condição de maturação ovariana para fêmeas não ovígeras e ovígeras	35
17 Valores de IHS médio por estágio e condição de maturação ovariana para fêmeas ovígeras e não ovígeras	36
18 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras no estágio imaturo de desenvolvimento ovariano	36
19 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras no estágio rudimentar de desenvolvimento ovariano	37
20 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras no estágio intermediário de desenvolvimento ovariano	37
21 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras no estágio maduro de desenvolvimento ovariano ...	38
22 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras na condição desovado de desenvolvimento ovariano	38
23 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras no estágio imaturo de desenvolvimento ovariano	39
24 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras no estágio rudimentar de desenvolvimento ovariano	39
25 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras no estágio intermediário de desenvolvimento ovariano ..	40
26 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras no estágio maduro de desenvolvimento ovariano	40
27 Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras na condição desovado de desenvolvimento ovariano	41
28 Determinação do tamanho na primeira maturação para fêmeas de <i>M. amazonicum</i>	42

<i>Figura</i>	Página
29 Ovários de fêmeas de <i>M. amazonicum</i> nos diversos estádios de maturação, mostrando as diferentes colorações e tamanhos. A = estágio imaturo; B = estágio rudimentar; C = estágio intermediário; D = estágio maduro; E = condição desovado	44
30 Hepatopâncreas de fêmeas de <i>M. amazonicum</i> nos diversos estádios de maturação, mostrando as diferenças macroscópicas. A = estágio imaturo; B = estágio rudimentar; C = estágio intermediário; D = estágio maduro; E = condição desovado	45
31 Comparação entre ovários (linha superior) e hepatopâncreas (linha inferior) de fêmeas de <i>M. amazonicum</i> nos diversos estádios de maturação. A = estágio imaturo; B = estágio rudimentar; C = estágio intermediário; D = estágio maduro; E = condição desovado	45
32 <i>M. amazonicum</i> . Seção parcial mostrando a disposição radial das células germinativas. OVG = ovogônia (Azul de bromofenol; 10x)	47
33 <i>M. amazonicum</i> . OPV = ovócito pré-vitelogênico; CF = células foliculares; NCLo = nucléolo (PAS; 40x)	47
34 <i>M. amazonicum</i> . OVi = ovócito em vitelogênese inicial; CF = células foliculares, VS = vesícula; NCLo = nucléolo (PAS; 40x) ...	48
35 <i>M. amazonicum</i> . OVa = ovócito em vitelogênese avançada; CF = células foliculares (PAS; 40x)	48
36 <i>M. amazonicum</i> . OVm = ovócito maduro; CF = células foliculares (PAS; 40x)	48
37 <i>M. amazonicum</i> . R = células R; E = células E; F = células F; B = células B; SI = sinus intersticiais	50
38 Estádio maduro – Fêmeas ovígeras: A e B; Condição desovado – Fêmeas não ovígeras: C e D	53
39 Estádio maduro – Fêmeas não ovígeras: A, B. Fêmeas ovígeras: C e D	53

INTRODUÇÃO

Dentre as espécies de crustáceos decápodes cultivadas atualmente no mundo, com objetivo econômico, destacam-se o camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) e o camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879).

A produção mundial de camarão marinho atingiu em 2002 cerca de 1.319.126 t, das quais cerca de 500.000 t corresponderam *L. vannamei* (ROCHA e RODRIGUES, 2003).

Segundo dados da FAO, citados por VALENTI (2002), a produção mundial de camarão de água doce passou de 21.000 para 118.500 t anuais no período compreendido entre 1990 e 2000, correspondendo a um crescimento de cerca de 500%. A este total deve-se acrescentar cerca de 27.000 t de "Outros Camarões e Crustáceos de Água Doce" registrados pelo Vietnã, haja vista que essa produção se refere praticamente a *M. rosenbergii*; bem como a de *M. nipponense*, que atingiu na China cerca de 100.000 t no ano 2000. Portanto, a produção mundial de camarões de água doce, seguramente ultrapassou 240.000 t em 2000, valor considerado histórico, pois este representa cerca de 20% do volume total produzido pelo setor de camarões marinhos, quando anteriormente, e durante muito tempo o mesmo permaneceu ao redor de 5%.

O termo "camarão de água doce" possui um sentido bastante amplo, pois é utilizado para caracterizar tanto espécies que têm todo seu ciclo de vida restrito a esse ambiente como espécies que necessitam de água salobra no início de seu desenvolvimento e de água doce depois da metamorfose (COELHO *et al.*, 1981).

Os camarões de água doce são crustáceos decápodes pertencentes à Subordem Pleocyemata e família Palaemonidae (BOWMAN e ABELE, 1982; CHACE, 1992). Embora sejam também chamados de camarão, como os de água salgada, são evolutivamente mais próximos das lagostas, guardando com elas muitas semelhanças, principalmente quanto aos hábitos reprodutivos, pois as fêmeas desses crustáceos incubam seus ovos no abdômen até a eclosão (VALENTI, 1990).

A grande maioria das espécies de camarão de água doce de interesse comercial pertence ao gênero *Macrobrachium* Bate, 1868, distribuindo-se pelas regiões tropicais e subtropicais do mundo (JALIHAL *et al.*, 1993).

GOMES-CORRÊA (1977), em trabalho sobre os palemonídeos do Brasil, registrou a ocorrência de sete gêneros e 23 espécies desta família para o nosso país, das quais dez pertenciam ao gênero *Macrobrachium*. Deste total, oito ocorriam em bacias do nordeste: *M. acanthurus*, *M. amazonicum*, *M. carcinus*, *M. jelskii*, *M. olfersii*, *M. brasiliense*, *M. heterochirus* e *M. nattereri*; e destas, somente as cinco primeiras ocorriam em rios e açudes do Estado do Ceará.

OSTROVSKI *et al.* (1996), em trabalho sobre a descrição de *M. denticulatum*, uma nova espécie brasileira de camarão de água doce, registrou a ocorrência para o Brasil de mais sete espécies pertencentes ao gênero *Macrobrachium*, além das dez já registradas por GOMES-CORRÊA (1977).

Atualmente são conhecidas em todo o mundo cerca de 125 espécies de camarões de água doce do gênero *Macrobrachium*, das quais 45 têm ocorrência registrada para as Américas e 19 para o Brasil (PORTO, 1998).

No início da década de 70, pesquisadores do Departamento de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco (DOUFPe) iniciaram estudos com as três espécies nativas de camarão de água doce mais importantes do Brasil: *M. acanthurus*, *M. amazonicum* e *M. carcinus*, com o objetivo de desenvolver uma tecnologia adequada ao seu cultivo (COELHO e RAMOS-PORTO, 1985). Porém, com a importação em 1977, pelo DOUFPe de pós-larvas de *M. rosenbergii* procedentes do Hawai e o desenvolvimento de seu cultivo em todo o mundo, os estudos relativos às nossas espécies sofreram uma descontinuidade (VALENTI, 1992; 1993).

Das espécies exóticas de camarões de água doce, atualmente, *M. rosenbergii* é a mais utilizada em criações comerciais em todo o mundo. No entanto, algumas espécies vêm despontando na Ásia, destacando-se *M. malcolmsonii* na Índia e *M. nipponense* na China, apontando para o grande potencial que as espécies nativas desse gênero de camarão de água doce apresentam (VALENTI, 2002). Portanto, a despeito dos avanços obtidos no cultivo de *M. rosenbergii* em todo o mundo, faz-se necessário retomar os estudos sobre a ocorrência, o ciclo de vida, a reprodução, o crescimento e o habitat das espécies nativas brasileiras.

Dentre as espécies nativas brasileiras, *M. amazonicum* é a preferida atualmente para cultivos, devido ao seu rápido crescimento e fácil manutenção

em cativeiro. Apesar de atingir um crescimento menor que outras espécies do mesmo gênero, a mesma não apresenta a agressividade característica de *M. acanthurus* e *M. carcinus*, além de ser mais resistente a doenças e predadores (LOBÃO e ROJAS, 1991).

M. amazonicum é uma espécie endêmica da América do Sul, com ampla distribuição em vários dos rios deste continente que correm para o Oceano Atlântico, desde a Venezuela até o Paraguai (RODRIGUEZ, 1980; ROMERO, 1980).

M. amazonicum foi trazida da bacia amazônica para o Nordeste brasileiro na década de 40 e introduzida, pelo então Serviço de Piscicultura do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), em vários açudes da região, como espécie forrageira para peixes carnívoros. Devido à sua rápida aclimação e facilidade de reprodução, disseminou-se em vários açudes e rios da região, tornando-se um dos mais importantes recursos pesqueiros (GURGEL e MATOS, 1984; PAIVA e CAMPOS, 1995).

Segundo VALENTI (2002), as pesquisas sobre cultivo do *M. amazonicum* avançam em nosso país com o envolvimento de universidades, institutos de pesquisa e agências de fomento. No Pará, pós-larvas dessa espécie já são produzidas e viveiros de engorda para o cultivo dessa espécie também já foram implantados (MORAES-RIODADES e VALENTI, 2001).

Aspectos da reprodução de *M. amazonicum* coletados em rios na Região Norte foram estudados por vários autores, destacando-se os trabalhos de ODINETZ COLLART e MAGALHÃES, 1994; CHAVES e MAGALHÃES, 1993; ODINETZ COLLART, 1991a; 1991b.

PINTO (1977), BRAGAGNOLI e GROTTA (1995), SCAICO (1992), GURGEL e MATOS (1984) e FREITAS *et al.* (1979), realizaram trabalhos sobre a reprodução de *M. amazonicum* na Região Nordeste utilizando, no entanto, camarões capturados não em rios, mas em açudes públicos administrados pelo DNOCS.

Em trabalhos sobre a reprodução de *M. amazonicum*, LOBÃO *et al.* (1986) e PORTO (1998) utilizaram exemplares dessa espécie coletados em rios das Regiões Sudeste e Centro Oeste, respectivamente.

Ainda existem poucas informações sobre a estrutura populacional e biologia reprodutiva de *M. amazonicum* coletado em rios do Estado do Ceará, destacando-se os trabalhos de REBOUÇAS (2002), SILVA (2002) e SANTOS (2003) que determinaram respectivamente as relações morfométricas de machos e fêmeas, a fecundidade e a fertilidade das fêmeas, e a diferenciação morfotípica de machos de *M. amazonicum* coletados no Rio Jaguaribe, Itaiçaba, Ceará.

Portanto, faz-se necessária a continuidade dos estudos iniciados com essa espécie, a fim de desenvolver uma tecnologia de cultivo adaptada à realidade do Nordeste e de permitir aos carcinicultores da região uma espécie alternativa para cultivo.

REVISÃO DE LITERATURA

1. A reprodução em espécies do gênero *Macrobrachium*

De acordo com VALENTI *et al.* (1986), o conhecimento da dinâmica da reprodução de uma espécie é um pré-requisito importante para o entendimento de aspectos mais específicos da ecologia e da fisiologia do animal.

A família Palaemonidae é composta por várias espécies de camarões bentônicos que habitam as regiões marinha, estuarina e de água doce. Muitas espécies necessitam de água salina para seu completo desenvolvimento larval; outras apresentam total independência, completando todo o seu ciclo vital em água doce (PINHEIRO e HEBLING, 1998). As espécies de maior interesse econômico prescindem de água salobra para completar seu desenvolvimento, atingem maior tamanho, apresentam ovos pequenos e em grande número (LOBÃO e ROJAS, 1991). Ao contrário das espécies de habitat marinho, as dulcícolas possuem ovos maiores, em menor número e um breve desenvolvimento larval (GAMBA, 1984, VEGA-PEREZ, 1984).

Machos e fêmeas de palemonídeos apresentam compleição física semelhante até atingirem a maturidade sexual, quando têm início os processos reprodutivos. A partir desse momento, as fêmeas destinam suas reservas energéticas à produção e à incubação dos ovos, enquanto os machos direcionam

o gasto energético ao crescimento somático, fazendo com que se tornem os maiores indivíduos da população (AMMAR *et al.*, 2001).

Avaliando o ciclo reprodutor de *M. borellii* e *M. potiuna* e suas relações com a temperatura, BOND e BUCKUP (1982), observaram que nessas espécies pode ocorrer mais do que uma postura em um mesmo período reprodutivo. Constataram, ainda, que em ambas espécies, pode ocorrer a postura de ovos sem acasalamento anterior. Os ovos estéreis são eliminados pela fêmea e, em seguida, ocorre um longo período de pseudoincubação, o que sugere uma intermuda parturial. BOND e BUCKUP (*op. cit.*) não observaram relação entre a temperatura e a duração dos períodos de pseudoincubação e afirmaram, ainda, que em *M. borellii* e *M. potiuna*, o número de pós-larvas que eclode é consideravelmente menor que o número de ovos produzidos, significando que a taxa de mortalidade na fase embrionária é bastante elevada.

Algumas espécies do gênero *Macrobrachium* desenvolvem características especiais, que estão associadas diretamente com o seu comportamento reprodutivo. Em *M. olfersii*, os machos desenvolvem de maneira significativa os quelípodes, utilizados pelos mesmos para a delimitação de território e na defesa da fêmea durante o comportamento de corte, quando acontece a muda pré-copulatória ou pré-nupcial (AMMAR *et al.*, 2001).

O comportamento de machos e fêmeas também é diferenciado na época destinada à reprodução. Na natureza, *M. rosenbergii* habita ambientes que têm comunicação com águas salobras, onde se completa o desenvolvimento larval. Na época reprodutiva, as fêmeas ovígeras migram até as regiões estuarinas, onde ocorre a incubação dos ovos. Após a fase larval, os camarões jovens migram para a água doce, devido à sua baixa tolerância à salinidade (ISMAEL e NEW, 2000).

M. rosenbergii possui maior atividade locomotora durante a noite, principalmente as fêmeas. Os machos são mais territorialistas, com preferência por uma área fixa, enquanto as fêmeas com gônadas maduras percorrem maiores distâncias que as fêmeas ovígeras (PEEBLES, 1979 *apud* PINHEIRO e HEBLING).

Segundo PINHEIRO e HEBLING (*op. cit.*), durante a cópula, machos de *M. rosenbergii* utilizam o mesmo padrão de corte que outras espécies do gênero.

Primeiramente o macho reconhece as fêmeas receptivas tocando-as com suas antenas; em seguida exibe um comportamento pré-copulatório característico, protegendo-a de outros machos ou predadores, com seus quelípodés flexionados em forma de “U”, permanecendo assim até a muda pré-nupcial. Após a ecdise da fêmea, o macho eleva o cefalotórax ou o corpo todo, tocando-a por movimentos dos quelípodés e antenas. Em seguida o mesmo a coloca em posição ventral e procede a uma limpeza de seus esternitos torácicos, onde será depositado o espermatóforo. O macho coloca-se então por sobre a fêmea, depositando em poucos segundos o espermatóforo para o receptáculo espermatofórico da fêmea localizado na base do quinto par de pereiópodés. A desova ocorre aproximadamente 24 horas após a cópula. A fêmea dobra seu abdômen sob a região ventral do cefalotórax para a recepção dos óvulos liberados pelos gonóporos. Os óvulos são depositados sobre o espermatóforo e, após a fecundação, conduzidos até as cerdas dos endopoditos pleopodiais, nas quais permanecem aderidos. O tempo de postura pode durar de poucos minutos à uma hora, independentemente da duração da cópula. Caso não ocorra a fecundação, os ovos são eliminados das cerdas pleopodiais após dois ou três dias.

As fêmeas ovígeras de *M. rosenbergii* apresentam o hábito de oxigenar a massa ovígera durante a incubação, movimentando continuamente seus pleópodes. Além disso, cuidam da limpeza dos ovos, retirando corpos estranhos que se alojem entre eles.

No início do desenvolvimento embrionário, os ovos têm forma ligeiramente ovóide e uma grande quantidade de vitelo em seu interior, apresentando coloração laranja-escuro em *M. rosenbergii* e verde-escuro em *M. amazonicum*. Com o crescimento do embrião, redução do vitelo e surgimento dos olhos compostos e de cromatóforos, os ovos vão, gradativamente, mudando de cor e tonalidade até atingir uma coloração acinzentada em ambas as espécies, pouco antes de ocorrer o rompimento do córion e a eclosão das larvas.

O tempo de desenvolvimento embrionário dos crustáceos decápodes é inversamente proporcional à temperatura da água. O período de incubação dos ovos de *M. rosenbergii* a uma temperatura de 25 a 28 °C é de aproximadamente 19 dias.

Segundo PINHEIRO e HEBLING (1998), a época reprodutiva dos crustáceos decápodes de água doce está intimamente associada ao regime de chuvas, às variações térmicas e ao fotoperíodo da região onde ocorrem.

A reprodução de *M. rosenbergii* na natureza geralmente é contínua durante todo o ano, apresentando maior intensidade nos meses em que os fatores ambientais são mais favoráveis ao desenvolvimento gonadal e à sobrevivência da prole.

Os camarões de água doce apresentam sexos separados, sendo o aparelho reprodutor masculino constituído por pares de testículos, canais deferentes, sacos espermatofóricos e glândulas androgênicas, enquanto as fêmeas apresentam dois ovários e dois ovidutos (VALENTI, 1987). Os ovários localizam-se no cefalotórax e quando maduros são bastante coloridos e visíveis por transparência da carapaça. Segundo esse autor, após a maturidade sexual, os machos têm capacidade de se reproduzirem continuamente, enquanto as fêmeas passam por um ciclo de maturação gonadal, com sua primeira maturação ocorrendo ainda no primeiro ano de vida.

VALENTI *et al.* (1986) afirmaram que, em crustáceos decápodes, o amadurecimento das gônadas e a desova não são controlados exclusivamente por mecanismos endógenos; podendo sofrer também influência de condições ambientais; deste modo, espécies que apresentam reprodução sazonal, quando submetidas a condições controladas de laboratório, desovam durante todo o ano. VALENTI *et al.* (*op. cit.*) mencionaram, ainda, que em camarões do gênero *Macrobrachium* é comum a existência de uma estação reprodutiva longa, com desova mais intensa em alguns meses, principalmente durante a estação chuvosa.

Em camarões existe uma estrutura denominada hepatopâncreas, ou glândula do intestino médio, que além de órgão responsável pela síntese de secreções de enzimas, como a protease, a amilase e a lipase, possui uma grande importância na absorção e no armazenamento de reservas metabólicas, como, por exemplo, o glicogênio, que são destinadas às gônadas femininas na época da reprodução (PINHEIRO e HEBLING, 1998).

2. Desenvolvimento ovariano

Até o momento ainda não foi estabelecida uma classificação padronizada para os estádios de maturação ovariana para espécies do gênero *Macrobrachium*.

Segundo CARVALHO e PEREIRA (1981) fêmeas de *M. acanthurus* semelhante às de *M. rosenbergii* apresentam também quatro estádios de desenvolvimento gonadal. 1) Estádio I – Imaturo: ovários pequenos, incolores e transparentes; não são visíveis por transparência da carapaça; 2) Estádio II – Maturação: caracterizado pelas fases de pré-vitelogênese e vitelogênese; Estes foram subdivididos em três subestádios: a) Maturação 1: ovários opacos, esbranquiçados ou às vezes esverdeados. Nesta fase surgem os primeiros pigmentos e os ovários são visualizados através da carapaça; b) Maturação 2: ovários túrgidos, distendidos em comprimento, largura e espessura. Apresentam coloração verde-clara, com a superfície dorsal rica em cromatóforos, visíveis através da carapaça; e c) Maturação 3: ovários volumosos, túrgidos. Os ovários, de coloração verde-oliva, ricos em cromatóforos, podem ser observados sem dificuldade por transparência da carapaça; 3) Estádio III – Maduro: ovários volumosos, túrgidos, de coloração verde-escura. Quando totalmente cheios, os ovários preenchem toda a cavidade cefalotorácica dorsal, distendendo-se da base do rostro até a metade do primeiro segmento abdominal; e 4) Estádio IV – Pós-eliminação total: ovários pequenos, flácidos, de coloração pardo-amarelada ou esbranquiçada, ricamente permeados de cromatóforos. Tamanho e localização semelhantes aos observados nos estádios I e II, anteriormente descritos.

CHAVES e MAGALHÃES (1993) encontraram que a distribuição dos ovócitos nas gônadas de *M. amazonicum* coletado em lago de várzea da Amazônia Central é variável segundo o grau de maturação ovariana. Esses autores identificaram cinco fases no desenvolvimento ovocitário: 1) Ovogônias - células com citoplasma pouco evidente. Núcleo salientado, onde se observa grande acúmulo de granulações ou filamentos basófilos em diferentes graus de compactação. Ocupam sempre a região mais central das gônadas; 2) Ovócitos pré-vitelogênicos - células de formato poliédrico, com citoplasma de intensa basofilia. Núcleo com granulações mais discretas e nucléolo visível. Área nuclear semelhante à citoplasmática. Células foliculares planas e em uma única camada ao redor dos ovócitos. Adjacentes à região das ovogônias, em direção à periferia, encontram-se os ovócitos; 3) Ovócitos em vitelogênese - presença de vesículas

não coradas pela técnica empregada, dispersas corticalmente no citoplasma. Basofilia menos acentuada no citoplasma com a sua superfície nas seções consideravelmente maior que a superfície do núcleo. Ovócito com forma aproximadamente poliédrica e no núcleo, nucléolo ainda único. Ovócitos dispostos mais periféricamente que as ovogônias e que os pré-vitelogênicos; 4) Ovócitos em vitelogênese avançada - citoplasma tendendo a acidofilia. Vesículas não coradas mais numerosas. Ovócito mais desenvolvido, assim como o envoltório folicular. Núcleo dificilmente seccionado. A distribuição dos ovócitos em vitelogênese avançada é mais periférica que os ovócitos das fases anteriores; e 5) Ovócitos maduros - fase mais desenvolvida, com citoplasma de maior tamanho e fortemente acidófilo. Vesículas incolores ainda presentes. Envoltório folicular se mantém plano e uniestratificado. O núcleo raramente é seccionado, indicando um volume agora menor que o do ovócito. Os ovócitos nesta fase, quando presentes, são os localizados mais periféricamente dentre todos.

CHAVES e MAGALHÃES (*op. cit.*) identificaram, ainda, em alguns ovários, a presença de folículos pós-ovulatórios, localizados mais periféricamente que os ovócitos. Tais estruturas correspondem a cordões celulares retorcidos em maior ou menor grau, derivados dos envoltórios foliculares dos ovócitos e indicadores de sua eliminação. A morfologia dos folículos pós-ovulatórios revela que as células foliculares, após a eliminação do ovócito, sofrem hipertrofia.

BRAGAGNOLI e GROTTA (1995), baseados em características histológicas, classificaram os ovários de *M. amazonicum* nos seguintes estádios:

1) Imaturo – o ovário é caracterizado pela presença de uma região denominada zona proliferativa central (ZPC), onde se localizam os gonócitos primordiais e as oogônias, em intensa divisão mitótica. Do crescimento das oogônias, surgem os oócitos basófilos, localizados mais periféricamente em relação a ZPC e em lóbulos delimitados por tecido conjuntivo. As células foliculares começam a se evidenciar ao redor dos oócitos basófilos mais periféricos.

2) Ovário em vitelogênese - subdividido em três subestádios:

a) Ovário em pré-vitelogênese – É possível a observação da ZPC. Devido ao aumento da acidofilia citoplasmática, os oócitos basófilos mais periféricos passam a ser denominados de oócitos em pré-vitelogênese. Estes se

caracterizam pela presença de gotículas lipídicas na periferia do citoplasma e por serem circundados por células foliculares;

b) Ovário em vitelogenese 1 – Observa-se a ZPC circundada por poucos oócitos em pré-vitelogenese e mais perifericamente, oócitos em vitelogenese 1. Estes são maiores do que os oócitos em pré-vitelogenese e são mais representativos. As células foliculares cúbicas são bastante evidentes.

c) Ovário em vitelogenese 2 – em cortes transversais, a ZPC é observada, mantendo caráter basofílico, comprimida pelos oócitos em vitelogenese 2, os quais caracterizam este subestádio. Estes oócitos possuem uma acidofilia citoplasmática acentuada e são circundados por um número reduzido de células foliculares pavimentosas. Estas são achatadas e constituem uma camada em torno dos oócitos em vitelogenese 2.

3) Ovário em vitelogenese 3 ou Maduro – Observa-se a ZPC localizada em posição látero-mediana do ovário e comprimida pelos oócitos em vitelogenese 3, os quais predominam neste estágio. As células foliculares, que circundam estes oócitos, são extremamente achatadas e esparsas.

4) Ovário em pós-eliminação – Os ovários neste estágio revelam a presença da ZPC íntegra, uma camada espessa de oócitos basófilos, uma camada delgada de oócitos em pré-vitelogenese, porém é grande a quantidade de tecido conjuntivo frouxo, células foliculares e fragmentos de vitelo. Neste estágio, ocorre a eliminação parcial dos oócitos e a ZPC é mantida praticamente intacta. O restante do estroma ovariano é composto por tecido conjuntivo e grande quantidade de células foliculares.

CHANG e SHIH (1995) relataram para *M. rosenbergii*, com base na coloração e no tamanho dos ovários observados por transparência da carapaça, a existência de cinco estádios de desenvolvimento ovariano: 1) Estádio 1: sem tecido ovariano aparente; 2) Estádio 2: ovário com pequena mancha amarelada encontrada próximo à parte posterior da carapaça; 3) Estádio 3: tecido ovariano com coloração alaranjada observado da parte posterior da carapaça até a área à frente do espinho epigástrico; 4) Estádio 4: o tecido ovariano alcançando a área do espinho epigástrico e 5) Estádio 5: o tecido ovariano se estende até a parte anterior da carapaça.

De acordo com VALENTI (1996) e PINHEIRO e HEBLING (1998), a reprodução de *M. rosenbergii* na natureza geralmente é contínua durante todo o ano, porém apresenta maior intensidade nos meses nos quais os fatores ambientais são mais favoráveis ao desenvolvimento gonadal e à sobrevivência da prole. Ainda segundo esses autores, o desenvolvimento gonadal das fêmeas dessa espécie ocorre em um período de 15 a 20 dias, podendo ser observados quatro estádios ovarianos: 1) Imaturo: ovário transparente, localizado mais próximo à região posterior da carapaça e de difícil visualização a olho nu; 2) Início de maturação: ovário com coloração amarelo-claro e tamanho de 1/4 a 2/4 da cavidade cefalotorácica; 3) Em maturação: ovário com coloração de amarelo-escuro a laranja-claro, ocupando mais de 3/4 da carapaça e 4) Maduro: ovário com coloração laranja escuro, ocupando toda a cavidade cefalotorácica.

Segundo PORTO (1998), fêmeas de *M. amazonicum* têm atividade reprodutiva contínua, com maior intensidade durante a primavera, final do verão e início do outono, períodos estes que coincidem com o início e o final da estação chuvosa e aumento das temperaturas do ar e da água. Este autor considera ainda que essa espécie apresenta quatro, e não cinco estádios gonadais, pois o mesmo não considera a condição de desovado como um outro estágio: 1) Estádio I – Imaturo: ovários incolores e transparentes, de difícil visualização através da carapaça. Localizam-se sobre o hepatopâncreas, no espaço entre o coração e o estômago. Oócitos não visíveis a olho nu. Ausência de cromatóforos; 2) Estádio RD – Rudimentar: ovários no início do desenvolvimento, opacos e levemente esverdeados. Localizam-se no espaço entre a base do rostro e o coração, ocupam inicialmente 1/4, podendo atingir até 2/4, distendendo-se e começando a recobrir a borda superior do estômago. Aparência entre levemente granulosa, com oócitos pouco diferenciados, e um pouco mais granulosa, com oócitos pequenos. Alguns cromatóforos são visíveis por transparência da carapaça; 3) Estádio IN – intermediário: ovários de coloração geralmente verde-claro, opacos. Projetam-se sobre o estômago, ocupando cerca de 3/4 do espaço entre a base do rostro e o coração. Aparência um pouco mais granulosa com oócitos bem distintos. Muitos cromatóforos podem ser observados por transparência da carapaça; 4) Estádio M – Maduro: desenvolvimento máximo dos ovários, de coloração verde-escura, volumosos e túrgidos. Recobrem todo o estômago,

preenchendo inteiramente o espaço entre a base do rostro e o coração. Aparência intensamente granulosa devido aos oócitos nitidamente visíveis. Superfície dos ovários repleta de grandes cromatóforos, observados facilmente por transparência da carapaça e 5) Condição D – Desovado: ovários esbranquiçados, flácidos e pequenos. Localizam-se sobre o hepatopâncreas, ocupando a região mediana do espaço entre o estômago e o coração. Alguns indícios ajudam a reconhecer as fêmeas com ovários na condição de desovado, como a presença de câmara incubadora no abdome e vestígios de recente incubação de ovos (cascas de ovos aderidos nas cerdas ovígeras dos pleópodes).

3. Estrutura e funções do hepatopâncreas

DALL e MORIARTY (1983) relataram que o hepatopâncreas de crustáceos decápodes, também denominado glândula do intestino médio, é constituído por um grande número de simples e frágeis túbulos, revestidos por uma fina camada de tecido conjuntivo. Esta estrutura é facilmente danificada por manuseio e sua autólise também é muito rápida, ao contrário das glândulas digestivas dos vertebrados. Desse modo, estudos clássicos em glândulas intactas são de difícil execução. A funcionalidade das células do hepatopâncreas tem sido analisada principalmente por meio da citoanatomia e da citoquímica. Entretanto, há limitações para estes estudos inerentes aos procedimentos de microscopia. DALL e MORIARTY (1983) mencionaram também que

como o hepatopâncreas desempenha dois papéis distintos: secreção de enzimas e absorção de alimentos ingeridos, seu epitélio diferencia-se em pelo menos dois tipos de células. Segundo esses autores, microvilosidades sugerindo funções absorptivas foram descritas em Copepoda por RAYMONT *et al.* (1974) e em Cladocera por QUAGLIA *et al.* (1976). JOHN e NAIR (1975) e BRIGGS (1977) citados por DALL e MORIARTY (1983) descreveram em Copepoda células vesiculares que parecem liberar seu conteúdo dentro da luz do intestino; enquanto RAINBOW e WALKER (1977) citados pelos mesmos autores descobriram que em Cirripedia, ocorre uma clara diferenciação entre células com bordas microvilosas e células com vacúolos secretórios. DALL e MORIARTY (1983), mencionaram ainda, que as células E (embriônicas) apicais dão ascendência a dois tipos básicos: as células R, que estocam nutrientes, e as células F, que são secretoras. Estas parecem se desenvolver até células B, caracterizadas por um grande vacúolo único; geralmente contendo enzimas digestivas. Estes tipos de células também foram identificados por ICELY e

NOTT (1992) em outros Decapoda.

Por outro lado, para LOIZZI (1971), citado por DALL e MORIARTY (1983), as células R absorvem nutrientes e também armazenam e metabolizam lipídios e glicogênio, enquanto as células F sintetizam enzimas digestivas, que acumulam em vacúolos. Estes aumentam de tamanho e se unem até a formação do núcleo e de um complexo apical pinociticamente ativo. HOPKIN e NOTT (1980) citados por DALL e MORIARTY (*op. cit.*) sustentam a existência de duas seqüências de desenvolvimento das células do hepatopâncreas: de E para R ou de E para F e, em seguida, para B. Entretanto, estes autores acreditam que as células F produzem as enzimas digestivas, o que deixa as células B sem um papel claramente definido. DALL (1975) citado por DALL e MORIARTY (1983) mencionaram que em *Panulirus*, e provavelmente outros Decapoda, o hepatopâncreas mantém alguma secreção durante a inanição, fato demonstrado pela presença de um fluido marrom característico no intestino anterior. O nível de proteína deste fluido cai consideravelmente durante a

inanição, tanto que há presumivelmente, um mecanismo de retroalimentação relacionando a ingestão de alimento e a secreção. DALL (1975) também encontrou que uma melhor produção do fluido parece se originar do pró-ventrículo posterior, sendo que este poderia ser arrastado de regiões próximas dos túbulos do hepatopâncreas. O mecanismo de controle de secreção das células B é atualmente desconhecido, mas vários autores têm reportado um aumento inicial da secreção após a alimentação. Embora os períodos do início de secreção tenham diferido, o aumento desta é compatível com o modelo de função proventricular de POWELL (1974) citado por DALL e MORIARTY (1983), que propõe um mecanismo para rápida transmissão de enzimas do hepatopâncreas para o alimento assim que ingerido. A digestão, auxiliada pelo movimento gástrico, teria então, início quase que imediatamente após a ingestão do alimento. Alguns autores, segundo DALL e MORIARTY (1983) dentre eles GIBSON e BARKER (1979) descrevem um segundo pico de secreção cerca de 5 h após a alimentação. Isto pode representar a fase final de

digestão em túbulos do hepatopâncreas.

3.1. O papel do hepatopâncreas na maturação ovariana

CAVALLI *et al.* (2001) encontraram em fêmeas de *M. rosenbergii* aumentos significativos nos níveis de lipídios ao longo da maturação ovariana, e aumentos correspondentes no índice gonadossomático, sem no entanto encontrarem uma diminuição no nível de lipídios totais. Estes autores encontraram, ainda, diminuição nos níveis de triacilgliceróis, de ácidos graxos livres e de diacilgliceróis ao final da maturação; essa diminuição foi seguida por aumento nos níveis de triacilgliceróis nos ovários no estágio maduro. Estes autores sugerem que lipídios podem, em certa quantidade, ser transferidos do hepatopâncreas para os ovários durante a maturação.

ADIYODI (1985) relata que, em *Penaeus hydrodomus*, proteínas, lipídios e oligo e polissacarídeos do hepatopâncreas sofrem um significativo esgotamento nas fases finais de vitelogênese. Essas fontes orgânicas são máximas no estágio I do crescimento dos oócitos. Flutuações qualitativas e semiquantitativas têm sido observadas também nos níveis de açúcares livres e fosfolipídios, sugerindo que o hepatopâncreas pode suprir materiais não metabolizados que são requisitados pela vitelogênese. Este órgão tem sido considerado como um dos locais de síntese da vitelogenina, mas esta evidência ainda é tênue. Se o hepatopâncreas é realmente um local de síntese extraovariana de vitelogenina, então,

provavelmente, a vitelogenina é liberada logo após sua produção, não sendo armazenada neste tecido em quantidades substanciais.

Ainda segundo ADIYODI (1985), existem poucas dúvidas de que os oócitos dos crustáceos podem sintetizar quantidades variáveis de vitelo. A conclusão de que vitelogeninas são incorporadas de fontes extraocíticas pelos oócitos de crustáceos é apoiada pela freqüente observação de micropinocitose em oócitos da maioria dos crustáceos investigados.

KROL *et al.* (1992)
mencionam que estudos
imunológicos têm identificado
locais extraovarianos de
síntese de vitelina e
vitelogenina em alguns
decápodes. Vitelina foi
encontrada no hepatopâncreas
de *Carcinus maenas*, *Libinia*
emarginata e *Penaeus*
vannamei, enquanto
vitelogenina foi registrada em
hepatopâncreas de *Uca*
pugilator.

HIPÓTESE

Fêmeas de *M. amazonicum* coletadas no Rio Jaguaribe, Ceará apresentam fases do ciclo sexual, tamanho na primeira maturação, estádios de maturação ovariana, índices gonadossomático e hepatossomático, características macro e microscópicas de ovários e hepatopâncreas, e relação entre o índice gonadossomático e o hepatossomático nos diferentes estádios de maturação gonadal semelhantes a outras espécies do mesmo gênero.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Descrever aspectos da biologia reprodutiva de fêmeas de *M. amazonicum* do Baixo Jaguaribe, Ceará.

Objetivos Específicos

Para fêmeas de *M. amazonicum*:

- 1) Estabelecer e caracterizar as fases do ciclo sexual, sua distribuição anual e sua relação com os fatores abióticos;
- 2) Determinar o tamanho na primeira maturação;
- 3) Determinar os estádios de maturação ovariana;
- 4) Determinar os índices gonadossomático e hepatossomático;
- 5) Determinar as características macro e microscópicas de ovários e hepatopâncreas;
- 6) Estabelecer relação entre o índice gonadossomático e o hepatossomático nos diferentes estádios de maturação gonadal.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Local de coleta

As coletas foram realizadas no Rio Jaguaribe, em Itaiçaba, Ceará, à montante da Barragem Passagem das Pedras, a 200 m de altitude, 04° 40' 28" S e 37° 49' 21" W (Figura 1).

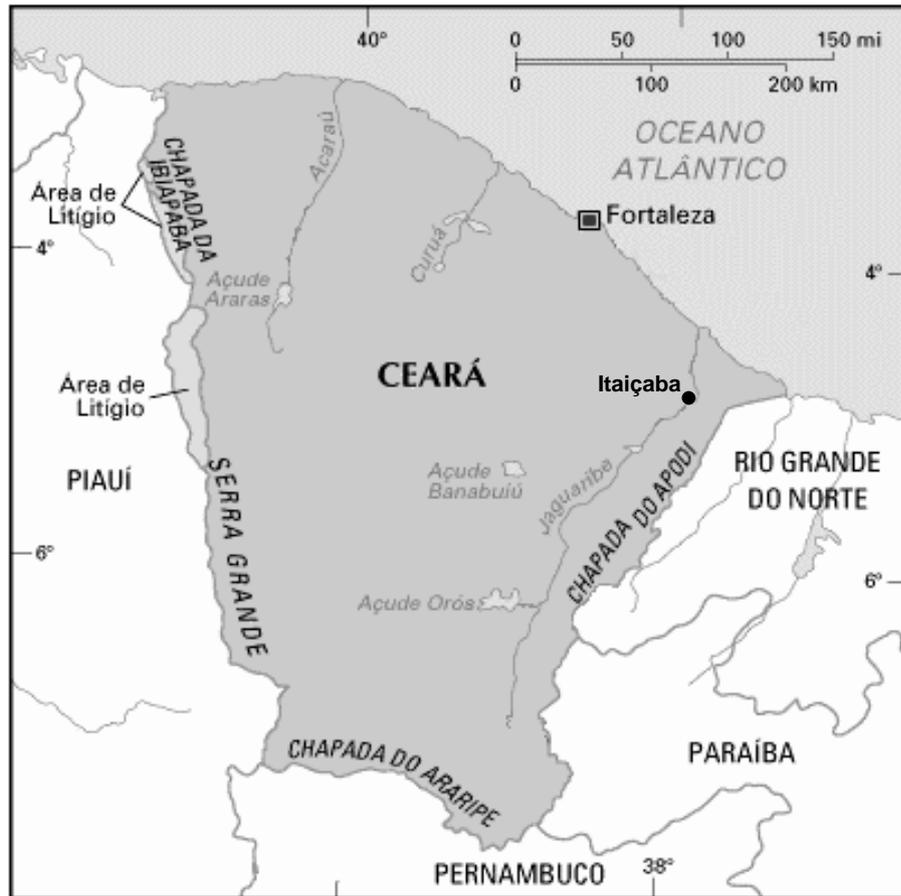


Figura 1 – Localização do município de Itaiçaba, Ceará (Fonte: <http://www.canaltur.com.brestadoce.htm>).

O Rio Jaguaribe possui 633 Km de extensão e é dividido em três sub-bacias: Alto, Médio e Baixo Jaguaribe. Na sua porção inferior, ou seja, o Baixo Jaguaribe, onde se localiza a referida Barragem, o rio apresenta 137 Km de extensão e deságua no Atlântico, no município de Aracati. Ao contrário das bacias do Alto e Médio Jaguaribe, essa se caracteriza por um predomínio dos terrenos sedimentares sobre os cristalinos (ATLAS DO CEARÁ, 1995).

2. Parâmetros ambientais

Mensalmente, no momento da coleta, eram determinados os seguintes parâmetros físico-químicos: temperatura, pH e salinidade. Em seguida, uma amostra da água do local era coletada com uma garrafa Van Dorn para determinação do oxigênio dissolvido.

Embora local de coleta esteja localizado à montante da barragem e não sofra influência direta do mar, foi realizada a determinação mensal da salinidade da água devido à existência de algumas fazendas de cultivo de camarão em água salobra na região, cujos viveiros eventualmente em época de despesca ou de chuvas escoam água para o rio.

A temperatura foi determinada com um termômetro comum (Incoterm), o pH com um peagômetro de bolso (Orion, modelo Quikchek), a salinidade, com um refratômetro portátil (Alfakit, modelo 211) e o oxigênio, em laboratório, por titulometria (método de Winkler).

3. Material coletado

As coletas de *M. amazonicum* foram realizadas mensalmente de junho de 2002 a maio de 2003 por pescador da região, com o auxílio de tarrafa. Após a coleta, os camarões foram transportados vivos ao Laboratório de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Ceará (LABIO/UECE).

Em laboratório, os camarões foram colocados em tanques providos de filtro biológico e aeração abundante. Em seguida, o material passou por triagem, identificação e sexagem. A identificação realizou-se com o auxílio de um microscópio estereoscópico e das chaves de classificação propostas por GOMES-CORRÊA (1977); HOLTHUIS (1952; 1980); RODRIGUEZ (1980) e WILLIAMS (1984).

A diferenciação entre os sexos foi realizada pela observação da morfologia do endopodito do segundo par de pleópodes, conforme sugerido por PINHEIRO e HEBLING (1998). Nos camarões de água doce, o segundo pleópode de ambos os sexos diferencia-se dos demais pela presença de um apêndice interno, em adição ao endopodito e exopodito existentes nos outros pleópodes. Os machos apresentam no segundo pleópode além do apêndice interno, um apêndice sexual que se localiza entre o interno e o endopodito (Figura 2).

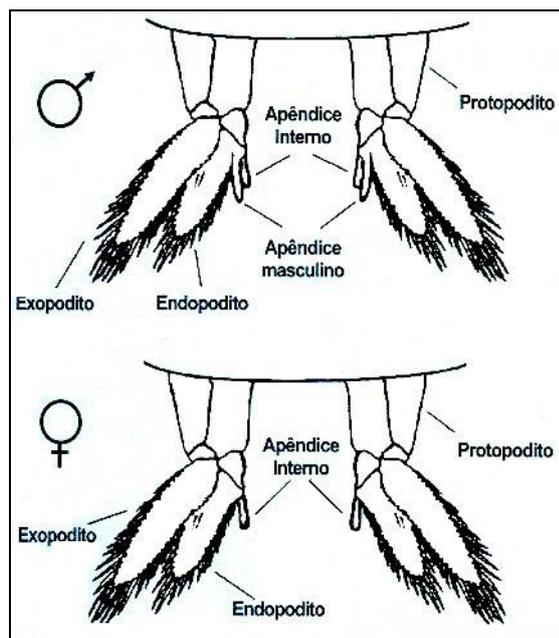


Figura 2 – Segundo par de pleópodes e apêndices de machos e fêmeas de *Macrobrachium* sp. (PINHEIRO e HEBLING, 1998).

Os animais foram alimentados diariamente, ao final da tarde, com ração artificial para animais aquáticos, a uma taxa aproximada de 10% da biomassa estocada em cada tanque.

Mensalmente, independente do número de camarões coletados e quando possível, foi selecionada, aleatoriamente, uma amostra de até 150 indivíduos de ambos os sexos.

Os machos de *M. amazonicum* amostrados neste estudo foram utilizados para o desenvolvimento de um projeto cujo objetivo foi determinar a existência e descrever a morfologia externa de morfotipos machos dessa espécie.

As fêmeas amostradas foram divididas em três grupos, de acordo com o seu estado reprodutivo:

Grupo I – fêmeas não ovígeras, ou seja, aquelas que apresentavam câmara incubadora abdominal, caracterizando vestígio de desovas anteriores (Figura 3);

Grupo II – fêmeas ovígeras, ou seja, aquelas com pleópodes carregados de ovos (Figura 4);

Grupo III – fêmeas intactas, ou seja, aquelas que não apresentavam câmara incubadora abdominal.



Figura 3 – A. Fêmea não ovígera de *M. amazonicum*; B. Abdômen de fêmea não ovígera: destaque para a câmara incubadora abdominal, indicadora de desovas anteriores.



Figura 4 – A. Fêmea ovígera de *M. amazonicum*; B. Abdômen de fêmea ovígera: destaque para a presença de ovos aderidos aos pleópodes.

4. Obtenção dos dados morfométricos

De cada um dos três grupos de fêmeas, foi determinado individualmente:

- a) peso total (W_T)
- b) comprimento do cefalotórax (L_C)
- c) comprimento do abdômen+telson (L_{A+T}), estes últimos somadas originaram o comprimento total (L_T), sendo:

L_C - distância entre a extremidade distal do rostro ao ponto mediano da parte posterior da carapaça.

L_{A+T} - distância entre o ponto mediano da margem súpero-anterior do primeiro segmento abdominal ao ponto mediano da extremidade distal do telson.

As medidas de comprimento foram obtidas através de um paquímetro de aço graduado em mm e com precisão de 0,05 mm (Mitutoyo, calibre: 150 mm x

6”). O peso total foi determinado em uma balança semi-analítica com precisão de 0,01 g (Gehaka, modelo BG 2000).

5. Determinação dos estádios de maturação ovariana e análise microscópica

A determinação dos estádios de maturação ovariana de *M. amazonicum* foi realizada em laboratório, por meio da observação de caracteres macroscópicos como coloração, tamanho, localização e aparência dos ovários observados por transparência da carapaça, de acordo com a escala e os critérios estabelecidos por PORTO (1998) para *M. amazonicum* e adaptados a partir de CARVALHO (1978); CARVALHO e PEREIRA (1981) e CARVALHO-PINHEIRO (1983) para *M. (acanthurus)*.

Baseado na proposta de PORTO (1998), os ovários de *M. amazonicum* foram classificados, de acordo com o desenvolvimento ovariano em quatro estádios: I = imaturo; II = rudimentar; III = em maturação ou intermediário; IV = maduro. Além destes, o autor considerou também a condição desovado.

Mensalmente, dentre os grupos das fêmeas ovígeras, não ovígeras e intactas retiraram-se gônadas e hepatopâncreas de dois exemplares pertencentes a cada um dos cinco estádios de maturação gonadal acima referidos. Para tanto, foi efetuado um corte na porção dorsal da carapaça, com uma tesoura de ponta fina. Os órgãos foram então retirados e pesados, separadamente, em vidro relógio tarado, contendo formol tamponado para evitar seu ressecamento, em balança analítica Sartorius, modelo BP 210 S, com precisão de 0,0001 g.

Após a retirada, a observação macroscópica e a pesagem, gônadas e hepatopâncreas foram fixados em formol tamponado durante 24 horas. Após este período, para a retirada do excesso de formol tamponado, os órgãos foram lavados a cada 2 horas durante um período de 12 horas, com tampão fosfato, para se evitar um choque osmótico nas células. Decorrido esse tempo, as estruturas foram então conservadas em álcool 70% até a continuação dos procedimentos histológicos.

Para o emblocamento das estruturas, gônadas e hepatopâncreas foram submetidas à imersão em álcool 80%, durante “overnight”. Em seguida, as peças passaram por processos de desidratação e diafanização, segundo metodologia

consagrada e, então, inclusas em Paraplast. Posteriormente, os blocos sofreram cortes longitudinais seriados de 5 µm de espessura. Após devidamente identificados, os cortes foram estocados em caixas de madeira apropriadas até que as colorações fossem realizadas.

A coloração por PAS, para identificação de polissacarídeos neutros, foi realizada a partir da metodologia descrita por JUNQUEIRA e JUNQUEIRA (1983), com a modificação de os cortes não terem sido inseridos em solução aquosa de preparado bruto de amilase. Após serem realizadas a retirada do excesso de Paraplast e a hidratação, os cortes foram imersos em solução de ácido periódico, em seguida no reagente de Schiff e contracorados com hematoxilina de Harris. Depois destes procedimentos, os cortes foram submetidos à desidratação e diafanização.

A coloração por azul de bromofenol, realizada conforme a metodologia proposta por PEARSE (1960), foi utilizada para a identificação de proteínas totais. Dos cortes foi retirado o excedente de Paraplast e, em seguida, os mesmos foram submetidos à hidratação, imersão em azul de bromofenol e, posteriormente, em solução de ácido acético a 0,5%. Após estas etapas, os cortes foram desidratados e diafanizados.

Depois dos procedimentos de coloração, os cortes foram montados em lâminas utilizando-se Permount.

A descrição microscópica dos ovários foi baseada nas propostas de CARVALHO e PEREIRA (1981) e CHAVES e MAGALHÃES (1993), e a do hepatopâncreas, em BELL e LIGHTNER (1988) e BHAVAN e GERALDINE (2000).

A análise das lâminas foi realizada em microscópio (MLW, modelo Labiplan). A fotodocumentação das lâminas foi realizada em fotomicroscópio (Olympus, modelo CH30) com intensidade de luz nível 4 e ocular 10x.

O critério utilizado na avaliação da presença de proteínas e carboidratos em ovários e hepatopâncreas foi adaptado a partir da classificação utilizada por FYHN e COSTLOW (1977) e LIMA (1995), que consiste em um sistema de pontuação baseado na intensidade de coloração de acordo com a seguinte escala: (+) = muito fraca; (++) = fraca; (+++) = moderada; (++++) = forte; (+++++) = muito forte.

6. Estabelecimento do ciclo sexual

Para estabelecimento do ciclo sexual de *M. amazonicum*, utilizaram-se os três métodos propostos por CARVALHO (1978) para *M. acanthurus* e adaptados por PORTO (1998) para *M. amazonicum*, ou seja: registro de frequência periódica de fêmeas ovígeras; características macro e microscópicas das gônadas e o índice gonadossomático.

O registro mensal das frequências absoluta e relativa de fêmeas ovígeras de *M. amazonicum* foi realizado durante todo o período de coleta.

As características macroscópicas das gônadas de *M. amazonicum* foram avaliadas a partir da amostragem mensal de todas as fêmeas selecionadas aleatoriamente e distribuídas dentro dos três grupos, ou seja, não ovígeras, ovígeras e intactas.

7. Determinação do índice gonadossomático

O índice gonadossomático para *M. amazonicum* foi determinado a partir dos dados de peso total das fêmeas e de peso de suas gônadas, através da seguinte fórmula:

$$\text{IGS} = \frac{W_G \cdot 100}{W_T}$$

onde: W_G - peso das gônadas (mg)

W_T - peso da fêmea (mg)

8. Determinação do índice hepatossomático

O índice hepatossomático para *M. amazonicum* foi determinado a partir dos dados de pesos total das fêmeas e de peso de seus hepatopâncreas, como proposto por CAVALLI *et al.* (1999), através da seguinte fórmula:

$$\text{IHS} = \frac{W_H \cdot 100}{W_T}$$

onde: W_H - peso do hepatopâncreas (mg)

W_T - peso da fêmea (mg)

9. Tamanho da primeira maturação

Segundo VAZZOLER (1982), entende-se por início da primeira maturação sexual o momento em que 50% dos indivíduos constituintes de uma população entram ativamente na fase de maturação gonadal. Para determinação do tamanho da primeira maturação foram utilizados os dados de comprimento total durante o período de coleta, considerando-se dois grupos:

- a) Fêmeas imaturas: aquelas que se apresentam com gônadas imaturas;
- b) Fêmeas maduras: com gônadas em maturação, madura e esvaziada, ou seja, todas as não imaturas.

Em seguida, foi obtida para cada uma das classes de comprimento a frequência relativa de fêmeas imaturas e maduras. Os dados foram então lançados em gráfico, sendo X o comprimento e Y a frequência relativa. O comprimento médio da primeira maturação sexual foi determinado como o ponto de encontro das curvas destes dos grupos de fêmeas.

10. Análise estatística

O procedimento GLM do programa SAS (SAS, Inc. Cary, NC) foi utilizado para a análise de variância (ANOVA) dos dados. Os fatores usados no modelo foram CONDIÇÃO (NO - não ovígeras e OV - ovígeras), ESTÁDIO (IM – imaturo; RU – rudimentar; IN – intermediário; MA – maduro e DE – desovado) e ÍNDICES (IGS e IHS).

As diferenças entre os estádios e índices foram estabelecidas pelo teste *t*, enquanto o teste de Duncan foi utilizado para a comparação entre condições dentro de cada estádio.

RESULTADOS

1. Parâmetros ambientais

Durante as coletas mensais de camarões no Rio Jaguaribe, Ceará, a temperatura da água variou entre 27,0 ° e 31,0 °C; o oxigênio dissolvido entre 4,6 mg/L e 7,2 mg/L e o pH de 7,4 e 8,4. A salinidade mensal durante todo o período foi igual a 0 ‰. Devido a problemas técnicos, não foi possível a determinação desses parâmetros em julho de 2003.

Tabela 1 – Distribuição mensal dos parâmetros ambientais do Rio Jaguaribe, Ceará, no período de junho de 2002 a maio de 2003.

Mês	Temperatura (°C)	Oxigênio dissolvido (mg/L)	pH
06/2002	27,5	6,0	8,0
07/2002	-	-	-
08/2002	27,5	5,5	8,3
09/2002	28,5	7,2	8,4
10/2002	27,0	6,1	8,4
11/2002	27,5	6,1	7,6
12/2002	28,0	5,7	8,0
01/2003	29,0	5,1	7,4
02/2003	29,0	4,6	7,4
03/2003	29,0	5,4	7,8
04/2003	29,0	5,7	7,6
05/2003	31,0	5,5	7,8

2. Ciclo reprodutivo

Foram coletados 1.337 exemplares, sendo 513 machos (38,4%) e 824 fêmeas (61,6%). O número de fêmeas na população de *M. amazonicum* no Rio Jaguaribe foi superior ao de machos, sendo a proporção destas em torno 1,6:1. Dentre as fêmeas coletadas 492 (50,7%) foram classificadas como não ovígeras, pois não portavam ovos no abdômen e 332 (40,3%) foram classificadas como ovígeras, pois apresentavam ovos aderidos ao abdômen. Não foi registrada a ocorrência de fêmeas intactas durante todo o período de coletas.

A distribuição mensal de frequência absoluta de exemplares, machos e fêmeas, e a distribuição mensal de frequência absoluta de fêmeas não ovígeras e ovígeras de *M. amazonicum* coletados no Rio Jaguaribe podem ser observadas nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

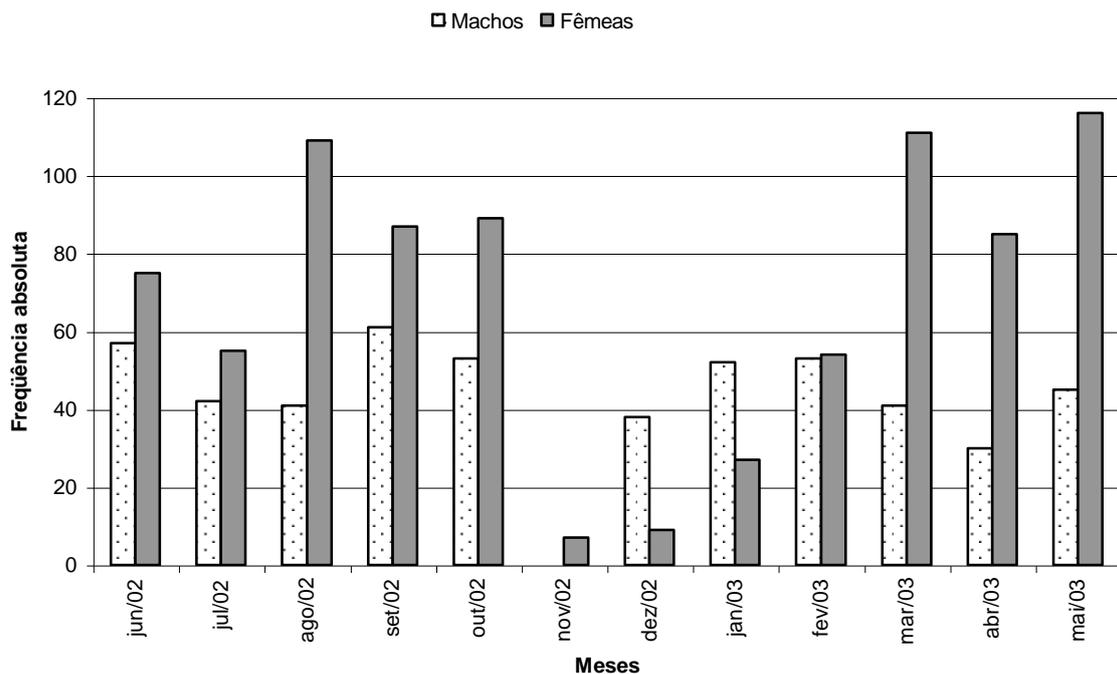


Figura 5 – Distribuição mensal de frequência absoluta de machos e fêmeas de *M. amazonicum* coletados no período de junho de 2002 a maio de 2003, no Rio Jaguaribe, Ceará.

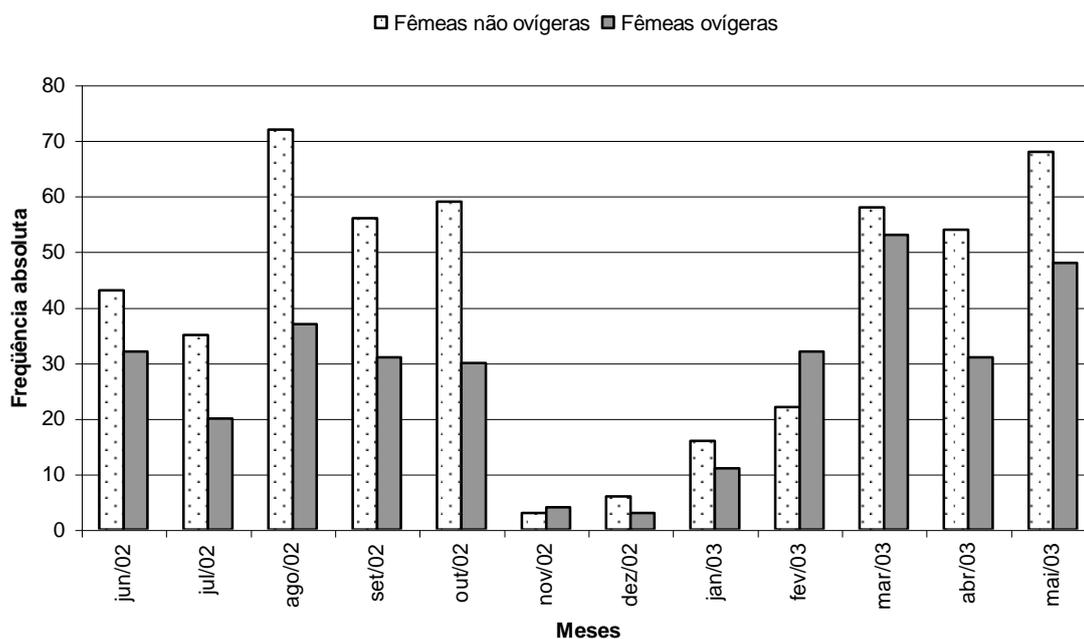


Figura 6 – Distribuição mensal de freqüência absoluta de fêmeas não ovígeras e ovígeras de *amazonicum* coletadas no período de junho de 2002 a maio de 2003, no Rio Jaguaribe, Ceará.

3. Determinação dos estádios de maturação ovariana

Para a determinação dos estádios de maturação ovariana de *M. amazonicum*, foram avaliados a coloração, o tamanho, a localização e a aparência das gônadas através de observação por transparência da carapaça.

O exame dos ovários das fêmeas de *M. amazonicum* coletadas no Rio Jaguaribe permitiu a identificação de cinco estádios durante seu desenvolvimento gonadal:

1. Imaturo: Os ovários são de difícil visualização por meio da observação da transparência da carapaça. Apresentam-se incolores e ocupam cerca de 1/4 do espaço cefalotorácico, com peso médio de $0,0137 \text{ g} \pm 0,0089$. Possuem consistência gelatinosa e devido a isto, são de difícil remoção. Apresentam cromatóforos na cápsula ovárica e seus ovócitos não são visualizáveis a olho nu (Figura 7).

2. Rudimentar: Ovários neste estágio já são visíveis por meio da observação da transparência da carapaça, visto que já iniciaram o desenvolvimento. Apresentam-se levemente esverdeados e opacos e ocupam de 1/4 a 1/2 do espaço cefalotorácico, com peso médio de $0,0319 \text{ g} \pm 0,0209$. Possuem aparência pouco granulosa, podendo apresentar ovócitos pouco diferenciados. É possível visualizar seus cromatóforos na cápsula ovárica (Figura 8).

3. Intermediário: De modo geral, os ovários neste estágio apresentam coloração verde claro. São opacos e ocupam aproximadamente 3/4 do espaço cefalotorácico, com peso médio de $0,0922 \text{ g} \pm 0,0614$. Apresentam aparência granulosa mais intensa. A visualização por meio da transparência da carapaça evidencia inúmeros cromatóforos na cápsula ovárica. Seus ovócitos podem ser distinguidos a olho nu (Figura 9).

4. Maduro: Neste estágio os ovários atingem o desenvolvimento máximo. Apresentam coloração verde escura. São volumosos, preenchendo totalmente o espaço cefalotorácico, com peso médio de $0,1603 \text{ g} \pm 0,0920$. Possuem consistência intensamente granulosa. É possível se observar uma enorme quantidade de grandes cromatóforos, através da carapaça. Os ovócitos são nitidamente visíveis a olho nu (Figura 10).

5. Desovado: Nesta condição, os ovários são de difícil visualização por meio da transparência da carapaça. Apresentam-se esbranquiçados. Ocupam cerca de 1/4 do espaço cefalotorácico, com peso médio de $0,0174 \text{ g} \pm 0,0149$. Possuem consistência também gelatinosa. Ovócitos isolados podem ser observados nos ovários. As fêmeas nesta condição geralmente apresentam vestígios de ovos no abdômen, o que sugere uma desova recente (Figura 11).



Figura 7 – A. Fêmea com ovários no estágio imaturo; B. Ovários no estágio imaturo.



Figura 8 – A. Fêmea com ovários no estágio rudimentar; B. Ovários no estágio rudimentar.



Figura 9 – A. Fêmea com ovários no estágio intermediário; B. Ovários no estágio intermediário.

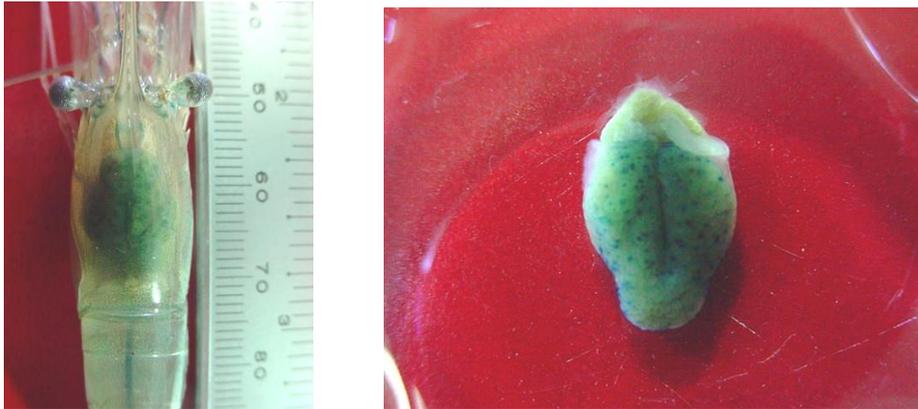


Figura 10 – A. Fêmea com ovários no estágio maduro; B. Ovários no estágio maduro.

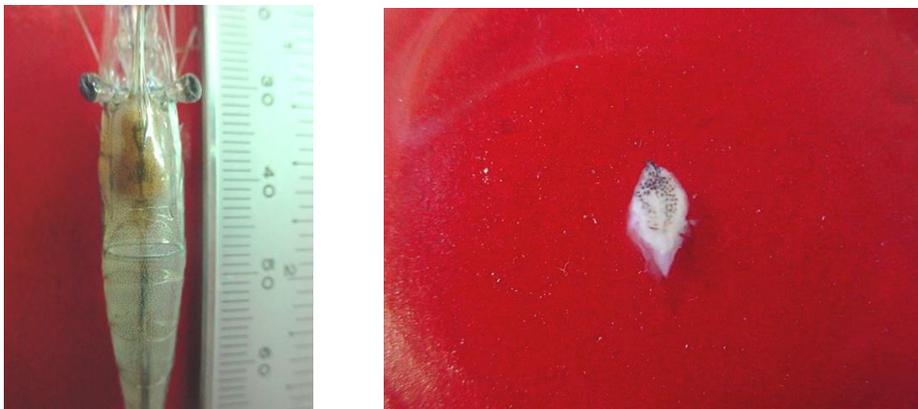


Figura 11 – A. Fêmea com ovários na condição desovado; B. Ovários na condição desovado.

A distribuição mensal, quanto aos estádios de desenvolvimento ovariano, de fêmeas não ovígeras e ovígeras pode ser observada nas Figuras 12 e 13, respectivamente.



Figura 7 – A. Fêmea com ovários no estágio imaturo; B. Ovários no estágio imaturo.



Figura 8 – A. Fêmea com ovários no estágio rudimentar; B. Ovários no estágio rudimentar.



Figura 9 – A. Fêmea com ovários no estágio intermediário; B. Ovários no estágio intermediário.



Figura 10 – A. Fêmea com ovários no estágio maduro; B. Ovários no estágio maduro.



Figura 11 – A. Fêmea com ovários na condição desovado; B. Ovários na condição desovado.

A distribuição mensal, quanto aos estádios de desenvolvimento ovariano, de fêmeas não ovígeras e ovígeras pode ser observada nas Figuras 12 e 13, respectivamente.

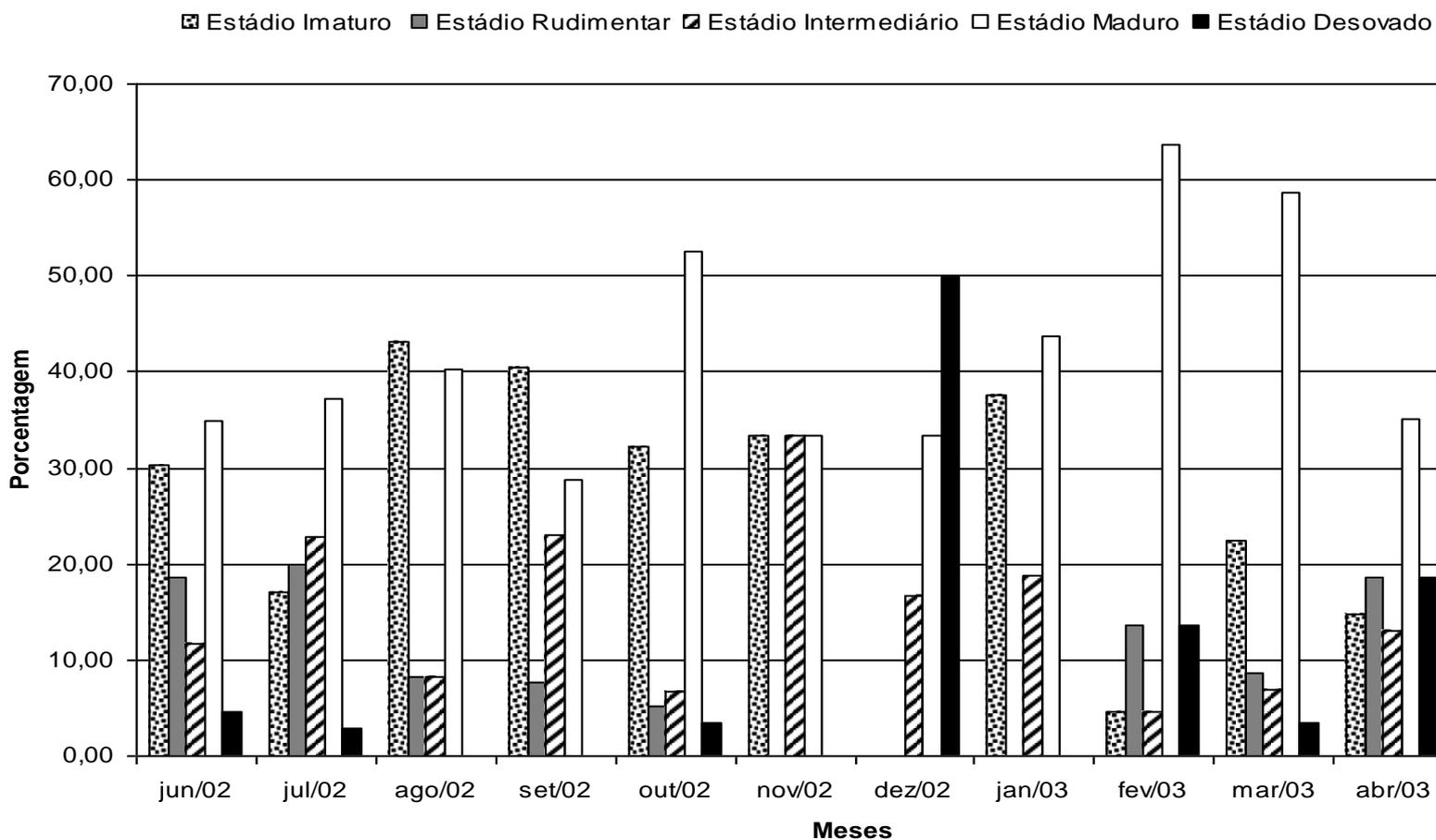


Figura 12 – Distribuição da freqüência relativa mensal de fêmeas não ovígeras por estádios de desenvolvimento ovariano.

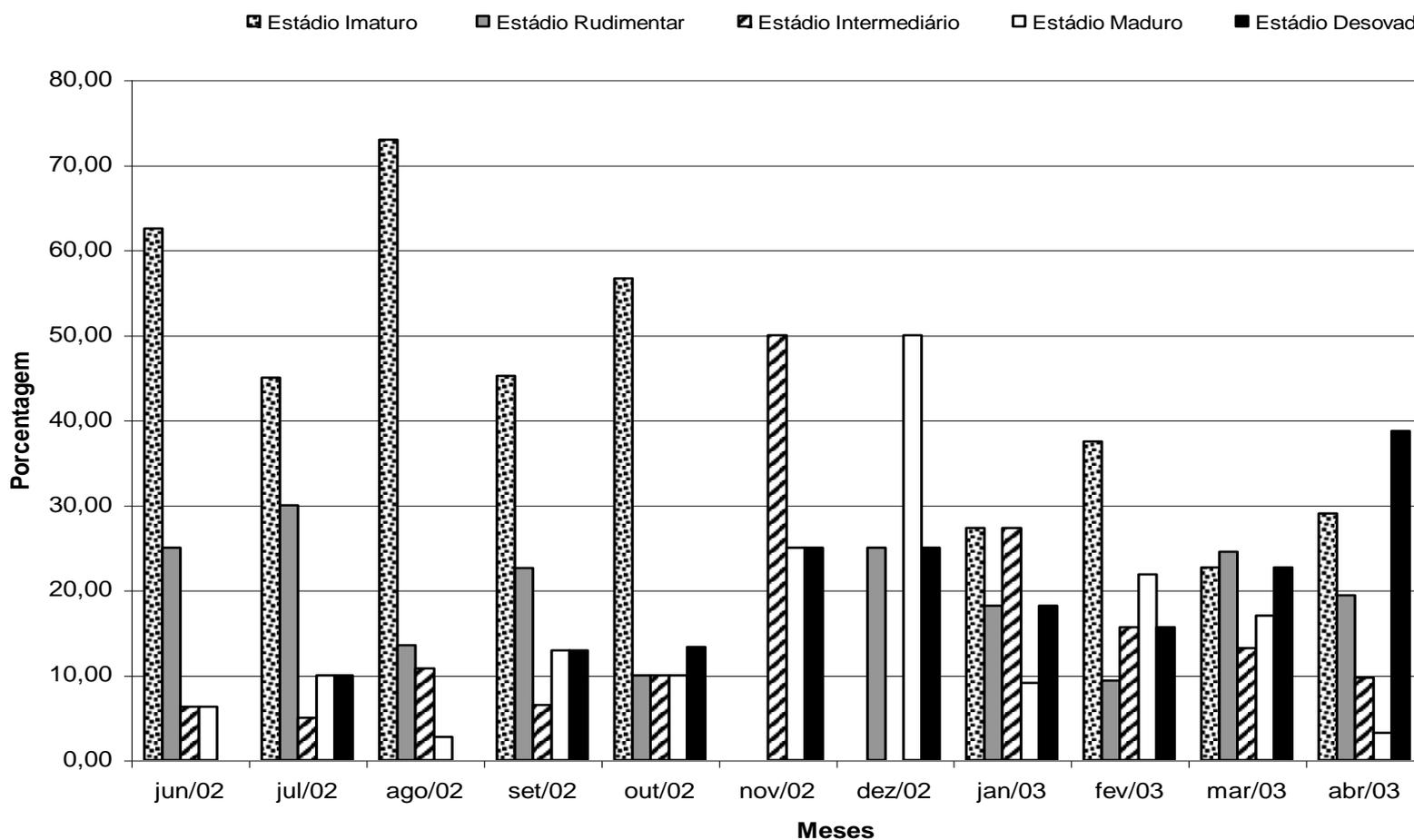


Figura 13 – Distribuição da freqüência relativa mensal de fêmeas ovígeras por estádios de desenvolvimento ovariano.

4. Determinação dos índices gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS) e sua relação com os estádios de maturação ovariana

Foi observado que em fêmeas não ovígeras, o IGS do estágio intermediário ($2,9641 \pm 1,2197$) e do estágio maduro ($5,4642 \pm 2,5022$) apresentaram diferenças significativas entre si e com os outros estádios e com a condição desovado ($P < 0,05$). O IHS dos estádios imaturo e rudimentar não diferiram significativamente entre si, mas sim com o do estágio maduro e a condição desovado. Vale ressaltar que o IHS do estágio intermediário ($3,4906 \pm 1,2699$) não apresentou diferença significativa com os demais estádios e condição. Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre o IGS e o IHS de fêmeas não ovígeras em todos os estádios e condição (Tabela 2, Figura 14).

Tabela 2 – Índice gonadossomático médio (IGS) e índice hepatossomático médio (IHS) de fêmeas não ovígeras por estágio e condição de maturação ovariana.

Estádio/Condição	Não Ovígeras	
	IGS médio	IHS médio
Imaturo	$0,5629 \pm 0,2751$ Aa	$2,9958 \pm 0,9894$ Ba
Rudimentar	$0,9629 \pm 0,5891$ Aa	$3,2928 \pm 1,6569$ Ba
Intermediário	$2,9641 \pm 1,2197$ Ab	$3,4906 \pm 1,2699$ Bab
Maduro	$5,4642 \pm 2,5022$ Ac	$2,6747 \pm 1,4302$ Bb
Desovado	$0,4581 \pm 0,2385$ Aa	$2,7327 \pm 1,3462$ Bb

* Valores de IGS e de IHS (média \pm sd) em uma linha seguidos por mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si a um nível de 5% de significância.

** Valores de IGS e de IHS (média \pm sd) em uma coluna seguidos por mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si a um nível de 5% de significância.

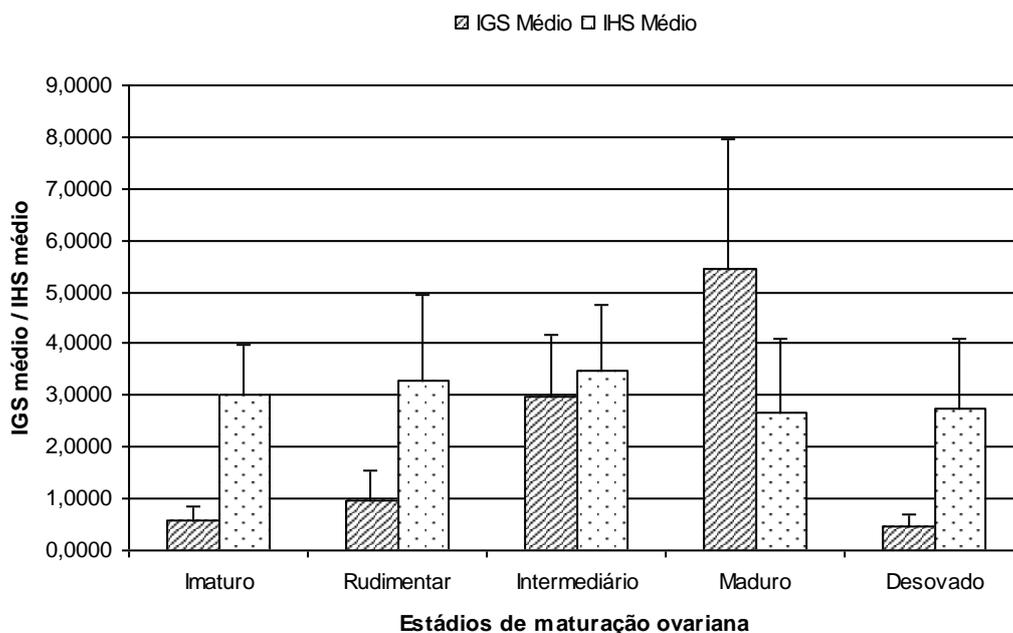


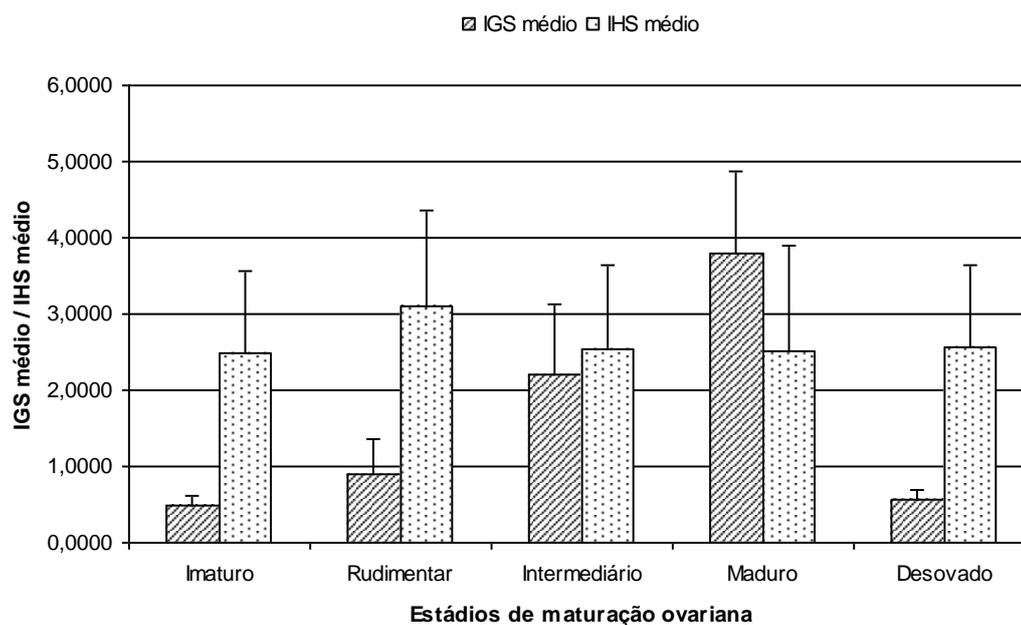
Figura 14 – Valores de IGS e IHS médios por estágio e condição de maturação ovariana para fêmeas não ovígeras.

Em fêmeas ovígeras, foi observado que o IGS do estágio maduro ($3,7982 \pm 1,0744$) apresentou diferença significativa ($P < 0,05$). O IHS apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) apenas no estágio rudimentar ($3,1020 \pm 1,2507$). Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre o IGS e o IHS de fêmeas ovígeras em todos os estágios e condição, exceto no intermediário (Tabela 3, Figura 15).

Tabela 3 – Índice gonadossomático médio (IGS) e índice hepatossomático médio (IHS) de fêmeas ovígeras por estágio e condição de maturação ovariana.

Estádio/Condição	Ovígeras	
	IGS médio	IHS médio
Imaturo	$0,4767 \pm 0,1381$ Aa	$2,4842 \pm 1,0675$ Ba
Rudimentar	$0,9007 \pm 0,4666$ Ab	$3,1020 \pm 1,2507$ Bb
Intermediário	$2,1945 \pm 0,9251$ Ac	$2,5417 \pm 1,0979$ Aa
Maduro	$3,7982 \pm 1,0774$ Ad	$2,5023 \pm 1,3972$ Ba
Desovado	$0,5583 \pm 0,1242$ Aa	$2,5531 \pm 1,0850$ Ba

* Valores de IGS e de IHS (média \pm sd) em uma linha seguidos por mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si a um nível de 5% de significância.



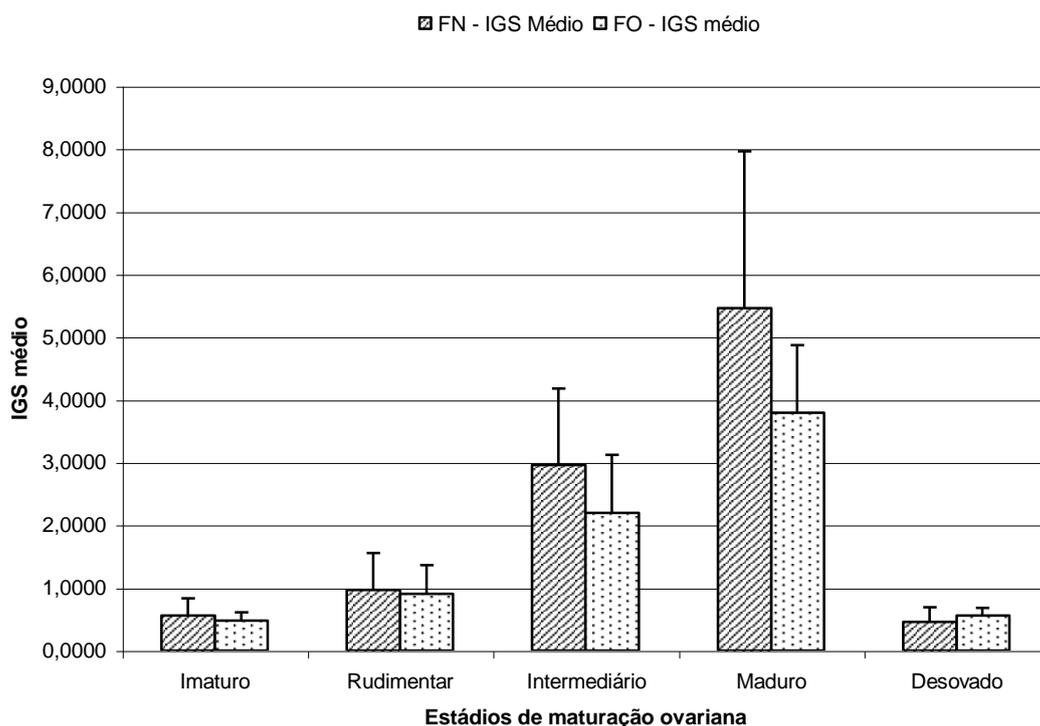
** Valores de IGS e de IHS (média \pm sd) em uma coluna seguidos por mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si a um nível de 5% de significância.

Figura 15 – Valores de IGS e IHS médios por estágio e condição de maturação ovariana para fêmeas ovígeras.

Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre o IGS de fêmeas não ovígeras e ovígeras em todos os estádios e condição, exceto no rudimentar (Tabela 4, Figura 16).

Tabela 4 – Índice gonadossomático médio (IGS) para fêmeas não ovígeras e ovígeras por estágio e condição de maturação ovariana.

Estádio/Condição	IGS médio	
	Não ovígeras	Ovígeras
Imaturo	0,5629 \pm 0,2751 A	0,4767 \pm 0,1381 B
Rudimentar	0,9629 \pm 0,5891 A	0,9007 \pm 0,4666 A
Intermediário	2,9641 \pm 1,2197 A	2,1945 \pm 0,9251 B
Maduro	5,4642 \pm 2,5022 A	3,7982 \pm 1,0774 B
Desovado	0,4581 \pm 0,2385 A	0,5583 \pm 0,1242 B



* Valores de IGS (média \pm sd) em uma linha seguidos por mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si a um nível de 5% de significância.

Figura 16 – Valores de IGS médio por estágio e condição de maturação ovariana para fêmeas não ovígeras e ovígeras.

Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre o IHS de fêmeas não ovígeras e ovígeras nos estádios imaturo e intermediário (Tabela 5, Figura 17).

Tabela 5 – Índice hepatossomático médio (IHS) para fêmeas não ovígeras e ovígeras por estágio e condição de maturação ovariana.

Estádio/Condição	IHS médio	
	Não ovígeras	Ovígeras
Imaturo	2,9958 \pm 0,9894 A	2,4842 \pm 1,0675 B
Rudimentar	3,2928 \pm 1,6569 A	3,1020 \pm 1,2507 A
Intermediário	3,4906 \pm 1,2699 A	2,5417 \pm 1,0979 B
Maduro	2,6747 \pm 1,4302 A	2,5023 \pm 1,3972 A
Desovado	2,7327 \pm 1,3462 A	2,5531 \pm 1,0850 A

* Valores de IHS (média \pm sd) em uma linha seguidos por mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si a um nível de 5% de significância.

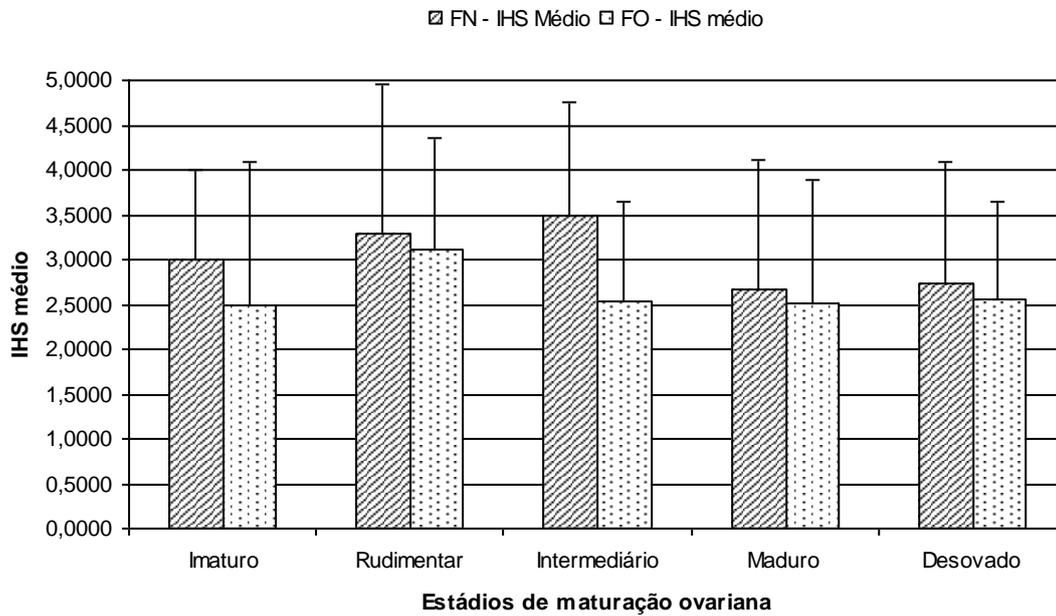


Figura 17 – Valores de IHS médio por estágio e condição de maturação ovariana para fêmeas ovígeras e não ovígeras.

4.1 – Distribuição do IGS e do IHS por classes de peso, de acordo com o grau de maturação, para fêmeas não ovígeras e ovígeras

A relação entre o IGS e o IHS médios por classes de peso total para fêmeas não ovígeras pode ser observada nas Figuras 18, 19, 20, 21 e 22.

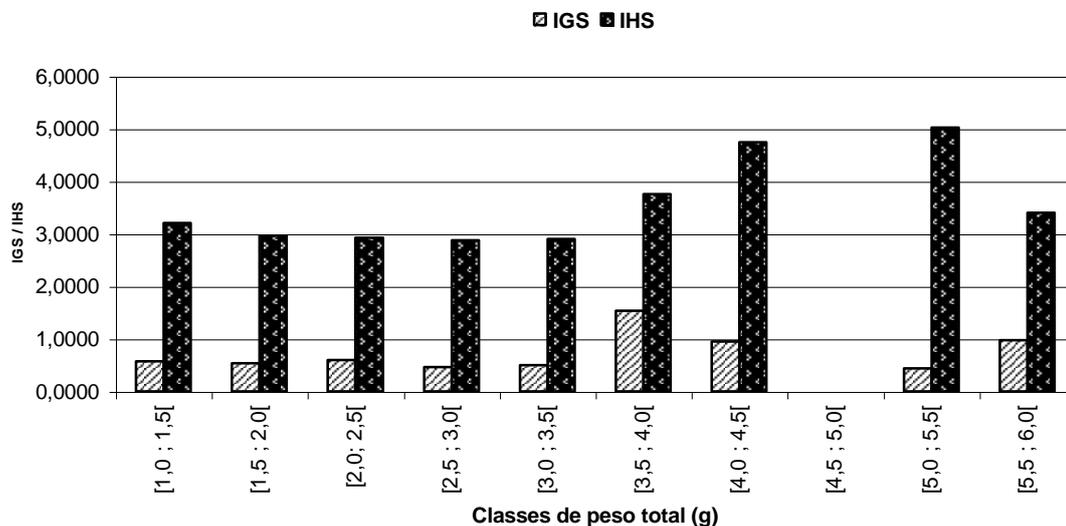


Figura 18 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras no estágio imaturo de desenvolvimento ovariano.

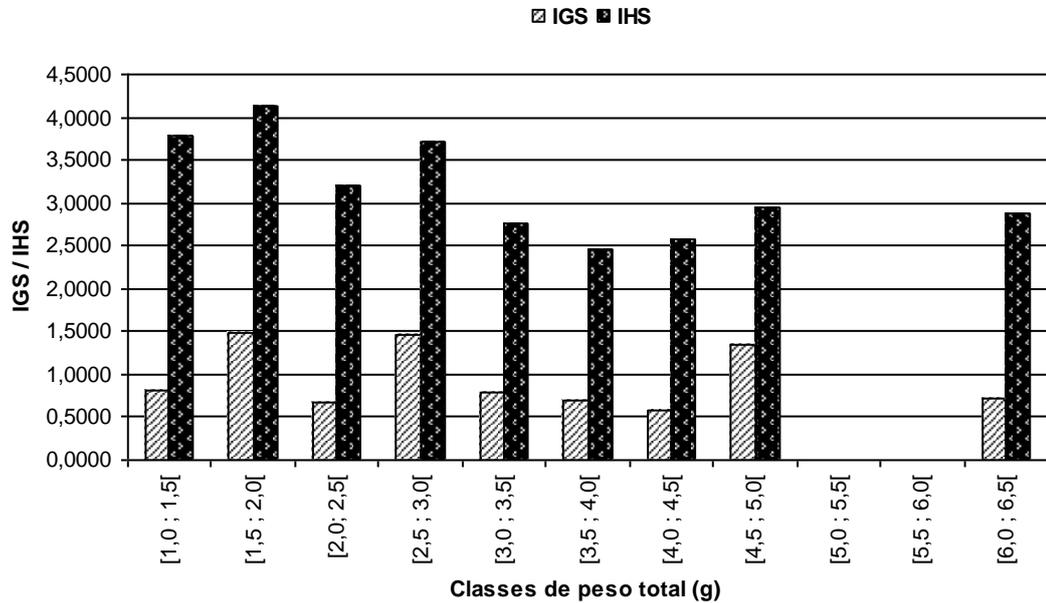


Figura 19 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras no estágio rudimentar de desenvolvimento ovariano.

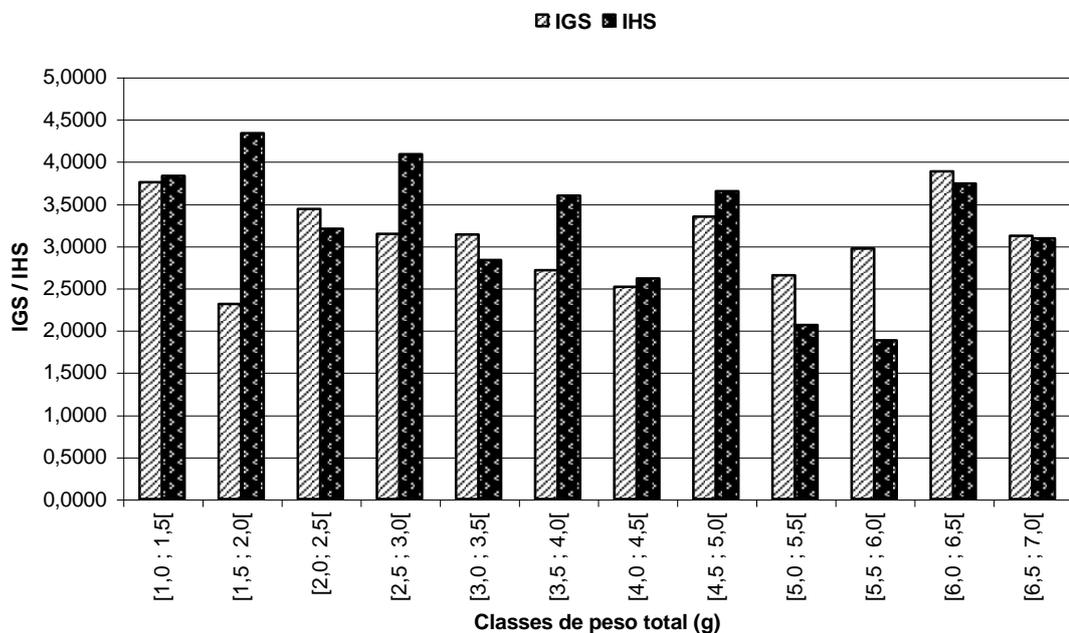


Figura 20 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras no estágio intermediário de desenvolvimento ovariano.

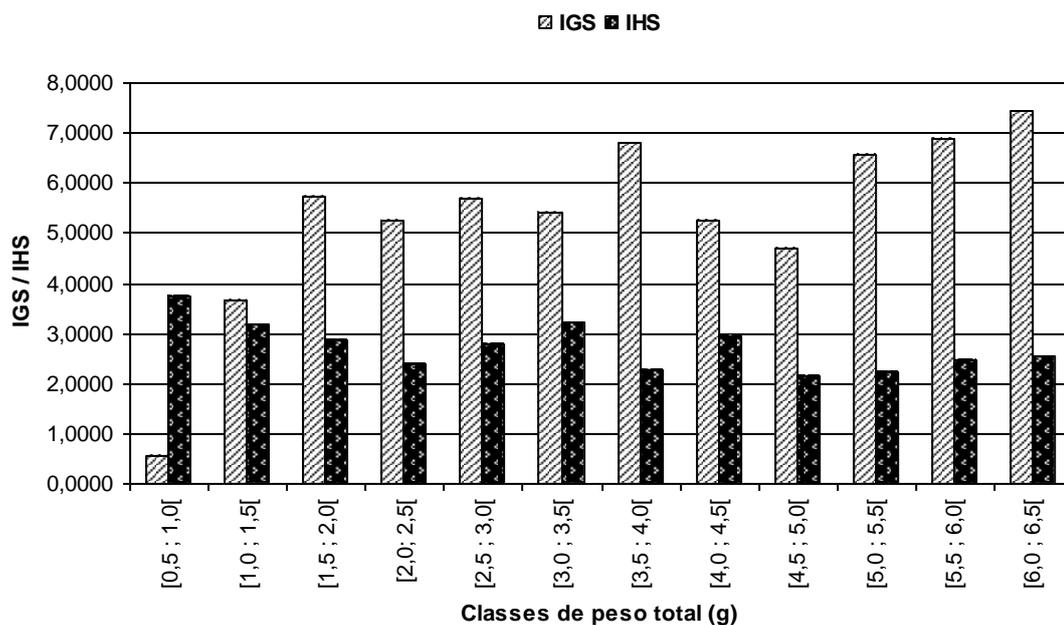


Figura 21 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras no estágio maduro de desenvolvimento ovariano.

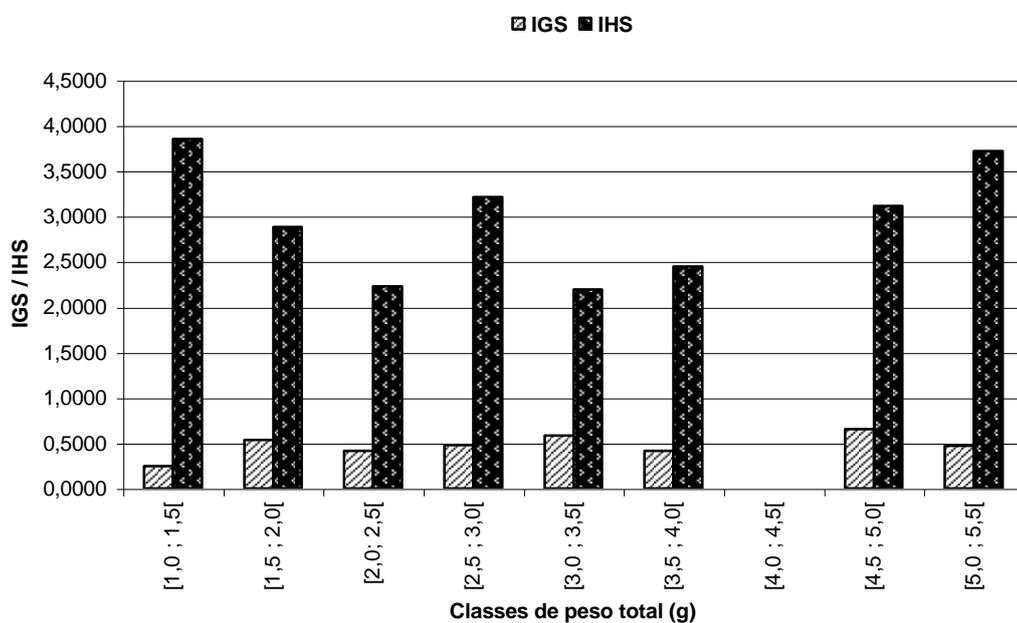
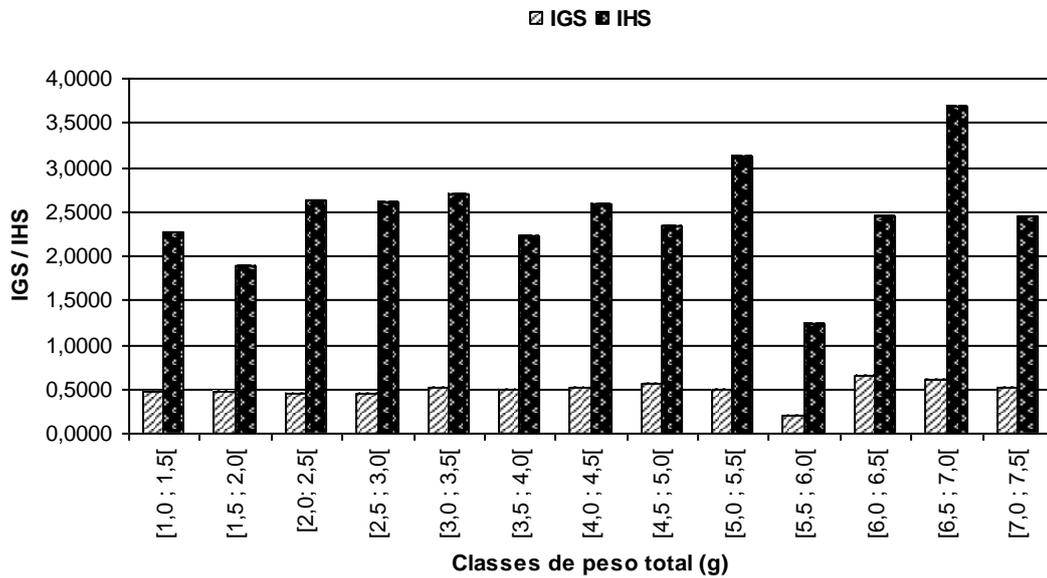


Figura 22 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas não ovígeras na condição desovado de desenvolvimento ovariano.

A relação entre o IGS e o IHS por classes de peso total para fêmeas ovígeras pode ser



observada nas Figuras 23, 24, 25, 26 e 27.

Figura 23 - Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras no estágio imaturo de desenvolvimento ovariano.

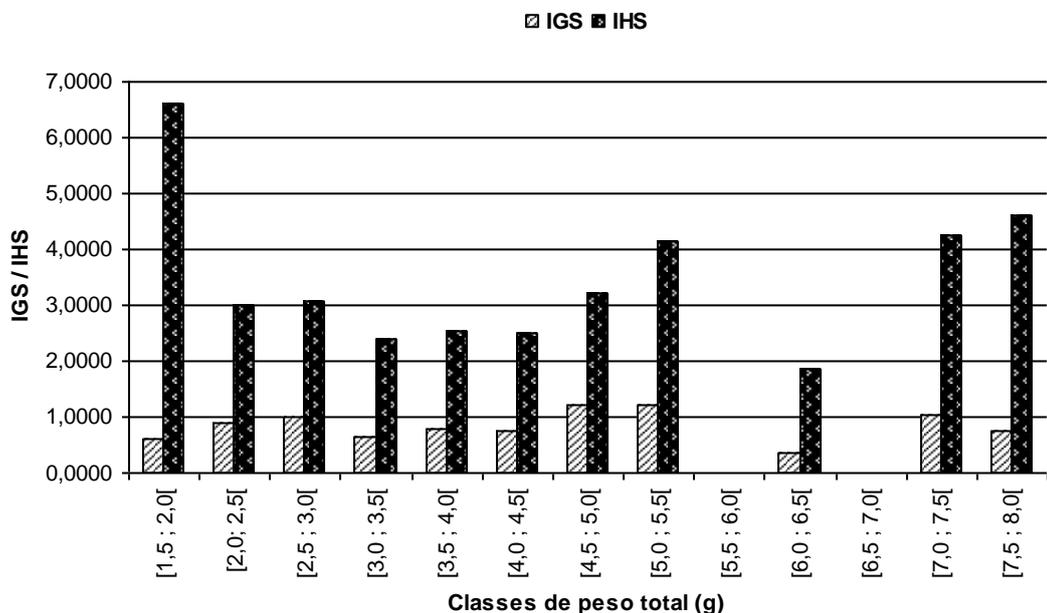


Figura 24 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras no estágio rudimentar de desenvolvimento ovariano.

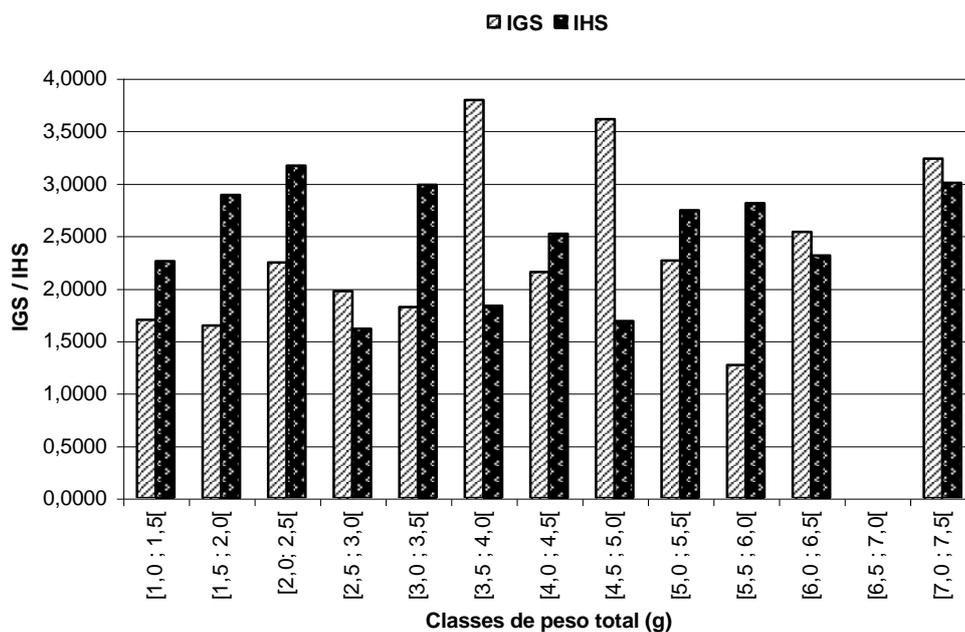


Figura 25 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras no estágio intermediário de desenvolvimento ovariano.

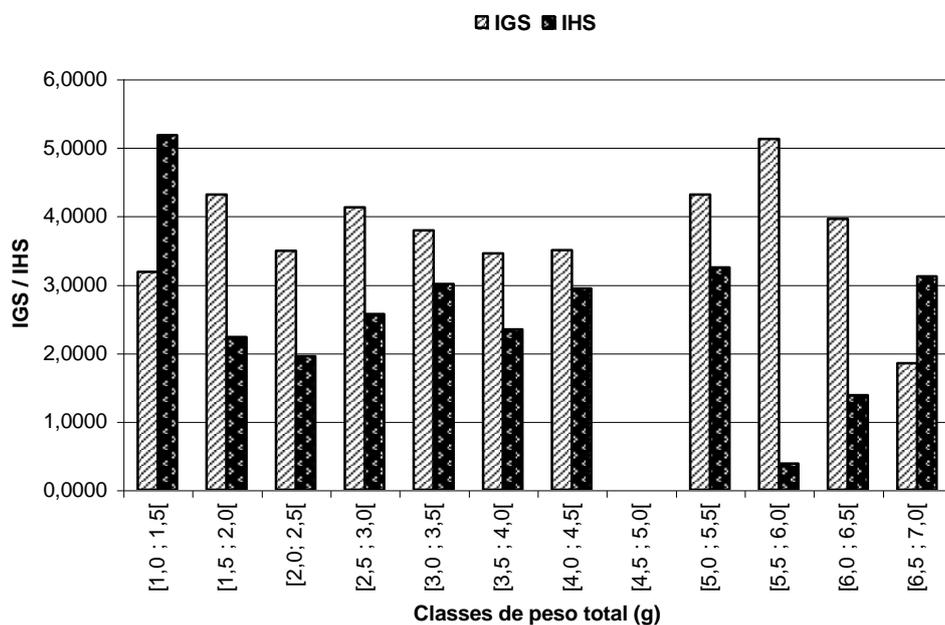


Figura 26 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras no estágio maduro de desenvolvimento ovariano.

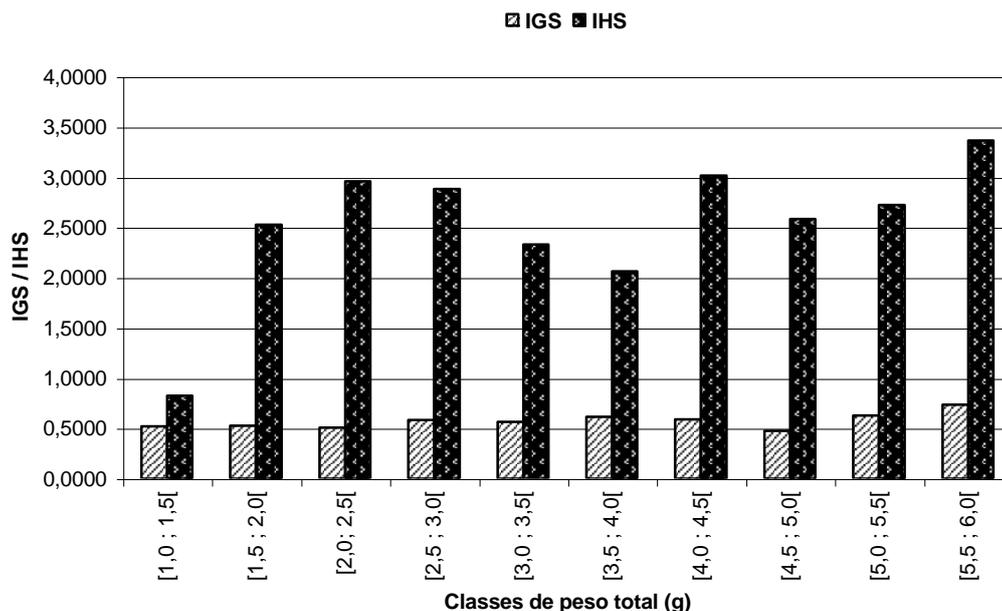


Figura 27 – Valores de IGS e IHS por classes de peso total (g) para fêmeas ovígeras na condição desovado de desenvolvimento ovariano.

5. Tamanho da primeira maturação

Para a determinação do tamanho da primeira maturação, foram analisados os dados do comprimento total de 768 fêmeas de *M. amazonicum*, das quais 271 eram jovens e 497 adultas.

Os dados relativos ao comprimento total de cada uma das duas categorias acima referidas foram lançados em gráfico, estabelecendo-se uma curva para cada grupo. O ponto de intersecção das duas curvas indica em qual classe de comprimento total se localiza o tamanho médio das fêmeas em sua primeira maturação.

De acordo com os dados obtidos, o comprimento total médio de fêmeas de *M. amazonicum* que iniciam ciclos reprodutivos está situado entre 5,0 e 5,5 cm (Figura 28).

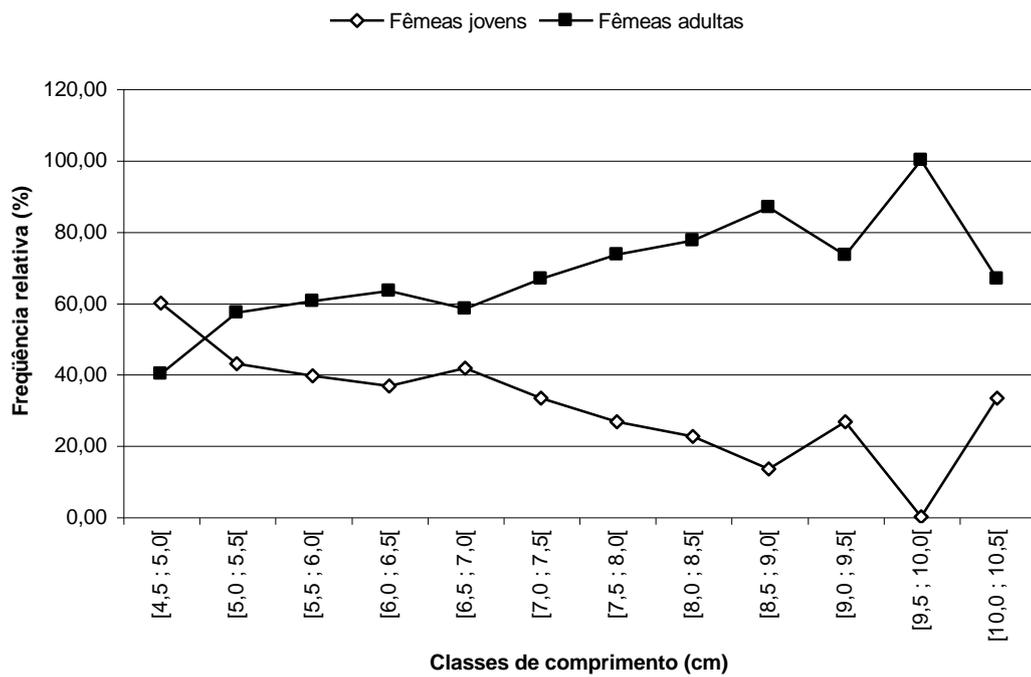


Figura 28 – Determinação do tamanho na primeira maturação para fêmeas de *M. amazonicum*.

6. Caracterização de ovários e hepatopâncreas de fêmeas de *M. amazonicum*

6.1 - Anatomia macroscópica de ovários e hepatopâncreas

Fêmeas não ovígeras e ovígeras apresentaram características macroscópicas semelhantes para ovários e para hepatopâncreas, quanto ao padrão de coloração ou aparência geral. Deste modo, a descrição das características macroscópicas de ovários e hepatopâncreas relatadas a seguir, não levou em consideração a condição de ovoposição das fêmeas, ou seja, se estavam não ovígeras ou ovígeras.

Nas fêmeas de *M. amazonicum*, os ovários são pares, localizados em posição dorsal no cefalotórax, estendendo-se por sobre os órgãos do sistema digestório médio e por baixo do coração. De cada ovário, parte um oviducto, que atravessa um canalículo dorso-ventral no interior do hepatopâncreas, para desembocar no gonóporo, o qual se abre ventralmente na base das coxas do terceiro par de pereiópodos.

A forma, o tamanho e a cor dos ovários variam de acordo com o grau de maturação gonadal. Os ovários apresentam, de maneira geral, um formato alongado semelhante ao do cefalotórax, encontrando-se unidos em sua porção média. No estágio imaturo, são incolores e transparentes. Com o avanço do processo maturativo, adquirem uma coloração verde-clara, que evolui até verde-escura no estágio maduro. Após a desova, os ovários passam a apresentar uma coloração leitosa esbranquiçada (Figura 29).

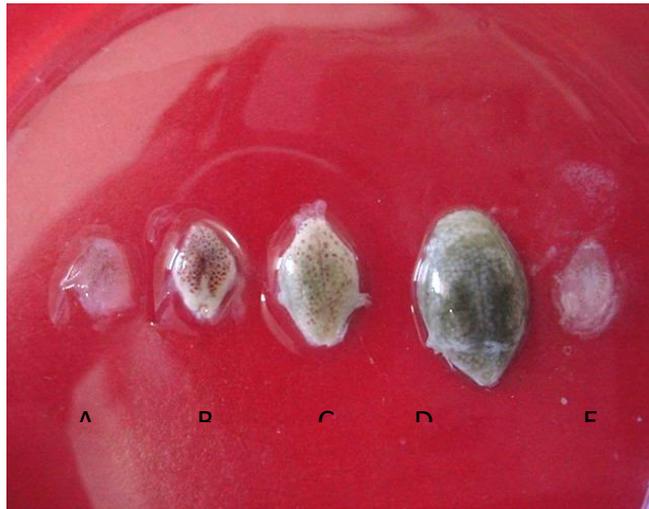


Figura 29 - Ovários de fêmeas de *M. amazonicum* nos diversos estádios de maturação, mostrando as diferentes colorações e tamanhos. A = estágio imaturo; B = estágio rudimentar; C = estágio intermediário; D = estágio maduro; E = condição desovado.

O hepatopâncreas das fêmeas de *M. amazonicum* está localizado na porção central do cefalotórax, abaixo dos ovários e acima do estômago. À exceção dos ovários em estágio maduro, o hepatopâncreas é o órgão que mais ocupa o espaço cefalotorácico.

As fêmeas apresentaram colorações variadas para o hepatopâncreas, mas não foi identificado nenhum padrão para as alterações pigmentares ou relação destas com a coloração dos ovários ao longo da maturação ovariana. Na maioria das vezes, o hepatopâncreas apresentava uma pigmentação escura na sua porção dorsal, variando de cinza claro a escuro. Sobre esta porção mais escura, freqüentemente foram observados pontos dispersos de pigmentos mais claros. É possível que a coloração deste órgão possa estar relacionada com o regime alimentar dos animais.

O hepatopâncreas apresentou, de maneira geral, consistência flácida, fato que dificultou, na maioria das vezes, sua retirada (Figura 30).



Figura 30 – Hepatopâncreas de fêmeas de *M. amazonicum* nos diversos estádios de maturação, mostrando as diferenças macroscópicas. A = estágio imaturo; B = estágio rudimentar; C = estágio intermediário; D = estágio maduro; E = condição desovado.

A comparação macroscópica de ovários e hepatopâncreas nos diversos estádios de maturação encontram-se representada na Figura 31.



Figura 31 – Comparação entre ovários (linha superior) e hepatopâncreas (linha inferior) de fêmeas de *M. amazonicum* nos diversos estádios de maturação. A = estágio imaturo; B = estágio rudimentar; C = estágio intermediário; D = estágio maduro; E = condição desovado.

6.2 - Anatomia microscópica de ovários

Nas fêmeas não ovígeras e ovígeras foi observada a distribuição variável dos ovócitos nos ovários, conforme o grau de maturação. De maneira geral, as células nas fases iniciais de desenvolvimento localizam-se na região central do ovário e em fases mais avançadas, concentram-se em zonas intermediárias e periféricas. Neste estudo, foram identificadas cinco fases de desenvolvimento ovocitário:

1. Ovogônias: São as células mais imaturas. Apresentam-se agrupadas, na porção central dos ovários, denominada zona proliferativa central. O núcleo, esférico, ocupa a maior parte do citoplasma e possui granulações em diferentes graus de compactação (Figura 32).
2. Ovócitos pré-vitelogênicos: Células de formato poliédrico. Encontram-se adjacentes às ovogônias, em posição mais periférica nos ovários. O núcleo ocupa menos espaço que na fase anterior, apresenta granulações mais discretas e um nucléolo já visível. Ao redor destes ovócitos, localizam-se células foliculares (Figura 33).
3. Ovócitos em vitelogênese inicial: Células de formato poliédrico. Localizam-se em regiões mais periféricas que as ovogônias e os ovócitos pré-vitelogênicos. A principal diferença desta fase para a anterior é a presença de vesículas não coradas pelas técnicas

utilizadas; estas vesículas estão dispersas corticalmente no citoplasma. O núcleo ocupa menor volume da célula e ainda possui nucléolo único (Figura 34).

4. Ovócitos em vitelogênese avançada: Nesta fase, os ovócitos apresentam vesículas não coradas em um maior número. Distribuem-se mais periféricamente que os ovócitos das fases anteriores. O núcleo dificilmente é alcançado pelos cortes histológicos. São encontradas novas camadas de células foliculares ao redor destes ovócitos (Figura 35).
5. Ovócitos maduros: Células mais desenvolvidas, apresentando maior tamanho. Localizam-se na região mais periférica dentre todos. O volume do núcleo é muito menor que o citoplasma, que apresenta grande quantidade de vitelo por toda sua superfície. Devido à pressão exercida entre estes ovócitos, seu formato poliédrico se acentua (Figura 36).

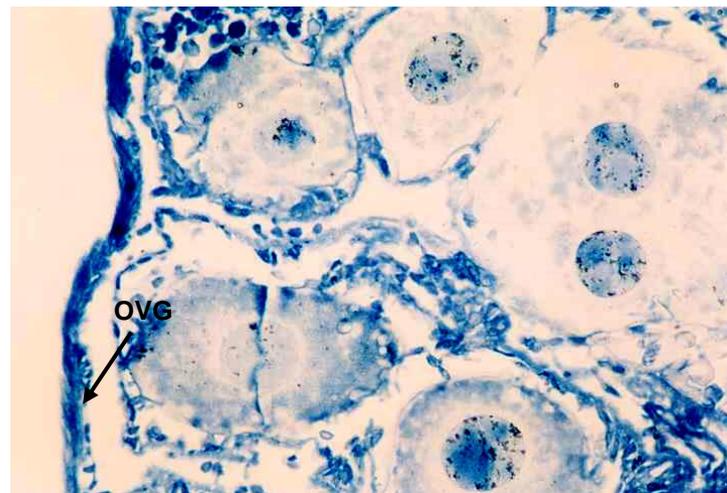


Figura 32 – *M. amazonicum*. Seção parcial mostrando a disposição radial das células germinativas. OVG = ovogônia (Azul de bromofenol; 10x).

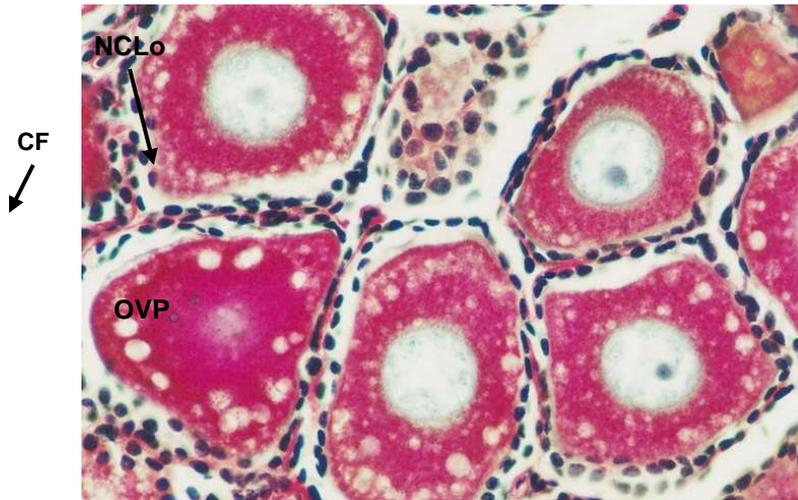


Figura 33 – *M. amazonicum*. OPV = ovócito pré-vitelogênico; CF = células foliculares; NCLo = nucléolo (PAS; 40x).

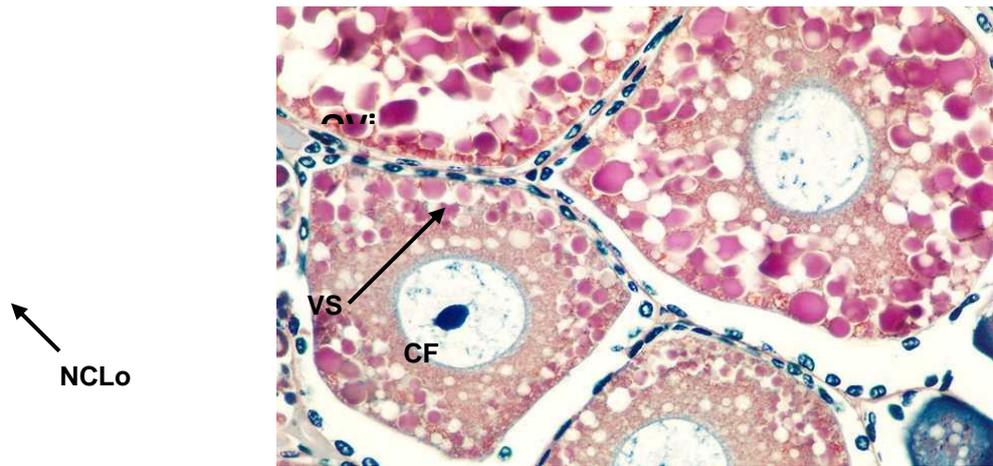


Figura 34 – *M. amazonicum*. OVi = ovócito em vitelogenese inicial; CF = células foliculares, VS = vesícula; NCLo = nucléolo (PAS; 40x).

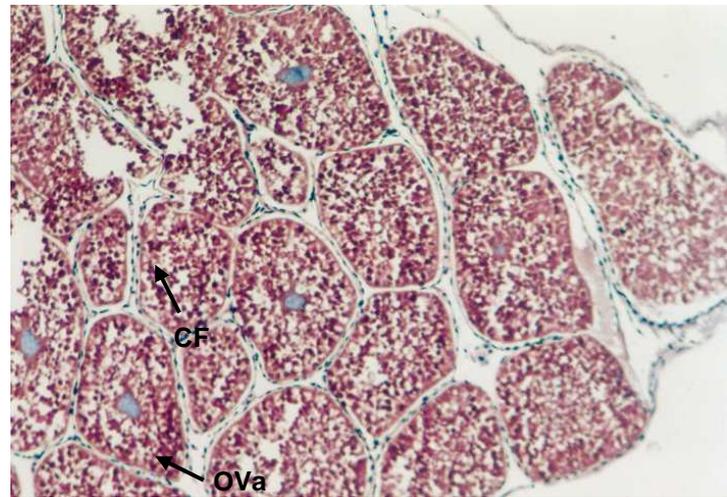


Figura 35 – *M. amazonicum*. OVa = ovócito em vitelogenese avançada; CF = células foliculares (PAS; 40x).

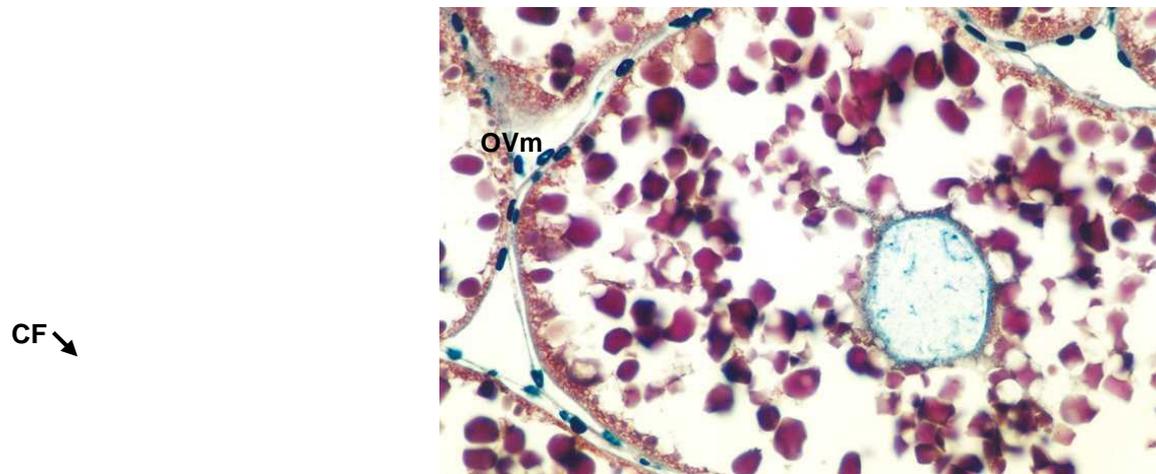


Figura 36 – *M. amazonicum*. OVm = ovócito maduro; CF = células foliculares (PAS; 40x).

6.3 - Anatomia microscópica de hepatopâncreas

O hepatopâncreas das fêmeas, não ovígeras e ovígeras possui estrutura tubular, sendo estes túbulos distalmente próximos, abertos em ductos, que se unem e se ligam ao trato digestivo.

Foram observadas células E (embriônicas), apresentando algumas vezes indícios de atividade mitótica, células B, com seus grandes vacúolos apicais secretórios, células R, caracterizadas por retículo endoplasmático rugoso muito evidente e células F, que não apresentavam vacúolos e coravam-se intensamente (Figura 37).

A localização dos diversos tipos de células nas paredes dos túbulos é distinta. As células E são encontradas predominantemente em regiões mais afastadas da luz dos túbulos; as células R e F ocorrem em curtas distâncias da região do distal dos túbulos e as células B localizam-se em regiões próximas da luz dos túbulos. Entre os túbulos, freqüentemente se observa a presença de sinus intersticiais.

Foi observado que, de acordo com o estágio de desenvolvimento gonadal, a quantidade de vacúolos nas células dos túbulos é variável. As fêmeas ovígeras apresentaram, na maioria dos casos, maior quantidade de vacúolos nos túbulos e maior espaço no interior da luz, nas diferentes fases de desenvolvimento ovariano. Pode-se supor que isto ocorra devido à liberação diferenciada de substâncias armazenadas no hepatopâncreas, em fêmeas não ovígeras e ovígeras, no decorrer da maturação gonadal.

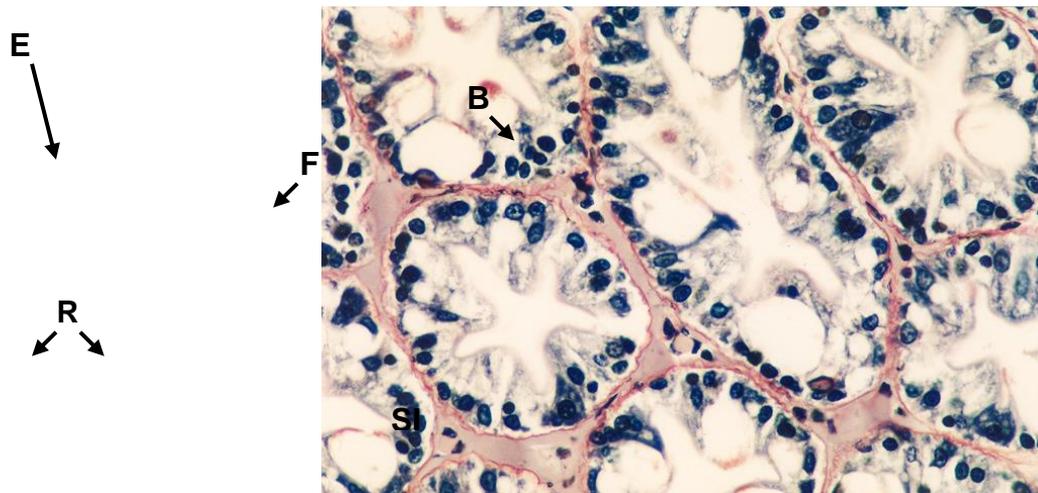


Figura 37 – *M. amazonicum*. R = células R; E = células E; F = células F; B = células B; SI = sinos intersticiais.

6.4 – Histoquímica de ovários e hepatopâncreas de fêmeas de *M. amazonicum*

Foram analisados dois grupos de fêmeas separadamente: fêmeas não ovígeras (Tabela 6) e fêmeas ovígeras (Tabela 7). A coloração por azul de bromofenol mostrou-se bastante eficiente para avaliar a presença e a localização de compostos protéicos em ovários e hepatopâncreas. Em todos os estádios e condição de maturação gonadal e nos diversos tipos de células encontradas, as reações foram positivas (Tabelas 6 e 7). A concentração de proteínas variou de acordo com o estado reprodutivo e com o grau de desenvolvimento ovariano (Tabela 8).

Tabela 6 – Reações histoquímicas para evidênciação de polissacarídeos (PAS) e proteínas (azul de bromofenol) nos ovários e no hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras, por estágio e condição de maturação ovariana.

Reações	ESTÁDIO/CONDIÇÃO DE MATURAÇÃO OVARIANA				
	Imaturo	Rudimentar	Intermediário	Maduro	Desovado
PAS	+	+	+	+	+
Azul de Bromofenol	+	+	+	+	+

Resultado positivo: (+) ; resultado negativo: (-) ; ausente: (o)

Tabela 7 – Reações histoquímicas para evidênciação de polissacarídeos (PAS) e proteínas (azul de bromofenol) nos ovários e no hepatopâncreas de fêmeas ovígeras, por estágio e condição de maturação ovariana.

Reações	ESTÁDIO/CONDIÇÃO DE MATURAÇÃO OVARIANA				
	Imaturo	Rudimentar	Intermediário	Maduro	Desovado
PAS	+	+	+	+	+
Azul de Bromofenol	+	+	+	+	+

Resultado positivo: (+); resultado negativo: (-); ausente: (o)

Tabela 8 – Coloração de ovários e hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras e ovígeras por azul de bromofenol, para identificação da presença de proteínas.

Estádio/Condição de Maturação Ovariana	Fêmeas Não Ovígeras		Fêmeas Ovígeras	
	Ovários	Hepatopâncreas	Ovários	Hepatopâncreas
<i>Imaturo</i>	++	++	+	++
Rudimentar	+++	+++	+++	+++
Intermediário	++++	+++	++++	+++
Maduro	+++++	++++	+++++	++++
Desovado	+++	++	++++	++

Intensidade: (+) = muito fraca; (++) = fraca; (+++) = moderada; (++++) = forte; (+++++) = muito forte

De maneira geral, os resultados demonstraram que, tanto nos ovários como no hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras e ovígeras,

ocorre um progressivo aumento na intensidade da coloração, com o ápice no estágio maduro, e uma diminuição brusca na condição desovado, talvez em razão da liberação dos óvulos (Figura 38). Os resultados da coloração por azul de bromofenol não demonstraram uma relação direta entre a concentração de material protéico do hepatopâncreas e dos ovários com o avanço da maturação ovariana; é possível que uma análise bioquímica esclareça esta relação.

Quanto à análise da presença e localização de polissacarídeos através da coloração por PAS, os resultados também foram satisfatórios. Foi observada, assim como no caso da coloração por azul de bromofenol, variação na concentração dos compostos corados pela técnica empregada de acordo com o estado reprodutivo e desenvolvimento ovocitário. De modo geral, o núcleo das células, com caráter basofílico, corou-se em tons roxos ou azulados devido à hematoxilina; glicogênio e glicoproteínas coraram-se em tons avermelhados (Tabela 9).

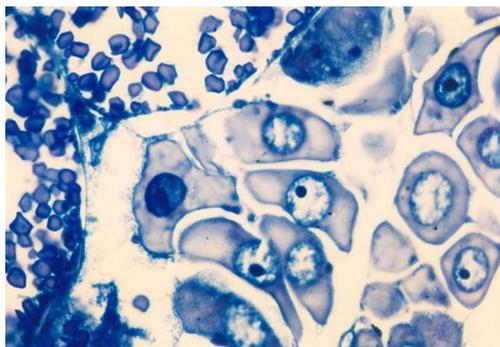
Nas fêmeas ovígeras, a variação na intensidade da coloração, de acordo com os estádios de maturação

gonadal, foi crescente nos ovários e decrescente no hepatopâncreas. Isto sugere uma transferência de material entre os dois órgãos ao longo do processo maturativo. Esta relação não foi observada nas fêmeas não ovígeras (Figura 39).

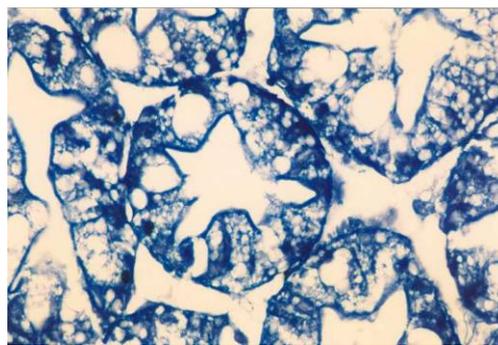
Tabela 9 – Coloração de ovários e hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras e ovígeras por PAS, para identificação da presença de polissacarídeos.

Estádio/Condição de Maturação Ovariana	Fêmeas Não Ovígeras		Fêmeas Ovígeras	
	Ovários	Hepatopâncreas	Ovários	Hepatopâncreas
<i>Imaturo</i>	+++	++	+	+++
Rudimentar	++++	+	+++	++
Intermediário	++++	+++	++++	++
Maduro	+++++	++++	+++++	+
Desovado	+++	+++	++	+++

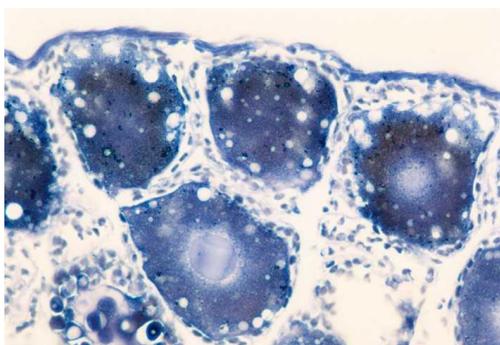
Intensidade: (+) = muito fraca; (++) = fraca; (+++) = moderada; (++++) = forte; (+++++) = muito forte



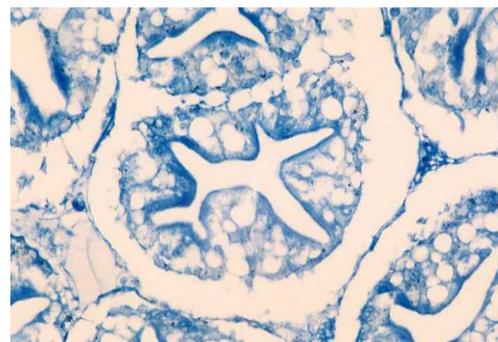
A. Ovário; aumento: 40x; Azul de Bromofenol



B. Hepatopâncreas; aumento: 40x; Azul de Bromofenol

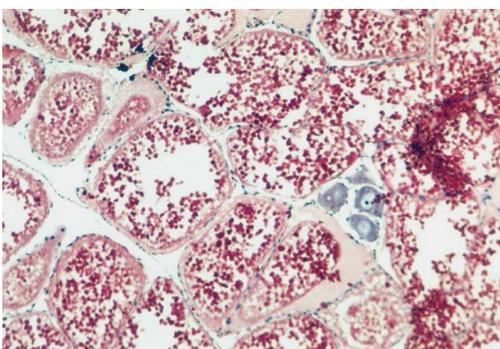


C. Ovário; aumento: 40x; Azul de Bromofenol

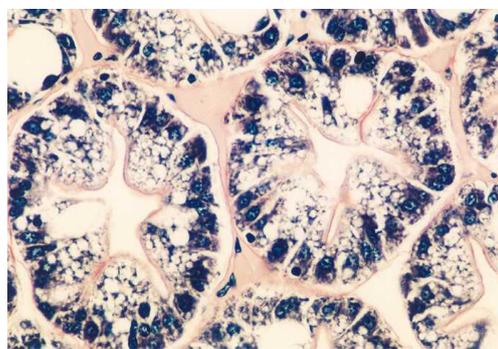


D. Hepatopâncreas; aumento: 40x; Azul de Bromofenol

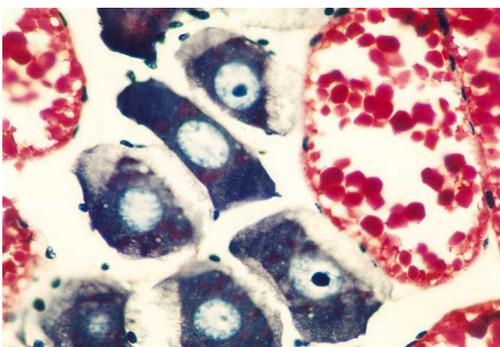
Figura 38: Estádio maduro – Fêmeas ovígeras: A e B; Condição desovado – Fêmeas não ovígeras: C e D.



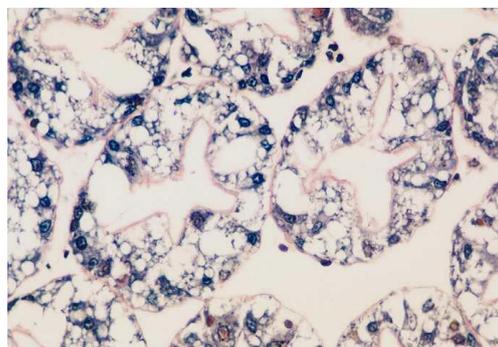
A. Ovário; aumento: 10x; PAS



B. Hepatopâncreas; aumento: 40x; PAS



C. Ovário; aumento: 40x; PAS



D. Hepatopâncreas; aumento: 40x; PAS

Figura 39: Estádio maduro – Fêmeas não ovígeras: A, B. Fêmeas ovígeras: C e D.

DISCUSSÃO

1. Parâmetros ambientais

Segundo ZIMMERMANN (1998), em viveiros de cultivo, a temperatura da água e o oxigênio dissolvido dominam o comportamento e a fisiologia da maioria dos organismos aquáticos. Enquanto a temperatura controla a dinâmica molecular e a maioria das reações químicas, o oxigênio dissolvido atua como principal fator limitante nas reações bioquímicas controladas pela temperatura.

As variações observadas na temperatura da água, no oxigênio dissolvido e no pH da água do Rio Jaguaribe, Ceará entre junho de 2002 e maio de 2003 parecem não ter influenciado na quantidade de indivíduos coletados, haja vista que os valores desses parâmetros foram semelhantes durante o período de coleta, inclusive em novembro, dezembro e janeiro, meses onde o número de indivíduos coletados foi bastante inferior quando comparado com os outros meses.

Os resultados encontrados em nosso trabalho coincidem com os de BISWAS e QURESHI (1994), que observaram que a população natural de *M. dayanum* apresenta variações sazonais de densidade. Entretanto, esses autores não constataram alguma relação direta da variação da densidade populacional com a temperatura, o pH, o oxigênio dissolvido ou o CO₂ livre.

Entretanto, AMMAR *et al.* (2001), analisando a biologia reprodutiva de *M. offersi* coletado na Ilha de Santa Catarina, Brasil, observaram que as oscilações de temperatura e salinidade podem ter influência sobre o tamanho da população e nas variações de porte dos indivíduos. Tal fato tem sintonia com o que relatam MOSSOLIN e BUENO (2002), em estudo realizado também com *M. offersi* proveniente de São Sebastião, São Paulo, Brasil, nos quais os períodos de maior atividade reprodutiva coincidiram com os meses onde a temperatura apresentava valores mais elevados, ocorrendo por outro lado o inverso nos meses mais frios.

De acordo com BOND e BUCKUP (1982), em *M. potiuna* e *M. borellii* o ciclo reprodutor parece ser estimulado mais marcantemente por variações

estacionais da luz do que pelas flutuações térmicas da água. Esses autores inferiram ainda, que em regiões equatoriais e mesmo em baixas latitudes, a influência da luz é menos pronunciada devido à pequena variação no comprimento do dia.

VALENTI (1996) e PINHEIRO e HEBLING (1998) relataram que, em ambientes naturais, a reprodução de *M. rosenbergii* em geral é contínua durante todo o ano. Contudo, a mesma apresenta maior intensidade nos meses em que os fatores ambientais são mais favoráveis ao desenvolvimento gonadal e à sobrevivência da prole.

Entretanto, a população natural analisada neste trabalho parece não sofrer influência significativa dos parâmetros estudados, apesar de a quantidade de animais coletados e amostrados mensalmente ter variado durante o período de coleta. O número de indivíduos amostrados em novembro e dezembro de 2002 e em janeiro de 2003 foi muito inferior ao tamanho amostral estipulado (N = 150). Este fato pode ter relação com o aumento do nível do Rio Jaguaribe, ocasionado pela abertura das comportas localizadas à montante do local de coletas ou pela precipitação pluviométrica. Vale salientar que, no semi-árido, esses meses se caracterizam por uma pluviosidade histórica quase nula. Devido também à correnteza e ao turbilhonamento da água do rio, é provável que os animais apresentem uma tendência a procurarem abrigo nos meses em que o nível do rio se encontra mais elevado e, conseqüentemente, mais agitado. Este fato parece indicar que a distribuição de freqüência de *M. amazonicum* está associada não a variação dos parâmetros físico-químicos e sim, ao aumento ou diminuição do volume do rio.

Resultados semelhantes foram encontrados por BRAGAGNOLI e GROTTA (1995) destacaram que para *M. amazonicum*, um fator exógeno que certamente parece atuar no ciclo reprodutivo é o regime pluviométrico, indicando que chuvas esparsas parecem atuar como estímulo à desova e que a maior atividade reprodutiva ocorre no verão, quando os dias são mais longos.

2. Ciclo reprodutivo

PINHEIRO e HEBLING (1998), afirmam que a época reprodutiva dos crustáceos decápodes de água doce está intimamente associada ao regime de chuvas, às variações térmicas e ao fotoperíodo da região onde ocorrem.

BRAGAGNOLI e GROTTA (1995) descobriram que, na população *M. amazonicum* coletada em um açude no município de Boqueirão, Paraíba, os machos não apresentam estádios sexuais, demonstrando reprodução contínua. Já as fêmeas, apresentaram ciclo sexual, com base na distribuição dos estádios de desenvolvimento gonadal ao longo do ano.

Nossos resultados assemelham-se aos obtidos por MOSSOLIN e BUENO (2002), que observaram a ocorrência de fêmeas ovígeras de *M. offersi*, outra espécie do gênero *Macrobrachium*, durante todo o período de experimento.

PORTO (1998) observou também a ocorrência de fêmeas ovígeras de *M. amazonicum* na população estudada durante todo o período de coleta, sugerindo que a espécie apresenta reprodução contínua. O autor afirmou, ainda, que as maiores frequências de fêmeas

ovígeras indicam períodos com maior atividade reprodutiva, e coincidem com o início e o final das chuvas e aumento das temperaturas do ar e da água. Durante o período de coleta deste trabalho, foi observada a ocorrência de fêmeas não ovígeras e ovígeras, o que parece indicar que fêmeas de *M. amazonicum* do Rio Jaguaribe estão aptas a se reproduzirem continuamente durante o ano.

Entretanto, a relação entre a frequência de fêmeas não ovígeras e ovígeras não permitiu a identificação de um período de maior atividade reprodutiva, visto que praticamente em todos o período de coletas, exceto em novembro de 2002 e fevereiro de 2003, as fêmeas não ovígeras tiveram maior ocorrência que as ovígeras. Vale ressaltar que estes meses estão entre os que registraram as menores quantidades de animais coletados. Contudo, notou-se um aumento gradativo de fêmeas ovígeras de fevereiro a abril de 2003, o que coincide com o início das chuvas na região, fato que pode indicar um possível período preferencial para a reprodução.

3. Estádios de maturação

Os estádios de maturação ovariana

observados neste trabalho são semelhantes aos encontrados por PORTO (1998), que identificou, para fêmeas de *M. amazonicum*, quatro estágios gonadais distintos: imaturo, rudimentar, intermediário e maduro, além da condição desovado.

VALENTI (1996) e PINHEIRO e HEBLING (1998), estudando a reprodução de *M. rosenbergii* na natureza, observaram que esta é geralmente contínua durante todo o ano, porém apresenta maior intensidade nos meses nos quais os fatores ambientais são mais favoráveis ao desenvolvimento gonadal e à sobrevivência da prole. Ainda segundo esses autores, o desenvolvimento gonadal das fêmeas dessa espécie ocorre em um período de 15 a 20 dias, podendo ser observados quatro estádios ovarianos:

- Imaturo: ovário transparente, localizado mais próximo à região posterior da carapaça e de difícil visualização a olho nu.
- Início de maturação: ovário de coloração amarelo-claro, com tamanho de $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ da cavidade cefalotorácica.
- Em maturação: ovário de coloração amarelo-escuro a laranja-claro, ocupando mais de $\frac{3}{4}$ da carapaça.
- Maduro: ovário de coloração laranja escuro, ocupando toda a cavidade cefalotorácica.

CHANG e SHIH (1995) relataram, também para *M. rosenbergii*, a existência de cinco estádios de desenvolvimento ovariano, com base na coloração e no tamanho dos ovários observados através da carapaça:

- Estádio 1: sem tecido ovariano aparente.

- Estádio 2: ovário com pequena mancha amarelada encontrado próximo à parte posterior da carapaça.
- Estádio 3: tecido ovariano com coloração alaranjada observado da parte posterior da carapaça até a área a frente do espinho epigástrico.
- Estádio 4: o tecido ovariano alcançando a área do espinho epigástrico.
- Estádio 5: o tecido ovariano se estende até a parte anterior da carapaça.

Segundo CARVALHO e PEREIRA (1981), fêmeas de *M. acanthurus* também apresentam também cinco estádios de desenvolvimento gonadal. No entanto, esses autores dividiram o estágio II em três subestádios, os quais apresentam diferenças apenas na coloração:

- Estádio I – Imaturo: ovários pequenos, incolores e transparentes; não são visíveis por transparência da carapaça.
- Estádio II – Maturação: caracterizado pelas fases de pré-vitelogênese e vitelogênese. Esses autores subdividiram este estágio em três subestádios:
 - ✓ Maturação 1: ovários opacos, esbranquiçados ou às vezes esverdeados. Nesta fase surgem os primeiros pigmentos e os ovários são visualizados através da carapaça.
 - ✓ Maturação 2: ovários túrgidos, distendidos em comprimento, largura e espessura. Apresentam coloração verde-clara, com a superfície dorsal rica em cromatóforos, visíveis através da carapaça.
 - ✓ Maturação 3: ovários volumosos, túrgidos. Coloração verde-oliva e os ovários, ricos em cromatóforos, podem ser observados sem dificuldade por transparência da carapaça.
- Estádio III – Maduro: ovários volumosos, túrgidos, de coloração verde-escura. Quando totalmente cheios, os ovários preenchem toda a cavidade cefalotorácica dorsal, distendendo-se da base do rostro até a metade do primeiro segmento abdominal.
- Estádio IV – Pós-eliminação total: ovários pequenos, flácidos, de coloração pardo-amarelada ou esbranquiçada, ricamente permeados de cromatóforos. Tamanho e localização semelhantes aos observados nos estádios I e II, anteriormente descritos.

As frequências relativas
dos estádios de maturação

ovariana de fêmeas não ovígeras e ovígeras de *M. amazonicum* variaram durante o período de coleta, mas de maneira geral apresentaram uniformidade. Houve divergências apenas nos estádios intermediário e maduro, onde a maior ocorrência em cada um dos grupos de fêmeas ocorreu em meses distintos. Entretanto, parece não haver influência sazonal na distribuição anual dos estádios de desenvolvimento gonadal de fêmeas.

BRAGAGNOLI e GROTTA (1995) também observaram variação na distribuição dos estádios de desenvolvimento gonadal de *M. amazonicum* ao longo do ano.

4. Índice gonadossomático (IGS) e índice hepatossomático (IHS)

O IGS médio de fêmeas não ovígeras e ovígeras comportou-se de maneira semelhante ao longo do processo maturativo ovariano. Pode-se observar um aumento gradativo no IGS médio do estádio imaturo ao maduro, com uma brusca queda no estádio desovado. O IHS médio de fêmeas não ovígeras e ovígeras tiveram comportamentos distintos em relação aos estádios de

maturação ovariana, entretanto, sem grandes oscilações.

A partir da análise dos resultados obtidos, foi possível se verificar que parece haver uma relação mais estreita entre o aumento do IGS médio e o decréscimo do IHS médio nas fêmeas não ovígeras do que nas ovígeras. Isso sugere que possa haver uma maior transferência de substâncias do hepatopâncreas para os ovários em fêmeas não ovígeras.

BISWAS e QURESHI (1994) observaram que fêmeas de *M. dayanum* possuem picos anuais de atividade reprodutiva. Segundo estes autores, o IHS apresentou relação inversamente proporcional com o IGS, sendo que o IHS mínimo coincidiu com o IGS máximo.

CAVALLI *et al.* (2001), analisando *M. rosenbergii*, constataram que não foram encontradas diferenças significativas entre o IHS de fêmeas em diferentes estádios de maturação. Entretanto, os autores encontraram um aumento significativo do IGS durante o desenvolvimento ovariano, sendo os maiores valores relativos aos estádios de maior desenvolvimento ovariano.

Quanto à análise do IGS e do IHS por classes de peso, foi

verificado que, tanto para fêmeas não ovíferas como para ovíferas esses índices aumentam conforme aumenta o tamanho das fêmeas, ainda que essa relação não apresente um comportamento linear.

5. Tamanho da primeira maturação

Os dados obtidos neste trabalho indicam que o comprimento total médio da primeira maturação de fêmeas de *M. amazonicum* provenientes do Rio Jaguaribe no período de início dos ciclos reprodutivos é atingida entre 5,0 e 5,5 cm.

Infelizmente nossos resultados não podem ser comparados com os de PORTO (1998). Embora este tenha trabalhado com fêmeas de *M. amazonicum*, o mesmo utilizou para determinação da idade da primeira maturação a frequência relativa de comprimento da carapaça e não de comprimento total conforme sugerido por VAZZOLER (1982).

Segundo AMMAR *et al.* (2001) fêmeas de *M. olfersii*, coletadas em dois pontos distintos da Ilha de Santa Catarina, atingiram a maturidade sexual com comprimento total variando entre 4,5-5,0 cm e 3,0-3,5 cm, para exemplares capturados em área com alta e baixa

luminosidade ambiental, respectivamente. Portanto, fêmeas dessa espécie atingem a maturidade sexual com um tamanho menor que *M. amazonicum* capturados no Rio Jaguaribe, Ceará.

Deste modo, parece que o tamanho da primeira maturação varia diretamente com o porte físico da espécie e com as condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento.

6. Caracterização histológica e citológica de ovários e hepatopâncreas

Os resultados encontrados em nosso trabalho são semelhantes aos referidos por PORTO (1998), ao mencionar que os ovários duplos de fêmeas de *M. amazonicum* situam-se na região dorsal do cefalotórax entre o aparelho digestivo e o coração e apresentam modificações morfológicas macroscópicas, conforme seu grau de desenvolvimento, tais como: tamanho, cor e aparência.

PINHEIRO e HEBLING (1998) descreveram que fêmeas de *M. rosenbergii* apresentam dois ovários com os respectivos oviductos, que se comunicam com os gonóporos. Os gonóporos femininos são orifícios ovais que se abrem na superfície mediana da coxa do terceiro par de pereiópodes e são cobertos por uma fina membrana, facilmente removível com o auxílio de uma pinça de dissecação.

Conforme descrito por VERDI (1995), fêmeas de *M. borellii* apresentam também os ovários pares, em posição dorso-lateral no cefalotórax, estendendo-se no sentido antero-posterior sobre o tubo digestivo médio e por baixo do coração. De cada ovário parte um oviducto curto que desemboca no poro digital, que se abre ventralmente nas coxas do terceiro par de pereiópodes. A forma e a cor dos ovários variam segundo o grau de maturação; em geral apresentam uma forma alargada, estando unidos em sua porção média, com coloração esbranquiçada. Quando maduros, são visíveis por transparência do cefalotórax como uma massa semicircular de cor verde escura.

ISMAEL e NEW (2000) descreveram que *M. rosenbergii* apresenta o hepatopâncreas, também chamado de glândula digestiva, como um apêndice bem desenvolvido, formada por um compacto complexo de túbulos e ductos ocupando uma grande porção do cefalotórax. Segundo estes autores, esse apêndice glandular está envolvido com a síntese e secreção de enzimas digestivas, a reabsorção de nutrientes, o estoque de reservas energéticas e o transporte de íons para cátions e ânions mono e divalentes.

A avaliação microscópica dos ovários e do hepatopâncreas de fêmeas de *M. amazonicum* demonstrou que a população amostrada obedece ao mesmo padrão de estabelecido para outras espécies decápodes.

Neste estudo, foram identificadas cinco fases de desenvolvimento ovocitário para fêmeas de *M. amazonicum*: ovogônias, ovócitos pré-vitelogênicos, ovócitos em vitelogênese inicial, ovócitos em vitelogênese avançada ou maduros e ovócitos em pós-eliminação. Estas fases também foram descritas por CHAVES e MAGALHÃES (1993) que ainda relataram a existência em alguns ovários de folículos pós-ovulatórios, cordões celulares retorcidos em maior ou menor grau, derivados dos envoltórios foliculares dos ovócitos e indicadores de sua eliminação. Neste trabalho não foram identificadas essas estruturas referidas por CHAVES e MAGALHÃES (*op. cit.*).

VERDI (1995) relatou que na ovogênese de *M. borellii*, podem ser observadas as seguintes fases: ovogônias, ovócitos em fases diferentes evolutivas, ovócitos pré-vitelogênicos, ovócitos em vitelogênese “prematura” e ovócitos em etapas avançadas e terminais da vitelogênese ou ovócitos maduros. Além dessas fases, foi também identificada

a presença de ovócitos atrésicos ou em absorção, os quais podem passar dois tipos de processos degenerativos: a) uma reabsorção que se caracteriza por apresentar fenômenos de vacuolização de inchaço seguidos por histólise ovocitária e b) uma reabsorção por parte das células foliculares, que se pode observar em ovócitos e, maturação avançada. Nestes casos, as células foliculares que rodeiam os ovócitos manifestam propriedades fagocitárias ingressando no ovócito necrótico.

Neste trabalho, foi observada, eventualmente, a ocorrência de ovócitos em reabsorção, mas não foram identificados tipos distintos de processos degenerativos.

Neste trabalho, foi também observado que o hepatopâncreas apresenta estrutura semelhante às descrições de ICELY e NOTT (1992) para Decapoda e de BHAVAN e GERALDINE (2000) para o grupo controle de *Macrobrachium malcolmsonii*.

BELL e LIGHTNER (1988) descreveram que os túbulos hepatopancreáticos de peneídeos têm seu lúmen revestido por células com microvilosidades. No ápice do túbulo é possível serem encontradas células embriônicas indiferenciadas ou células E, além de inúmeros vacúolos de tamanho variado.

Os tipos de células observadas no hepatopâncreas de *M. amazonicum* neste trabalho são semelhantes aos descritos por BELL e LIGHTNER (*op. cit.*).

7. Histoquímica de ovários e hepatopâncreas

A análise histoquímica revelou que existem diferenças entre a intensidade das colorações de acordo com o grau de maturação gonadal de fêmeas de *M. amazonicum*. Entretanto, não foi possível estabelecer uma relação direta entre os caracteres histoquímicos analisados de ovários e hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras e ovígeras.

Ovários e hepatopâncreas de fêmeas não ovígeras e ovígeras de *M. amazonicum* apresentaram um aumento progressivo na intensidade da coloração de proteínas e polissacarídeos ao longo da maturação ovariana. A intensidade

máxima foi registrada no estágio maduro devido, talvez, à alta concentração dos compostos analisados. A diminuição brusca na intensidade de coloração na condição desovado talvez seja devida à eliminação destas substâncias durante o processo de desova.

Por outro lado, GOMES *et al.* (1979a) verificaram a presença marcante de polissacarídeos neutros em todos os estádios de evolução gonadal, exceto nas ovogônias. Os autores observaram também a existência de material PAS positivo disperso no citoplasma de ovócitos basófilos, freqüentemente, próximo ao núcleo, formando um anel perinuclear. Nos ovócitos em pré-vitelogênese de *M. acanthurus*, a zona perinuclear PAS positiva mostrou-se mais evidente, tornando-se mais ampliada e intensamente corada nos ovócitos em vitelogênese. Com o progresso do processo maturativo, tornou-se mais difícil a visualização da coloração pelo PAS no citoplasma fundamental, devido ao acúmulo de inclusões vitelínicas; destas, apenas os grânulos de vitelo mostraram-se corados.

GOMES *et al.* (1979b) analisaram também os constituintes lipídicos do ovário de *M. acanthurus* durante as fases de evolução gonadal. Os autores constataram que lipídeos foram encontrados em vacúolos e/ou grânulos vitelínicos, geralmente, ligados a proteínas. Além disso, os autores observaram que os glóbulos lipídicos eram inicialmente pequenos e escassos, aumentando em tamanho e quantidade à medida que progredia a vitelogênese.

CONCLUSÕES

- A temperatura da água, a taxa de oxigênio dissolvido e o pH não representam fatores limitantes para a ocorrência de *M. amazonicum* no Rio Jaguaribe. A variação de indivíduos amostrados da população pode estar relacionada às oscilações no nível do rio. Pode-se sugerir, ainda, que *M. amazonicum* do Rio Jaguaribe, Ceará, apresenta reprodução contínua, visto que em todo o período de coletas foram capturadas fêmeas ovígeras, ainda que com menor frequência relativa que as fêmeas não ovígeras.

- Os resultados apresentados neste trabalho apontam para o comprimento total médio da primeira maturação de fêmeas de *M. amazonicum* provenientes do Rio Jaguaribe entre 5,0 e 5,5 cm.

- No presente trabalho ficou constatado que *M. amazonicum* do Rio Jaguaribe, Ceará, apresenta cinco fases distintas no processo maturativo ovariano, a saber: imaturo, rudimentar, intermediário, maduro e desovado.

- Para *M. amazonicum* do Rio Jaguaribe, é possível se identificar cinco fases de desenvolvimento ovocitário: ovogônias, ovócitos pré-vitelogênicos, ovócitos em vitelogênese inicial, ovócitos em vitelogênese avançada ou maduros e ovócitos em pós-eliminação.

- O IGS médio de fêmeas não ovígeras e ovígeras aumentou gradativamente do estágio imaturo ao maduro, com uma brusca queda no estágio desovado. O IHS médio de fêmeas não ovígeras e ovígeras variou de acordo com os estágios de maturação, entretanto, sem grandes oscilações.

- Há indícios de que a elevação IGS médio e a diminuição do IHS médio ao longo do processo maturativo sejam mais evidentes nas fêmeas não ovígeras que nas ovígeras. Pode-se supor que há maior transferência de substâncias do hepatopâncreas para os ovários, ao longo da maturação ovariana, em fêmeas não ovígeras.

- Fêmeas de *M. amazonicum* apresentam as mesmas características morfológicas macroscópicas para ovários e para hepatopâncreas que outras espécies do gênero. A avaliação microscópica dos ovários e do hepatopâncreas demonstrou que a população amostrada obedece ao mesmo padrão de maturação que outras espécies de decápodes.

- Não foi possível estabelecer uma relação direta entre a evolução da distribuição de proteínas e polissacarídeos em ovários e hepatopâncreas para fêmeas não ovígeras e ovígeras ao longo do processo maturativo.

PERSPECTIVAS

M. amazonicum, espécie nativa da região amazônica, se encontra totalmente adaptada às condições do semi-árido nordestino, e representa um importante recurso pesqueiro na região, sendo também uma das espécies de camarão de água doce preferidas atualmente para cultivo.

Apesar de já existirem alguns estudos sobre a biologia desta espécie, ainda não foram esclarecidos alguns aspectos comportamentais e fisiológicos relacionados à população de *M. amazonicum* coletada no Rio Jaguaribe, em Itaiçaba, Ceará.

Assim sendo, faz-se necessária a continuidade dos estudos já iniciados, de modo a esclarecer aspectos que ainda não foram abordados. A união dos resultados destes esforços fornecerá subsídios para a conservação da população natural de *M. amazonicum* do Rio Jaguaribe e para o aprimoramento de seu manejo extrativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIYODI, R. G. Reproduction and its control. In *The biology of Crustacea*. Vol 9 – Integument, pigments and hormonal processes. Ed. by D. E. BLISS and L. H. MANTEL. pp. 147-215. London, Academic Press, 1985.

AMMAR, D., MÜLLER, Y. M. R., NAZARI, E. M. Biologia reprodutiva de *Macrobrachium olfersii* (Wiegman) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) coletados na Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 18, n. 2, pp. 523-528, 2001.

ATLAS DO CEARÁ. Fortaleza: IPLANCE. 1995. 64 pp.

BHAVAN, P. S., GERALDINE, P. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquatic Toxicology*, v. 50, p. 331–339, 2000.

BELL, T. A., LIGHTNER, D. V. A handbook of normal penaeid shrimp histology. Kansas: Allen Press, Inc., 114p., 1998.

BISWAS, R; QURESHI, T. A. Annual reproductive cycle of the fresh water prawn, *Macrobrachium dayanum* (Henderson, 1893). *Naturalia*, v. 19, pp. 131-147, 1994.

BOND, G.; BUCKUP, L. O ciclo reprodutivo de *Macrobrachium borellii* (Nobill, 1896) e de *Macrobrachium potiuna* (Müller, 1880) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) e suas relações com a temperatura. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 42, n.3, pp. 473-483, 1982.

BOWMAN, T. E., ABELE, L. G. Classification of the recent crustacea. In: ABELE, L.G. *The biology of crustacea: systematic, the fossil record and biogeography*. New York Acad. Press Inc. v.1, p.1-27, 1982.

BRAGAGNOLI, G., GROTTA, M. Reprodução do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* do açude Epitácio Pessoa, Boqueirão (PB), Brasil. Parte I: ciclo sexual. *Revista Nordestina de Biologia*, v. 10, n.2, pp. 141-154, 1995.

CARVALHO, H. A. *Ciclo sexual de Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Decapoda): Relações com fatores abióticos e ciclo de intermudas. São Paulo. Instituto de Biociências. 199 f. Tese (Doutoramento). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 1978.

CARVALHO, H. A., PEREIRA, M. C. G. Descrição dos estádios ovarianos de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Palaemonidae) durante o ciclo reprodutivo. *Ciênc. Cult.*, v. 33, n. 10, p. 1353-59, 1981.

CARVALHO-PINHEIRO, H. A. Reprodução do pitu *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836). Subsídio às atividades de cultivo. I. Influência da temperatura. *Bol. Fisiol. Animal Univ. S. Paulo*, v. 7, p. 95-101, 1983.

CAVALLI, R. O., LAVENS, P., SORGELOOS, P. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. *Aquaculture*, v. 179, p. 387-402, 1999.

CAVALLI, R. O., TAMTIN, M., LAVENS, P., SORGELOOS, P. Variations in lipid classes and fatty acid content in tissues of wild *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) females during maturation. *Aquaculture*, n. 193, pp. 311-324, 2001.

CHACE, F. A. On the classification of the Caridea (Decapoda). *Crustaceana*, v.63, n.1, p. 70-80, 1992.

CHANG, C. F., SHIH, T. W. Reproductive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invert. Reprod. Devel.*, v. 27, n. 1, p. 11-20, 1995.

CHAVES, P. T. C., MAGALHÃES, C. O desenvolvimento ovocitário em *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae), camarão dulcícola da Região Amazônica. *Acta Amazonica*, v. 23, n. 1, p. 17-23, 1993.

COELHO, P. A., RAMOS-PORTO, M. A. Camarões de água doce do Brasil: distribuição geográfica. *Revta. Bras. Zool.*, v.2, n.6, p. 405-410, 1985.

COELHO, P. A., RAMOS-PORTO, M. A., SOARES, C. M. A. *Cultivo de camarão do gênero Macrobrachium Bate (Decapoda Palaemonidae) no Brasil*. Natal: EMPARN, 1981. 66p. (Boletim Técnico, 6).

DALL, W., MORIARTY, D. J. W. Functional aspects of nutrition and digestion. In *The biology of Crustacea*. Vol 5 – Internal anatomy and physiological regulation. Ed. by L. H. MANTEL. pp. 263-287. London, Academic Press, 1983.

FYHN, U. E. H., COSTLOW, J. D. Histology and histochemistry of the ovary and oogenesis in *Balanus amphitrite* L. and *B. eburneus* Gould (Cirripedia, Crustacea). *Biol. Bull.*, vol. 152, pp. 351-359, 1977.

GAMBA, A. L. Different egg-associated and larval development characteristics of *Macrobrachium jelskii* and *Macrobrachium amazonicum* (Arthropoda: Crustacea) in a Venezuelan continental lagoon. *Intern. J. Invert. Reprod. Develop.* v. 7, p. 135-142, 1984.

GOMES, M. da G. S., MACHA, N., SAWAYA, P. Histoquímica dos ovários de *Macrobrachium acanthurus* (Weigmann, 1836) nos diferentes estádios de desenvolvimento gonadal. I. Carbohidratos. *Bol. Fisiol. Anim. Univ. S. Paulo*, v. 3, pp. 17-22, 1979a.

GOMES, M. da G., MACHA, N., SAWAYA, P., CARVALHO, H. A. de. Histoquímica dos ovários de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) nos diferentes estádios de desenvolvimento gonadal. II. Lipídeos. *Bol. Fisiol. Anim. Univ. S. Paulo*, v.3, pp. 23-31, 1979b.

GOMES-CORRÊA, M. M. *Palemonídeos do Brasil (Crustacea-Decapoda-Natantia)*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 191 f. 1977.

GURGEL, J. J. S., MATOS, M. O. M. Sobre a criação extensiva do camarão canela *Macrobrachium amazonicum* (Heller) nos açudes públicos do nordeste brasileiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3, São Carlos, SP, 1983. Resumos... UFSCar. p. 39, 1984.

HOLTHUIS., L. B. *A general revision of the Palemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Americas*. Allan Hancock Foundation Publications, Occasional Papers, v. 12, 396 pp., 55 pls, 1952.

HOLTHUIS, L. B. FAO species catalogue. Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries. *FAO Fish. Synopses*, Rome, (125), v. 1, 261 pp., 1980.

ICELY, J. D., NOTT, J. A. Digestion and absorption: digestive system and associated organs. In *Microscopic Anatomy of Invertebrates*. Vol. 10 – Decapod Crustacea. Ed. by F. W. HARRISON. pp. 147-201. New York, Wiley-Liss, 1992.

ISMAEL, D., NEW, M. B. Biology. In *Freshwater prawn culture. The farming of Macrobrachium rosenbergii.*, M. B. New & W. C. Valenti (Ed.). pp 18-40. London: Blackwell Science, 2000.

JALIHAL, D. R., SANKOLL, K. N., SHENOY, S. Evolution of larval developmental patterns and the process of freshwaterization in the prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*, v.65, n.3, p.365-376, 1993.

JUNQUEIRA, L. C. U., JUNQUEIRA, L.M.M.S. *Técnicas básicas de citologia e histologia*. 1ª ed., São Paulo: Livraria Editora Santos, 123p, 1983.

KROL, R. M., HAWKINS, W. E., OVERSTREET, R. M. Reproductive components. In *Microscopic anatomy of invertebrates*. Vol. 10 – Decapod Crustacea. Ed. by F. W. HARRISON. pp. 295-343. New York, Wiley-Liss, 1992.

LIMA, A. V. P. Estudo do sistema reprodutivo de machos da lagosta verde *Panulirus laeviscauda* (Latreille, 1817) (Decapoda: Palinuridae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba. 169 f. 1995.

LOBÃO, V. L., ROJAS, N. E. T. *Camarões de água doce. Da coleta ao cultivo, à comercialização*. 4ª ed., São Paulo: Icone, 112p, 1991.

LOBÃO, V. L., ROJAS, N. E., VALENTI, W.C. Fecundidade e fertilidade de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda) em laboratório. *B. Inst. Pesca*, v. 13, n.2, p.15-20, 1986.

MORAES-RIODADES, P. M. C., VALENTI, W. C. Freshwater prawn farming in Brazilian Amazonian shows potential for economic and social development *Global Aquaculture Advocate*, v. 4, n. 4, p. 73-74, 2001.

MOSSOLIN, E. C.; BUENO, S. L. S.. Reproductive biology of *Macrobrachium offersi* (Decapoda, Palaemonidae) in São Sebastião, Brazil. *Journ. of Crust. Biol.*, v. 22, n. 2, pp. 367-376, 2002.

OSTROVSKI, M. C., FONSECA, K. M. L., SILVA-FERREIRA, T. C. G. *Macrobrachium denticulatum* sp. n. A new species of shrimp from the São Francisco Basin, Northeastern Brasil (Decapoda, Palemonidae). *Crustaceana*, v.69, n. 3, p. 359-367, 1996.

PAIVA, M. P., CAMPOS, E. *Fauna do nordeste do Brasil: conhecimento científico e popular*. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 1995. 273 p.

PEARSE, A. G. E. *Histochemistry: Theoretical and Applied*. London: J. & A. Churchill Ltd., 998 p. 1960.

PINHEIRO, M. A. A., HEBLING, N. J. Biologia de *Macrobrachium amazonicum* (De Man, 1879). In *Carcinicultura de água doce: Tecnologia para Produção de Camarões*. Ed. by W.C. Valenti, pp.21-46. FAPESP, São Paulo. IBAMA, Brasília, 1998.

PINTO, E. M. *O camarão canela, Macrobrachium amazonicum (Heller), em açudes públicos do nordeste do Brasil administrados pelo Departamento Nacional de Obras contra as Secas (DNOCS)*. Fortaleza, 1977. 43 f. (Monografia conclusão Curso de Engenharia de Pesca, EFC).

PORTO, L. A. C. *Estrutura populacional e biologia reprodutiva de Macrobrachium amazonicum (Heller, 1862) (Crustácea, Decapoda, Palaemonidae) na bacia hidrográfica do Rio Meia Ponte, Bela Vista de Goiás-GO, Brasil*, 1998. 117 f. [Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo].

REBOUÇAS, A. F. *Relações morfométricas de Macrobrachium amazonicum (Crustacea, Palemonidae) do Baixo Jaguaribe, Ceará*. Monografia de Graduação. Universidade Estadual do Ceará. 35 f. 2002.

ROCHA, I. P., RODRIGUES, J. A. Carcinicultura brasileira em 2002. *Revista da ABCC*, Recife. Ano 5, v.1, pp. 30-45, 2003.

RODRIGUEZ, G. *Los crustaceos decapodos de Venezuela*. Caracas: Instituto Venezolano de Investigaciones Cientificas. 1980, 443 pp. 70 lam.

ROMERO, M. E. Preliminary observations on potential of culture of *Macrobrachium amazonicum* in Venezuela. In: NEW, M. B. (ed.) *Giant prawn farming*. Amsterdam: Elsevier, p. 411-16, 1980.

SANTOS, J. A. Diferenciação morfológica em machos de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Palaemonidae). Monografia de Graduação. Universidade Estadual do Ceará. 35 f. 2003.

SILVA, R. R. *Fecundidade e fertilidade de *Macrobrachium amazonicum* do Baixo Jaguaribe, Ceará*. Monografia de Graduação. Universidade Estadual do Ceará. 35 f. 2002.

VALENTI, W. C. Estudo populacional dos camarões de água doce *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) e *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758) do Rio Ribeira do Iguape (Crustacea, Palaemonidae). 1984..149 f. Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

VALENTI, V. C. Comportamento reprodutivo de camarões de água doce. Anais de Etologia. 5: 195-202, 1987

VALENTI, W.C. Criação de camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27, REUNIÃO DA ASSOCIAÇÃO LATINO-AMERICANA DE PRODUÇÃO ANIMAL, 12, Campinas. *Anais...* p. 757-85, 1990.

VALENTI, W.C. Current status of freshwater prawn farming in Brazil. In: SILAS, E. G. (Ed.) *Freshwater Prawns*. Trissur, Kerala Agricultural University. p. 50-53, 1992.

VALENTI, W.C. Freshwater prawn culture in Brazil. *World Aquaculture*, v.21, n. 1, p. 29-34, 1993.

VALENTI, W.C. *Criação de Camarões em Águas Interiores*. Jaboticabal, FUNEP, 1996. 81p. (Boletim Técnico do CAUNESP n.2)

VALENTI, W.C. Situação atual, perspectivas e novas tecnologias para produção de camarões de água. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12, Goiânia. *Anais...* p. 99-106, 2002.

VALENTI, W. C., MELLO, J. T. C., LOBÃO, V. L. Dinâmica da reprodução de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) e *Macrobrachium carcinus*

(Linnaeus, 1758) do rio Ribeira de Iguape (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). Ciência e Cultura, 38(7): 1256-1262. 1986.

VAZZOLER, A. E. A. *Manual de métodos para estudos biológicos de populações de peixes. Reprodução e crescimento*. Brasília: CNPq. Programa Nacional de Zoologia, 1982. 108 p.

VEGA-PEREZ, L. A. *Desenvolvimento larval de Macrobrachium heterochirus (Wiegmann, 1836), Macrobrachium amazonicum (Heller, 1862) e Macrobrachium brasiliense (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em laboratório*. 1984. 277 f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

VERDI, A. C. La estructura ovárica de *Macrobrachium borellii* (Nobili, 1896) (Crustacea, Caridea, Palaemonidae). *Rev. Bras. Biol.*, v. 55, n. 2, pp. 193-199, 1995.

WILLIAMS, A. B. *Shrimps, lobsters and crabs of the Atlantic coast on the Eastern United State, Maine to Florida*. Washington: Smithsonian Institution Press. 1984. XVIII + 550p., 380 figs.

ZIMMERMANN, S. Manejo da fase de crescimento final. In *Carcinicultura de água doce: Tecnologia para Produção de Camarões*. Ed. by W.C. Valenti, pp. 191-215. FAPESP, São Paulo. IBAMA, Brasília, 1998.