

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA ó AMAZÔNIA ORIENTAL CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

GICELLE MARIA FARIAS DA SILVA

ESTUDO ESTRUTURAL E ULTRA-ESTRUTURAL DAS GÔNADAS MASCULINAS DOS DIFERENTES MORFOTIPOS DE Macrobrachium amazonicum (Heller, 1862) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE)

> Belém-Pa 2006



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA ó AMAZÔNIA ORIENTAL CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

GICELLE MARIA FARIAS DA SILVA

ESTUDO ESTRUTURAL E ULTRA-ESTRUTURAL DAS GÔNADAS MASCULINAS DOS DIFERENTES MORFOTIPOS DE Macrobrachium amazonicum.(HELLER, 1862) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária ó Amazônia Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração:

Belém-Pa 2006

Ficha catalográfica:

Silva, Gicelle Maria Farias da

Estudo estrutural e ultra-estrutural das gônadas dos diferentes morfotipos de macrobrachium amazonicum (Heller, 1962) (crustacea, decapoda, palaemonidae). / Gicelle Maria Farias da Silva; orientadora, Rossineide Martins da Rocha.- Belém: [s.n.], 2006.

Dissertação (Mestrado) ó Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Agrárias, Núcleo de Estudos em Ciência Animal, 2006.

1. Camarão de água doce ó Amazônia - Fisiologia. 2. Decápode (Crustáceo) ó Amazônia . 3. Macrobrachium - Fisiologia. 4. Palemonídeo ó Amazônia. I. Título.

CDD 595.38409811



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA Ó AMAZÔNIA ORIENTAL CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

GICELLE MARIA FARIAS DA SILVA

ESTUDO ESTRUTURAL E ULTRA-ESTRUTURAL DAS GÔNADAS MASCULINAS DOS DIFERENTES MORFOTIPOS DE *Macrobrachium amazonicum*.(HELLER, 1862) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-

graduação em Ciência Animal da Universidade

Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa

Agropecuária ó Amazônia Oriental e da

Universidade Federal Rural da Amazônia, como

requisito para obtenção do título de Mestre em

Banca Exminadora:

Prof^a Dra. Diva Anelie Guimarães Departamento de Histologia e Embriologia-UFPA

Prof^a Dra. Edilene Oliveira da Silva Departamento de Patologia -UFPA

Prof^a Dra.Laura Satiko Okada Nakaghi Departamento de Morfologia e Fisiologia-UNESP

Belém-Pa 2006

Data:___/___.

À **DEUS** meu amigo fiel. A minha querida mãe, **MARIA JOSÉ**, que sempre me incentivou e nunca me deixou desanimar, minha gratidão! Ao meu filho **MATHEUS**, amor da minha vida!

AGRADECIMENTOS

- À DEUS, autor e consumador da minha fé, razão da minha existência, a ele toda a minha gratidão.
- A minha família que esteve sempre me apoiando e suportando minha ausência nas horas importantes, dando-me sempre uma palavra de ânimo nos momentos difíceis.
- As minhas irmãs e quase filhas (=Ro=) e (=Nena=) que sempre me ajudaram estando ao meu lado nos momentos mais difíceis. Obrigada!!!
- A minha orientadora prof^a Dra. Rossineide Martins da Rocha, que mesmo diante das adversidades vindas, não desanimou e com muita dedicação e disposição me ajudou incansavelmente no desenvolvimento deste trabalho, sou muito grata pela paciência e amizade.
- A prof^a Dra. Maria Auxiliadora que sempre esteve disposta a colaborar com o meu trabalho, obrigada pela colaboração na Microscopia Eletrônica de Transmissão e Varredura e nas Micrografias do meu trabalho.
- Ao Msc. José Antônio Picanço do Instituto Evandro Chagas, pela grande contribuição na Microscopia Eletrônica de Transmissão.
- Ao Dr. Hilton Túlio do laboratório de Microscopia Eletrônica do Museu Emílio Goeldi pela colaboração na Microscopia Eletrônica do nosso trabalho.
- Dr. Cláudio Lamarão do laboratório de Microscopia do Centro de Geociências da UFPA, pela grande contribuição na Microscopia Eletrônica de Varredura.
- Ao meu companheiro fiel de todas as coletas, seu Augusto, que todos os meses esteve disposto a acordar mais cedo para que as coletas fossem realizadas com sucesso, VALEU!

- Ao seu Ribamar (pescador) que colaborou e muito nas coletas dos nossos camarões, obrigada!
- A todos os companheiros do Laboratório de Histologia, Ronald (ursão), Rodolfo (amigo da índia), Paulo (alérgico a trabalho), Felipe (o desaparecido), Mirna (a atrapalhada), Dirlene (a nervosa), Ítala (a dona do computador), Ana Paula (baixinha danada), Carol (mulher cometa), Lia (a japonesa + chique da UFPa) e ao Messias (fujão), que em todos os momentos estiveram prontos a colaborar com o meu trabalho, mantendo o nosso laboratório um ambiente agradabilíssimo.
- A Iracema (minha diretora) e a Dulce (minha vice), que foram extremamente compreensivas e pacientes, sempre dispostas a me ajudar nas horas de apertos. Muito obrigada!
- H Aos colegas do mestrado, em especial a minha coleguinha Márcia Nylander.
- Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFPA, pela oportunidade e pelo tétulo de Mestre.
- **E** a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

OBRIGADA!

õO temor do Senhor é o princípio da ciência; os loucos desprezam a sabedoria e a instrução.ö

(Pv. 1:7)

RESUMO

O Macrobrachium amazonicum corresponde ao camarão de água doce mais explorado comercialmente na Amazônia, encontrando grande aceitação no mercado consumidor. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a estrutura e a ultraestrutura das gônadas de diferentes morfotipos de M. amazonicum em população natural. 500 exemplares foram coletados do Furo das Marinhas e acondicionados em caixa de isopor e levados para o laboratório, onde foram identificados sexualmente e realizada a biometria com o auxílio de um paquímetro digital e pesados em balança digital. As gônadas de 50 machos foram dissecadas e fixadas em Karnovsky. Após 24h, as amostras foram desidratadas e incluídas em parafina. Em seguida, foram feitos cortes seriados de 5µm de espessura e corados em Hematoxilina e Eosina. Para a microscopia eletrônica, as gônadas foram pós-fixadas com tetróxido de osmio a 1% por duas horas em temperatura ambiente, desidratadas em série crescentes de álcool e incluídas em Epon 812[®]. Os cortes semi-finos foram corados com azul de toluidina a 1%. Os cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, sendo posteriormente analisados e fotografados em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss 900. Para a microscopia eletrônica de varredura, as amostras foram fixadas, pós-fixadas e submetidas à secagem em ponto crítico em CO2 e posteriormente colocadas em stubs e submetidas à metalização com cobertura de ouro de 10nm de espessura para a análise em microscópio eletrônico varredura. Na população natural foram observados quatro morfotipos, de acordo com as dimensões corporais e a coloração. Os morfotipos foram denominados como TC, CC, GC e GCø segundo a classificação de Moraes-Riodades (2002). As relações biométricas comprimento total e comprimento cefalotórax indicaram crescimento alométrico negativo e as relações peso e comprimento também indicaram alometria negativa. Os testículos estão localizados no cefalotórax e são constituídos por túbulos seminíferos; cada túbulo apresenta uma cápsula de tecido conjuntivo bem delgada que divide o parênquima do órgão. O túbulo é revestido por células achatadas e em seu interior foi observado uma população de células da linhagem espermatogênica em diferentes fases de maturação que foram denominadas de: espermatogônias; espermatócitos; espermátides e espermatozóides. As espermatogônias são as maiores células com cromatina organizada em grumos, situadas excentricamente no túbulo. Os espermatócitos são células arredondadas com cromatina em grumos densos. As espermátides são células pequenas com grandes quantidades de mitocôndrias. Os espermatozóides são células côncavas na porção apical e convexa na porção distal, apresentando uma pequena espícula assumindo um aspecto semelhante a uma taça ou cálice. Em corte transversal, os ductos deferentes apresentam-se revestidos por tecido conjuntivo e podem apresentar um epitélio cúbico a cilíndrico; apresentam em seu interior um aglomerado de células nutridoras localizadas na porção excêntrica e espermatozóides situados no lúmen dos ductos. A análise estrutural das gônadas de M. amazonicum, demonstrou a existência três morfotipos distintos no Furo das Marinhas.

Palavra chave: Decápoda, Palaemonidae, M. amazonicum, gônadas, espermatozóides.

vi ABSTRACT

Macrobrachium amazonicum is the most commercially-explored fresh water shrimp in the Amazon, finding great acceptance in the consuming market. The objective of this work is to characterize the structure and the ultrastructure of the gonads of different M. amazonicum morfotipos in natural population. The shrimps (500 specimen) were collected in Furo das Marinhas (Mosqueiro ó PA), by local fishermen and brought alive to the Laboratório, in an appropriate box containing local water. Fifty males were selected, weight, measured and killed. Gonads were collected and fragments were fixed in 2,5% glutaraldehyde 4% paraformaldehyde in sodium caccodylate buffer at 0,1M pH 7,2. For light microscopy the fragments were processed according to the standard histological technique for paraffin embedding. The sections were stained with Hematoxilin and Eosin. For transmission electron microscopy the gonads were post-fixed with 1% osmium tetroxide in sodium caccodylate buffer at 0,1M pH 7,2 and processed for embedding in Epon resin. Semithin sections were stained with toluidin blue. For scanning electron microscopy the fixed and post-fixed specimens were dehydrated, submitted to the critical CO₂ drying point and then coated with gold and examined in electron microscope. Four morfotips in natural population were observed, in agreement with corporal dimensions and coloration. The morfotips were denominated as TC, CC, GC and GCø according to Moraes-Riodades (2002). The biometric relation total/length cephalothorax and total/weight had presented negative allometrie. The testicles and are located in the cephalothorax. The testicle is constituted by seminiferous tubules; each tubule presents a very thin capsule of conjunctive tissue that divides the parenquime of the organ. The tubule is covered by flat cells and in its interior we observed a cell population of spermatogenic lineage in different maturation phases that were denominated as: spermatogônias, spermatocytes, spermatids and spermatozoids. The spermatogonias are the largest cells with cromatina organized in clots, located eccentrically in the tubule. The spermatocytes are round cells with cromatina in dense clots. The spermatids are small cells with great amounts of mitochondria. The spermatozoids are concave cells in the apical portion and convex cells in the distal portion, presenting a small spike assuming an aspect similar to a cup. In cross section, the vas deferens come covered by conjunctive tissue and they can present from a cubic to a cylindrical epithelium; they present in their interior an agglomeration of feeder cells located in the eccentric portion and spermatozoids located in the lumen of the ducts. The structural analysis of the *M. amazonicum* gonads, demonstated the of three distinct morfotips in the Furo das Marinhas.

Key word: Crustaceans, Decapods, Palaemonidae, M. amazonicum, gonads, sperms.

LISTA DE FIGURAS

| Figura 01 - Vista dorsal do Macrobrachium amazonicum. | 18 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Figura 02- Localização das gônadas masculinas em <i>M. amazonicum.</i> | 18 |
| Figura 03 - Morfotipos de <i>M. amazonicum</i> . Adaptado de Moraes-Riodades (2002) | 20 |
| Figura 04 - Mapa da área de coleta dos camarões. Furo das Marinhas, Mosqueiro, Pa2 | 24 |
| Figura 05 - Foto demonstrando o pescador e os matapis contendo os camarões | 24 |
| Figura 06 - Diferenciação sexual esquemática de machos e fêmeas. | 25 |
| Figura 07 - Sexagem e dissecação das gônadas de <i>M. amazonicum</i> | 26 |
| Figura 08 - Os morfotipos de machos <i>M. amazonicum</i> da população natural do Furo das Marinhas, Mosqueiro- Pa. | 31 |
| Figura 09 - Gráfico demonstrando os morfotipos em todas as coletas de M. amazonicum | 32 |
| Figura 10 - Gráfico demonstrando freqüência dos morfotipos de <i>M. amazonicum</i> | 33 |
| Figura 11 - Gráfico da regressão linear entre o comprimento total (CT) e comprimento do cefalotórax (CC). | 33 |
| Figura 12 - Gráfico da regressão linear entre o comprimento total (CT) e comprimento do quelípodo (CQ) | 34 |
| Figura 13 - Gráfico da regressão linear entre o log10 comprimento total (cm) e lo10 peso (g). | 35 |
| Figura 14 - Morfologia das gônadas de <i>M. amazonicum</i> | 36 |
| Figura 15 - Micrografia dos testículos do <i>M. amazonicum</i> . HE 100X | 37 |
| Figura 16 - Aumento da figura 14, demonstrando os túbulos seminíferos de <i>M. amazonica</i> HE 400X | um 37 |
| Figura 17 - Micrografia do ducto deferente de <i>M. amazonicum</i> . HE 400X | 38 |
| Figura 18 ó Micrografia dos testículos do morfotipo TC. HE 400X | 39 |
| Figura 19 - Aumento da figura 17: Túbulo seminífero de TC. HE 1000X | 39 |
| Figura 20 - Micrografia dos testículos do morfotipo CC. HE 400X 4 | 0 |
| Figura 21 ó Aumento da figura 19: Túbulo seminífero do morfotipo CC. HE 1000X | 41 |

| Figura 22 - Micrografia dos testículos dos morfotipos GC e GCø HE 600X | . 42 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Figura 23 ó Eletron-Micrografia de transmissão dos testículos do morfotipo GC | 43 |
| Figura 24 ó Micrografia do ducto deferente. HE 1000X | 44 |
| Figura 25 ó Eletron-micrografia de varredura dos espermatozóide do M. amazonicum | 45 |
| Figura 26 ó Eletron-micrografia de transmissão. Ducto deferente demonstrado os espermatozóides. | 46 |

viii

LISTA DE TABELAS

| Tabela 01 - Quadro resumo das características morfológicas dos morfotipos do furo das Marinhas. | 30 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Tabela 02 - Médias e os respectivos desvios padrão do comprimento total (CT), comprim do cefalotórax (CCf) e comprimento dos quelípodos (CQ). | ento 33 |
| Tabela 03 - Equação de regressão para CT = comprimento total (cm) e CC = compriment cefalotórax (cm) | o do 34 |
| Tabela 04 ó Equação de regressão para CT = comprimento total (cm) e CQ = comprimen do quelípodo (cm) | to 34 |

Tabela 05 - Equação de regressão para CT = comprimento total (cm) e PT = peso total (g)..35

| RESUMOv |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ABSTRACTvi |
| LISTA DE FIGURAS |
| LISTA DE TABELASix |
| 1. INTRODUÇÃO |
| 2. OBJETIVO |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS23 |
| 3. ETODOLOGIA: |
| MOSTRA |
| MÉTODOS |
| 3.2.1- Análise das relações biométricas273.2.2- Microscopia de luz28 |
| 3.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão |
| 4. RESULTADOS |
| 4.1-CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS MORFOTIPOS |
| 4.1.1 ó Classes de Comprimentos dos morfotipos |
| 4.2-FREQÜÊNCIA DOS MORFOTIPOS |
| 4.3- LAÇÕES BIOMÉTRICAS |
| 4.4- MORFOLOGIA DO APARELHO REPRODUTOR |
| ó CARACTERISTICAS ESTRUTURAIS DAS GÔNADAS DO M. amazonicum |
| ó Testículos |
| - Morfotipo TC |
| - Morfotipo GC E GCø ⁴¹ 4.7-DESCRIÇÃO ESTRUTURAL E ULTRAESTRUTURAL DOS ESPERMATOZÓIDES DO <i>M. amazonicum.</i> 45 |
| 5. DISCUSSÃO |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS |

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

O camarão constitui um dos recursos pesqueiros mais explorados economicamente em todo o mundo. No Brasil, a pesca camaroeira também é bastante intensa. A maior parte da carcinicultura de água doce praticada no mundo está embasada em uma única espécie, *Macrobrachium rosenbergii* (VALENTI, 1993).

A carcinicultura de água doce tem sido reconhecida como uma forma de produção de crustáceos com baixo impacto ambiental (MORAES-RIODADES & VALENTI, 1999; NEW, 2000; VALENTI, 2001). Os camarões de água doce ainda ocupam uma posição inferior em relação aos marinhos nos mercados mundiais. No entanto, em cativeiro apresentam algumas vantagens em relação aos marinhos, tais como: maior resistência a doenças; maturação e larvicultura mais simples; independência da água salgada na fase de crescimento (engorda) (NEW, 1995; VALENTI, 1996; NEW, 2000).

Segundo New (2000), cerca de 85% de camarões de água doce pescados no Brasil são *M. amazonicum*, mas o *M. acanthurus* e o *M. carcinus* são também capturados regularmente. O *M. amazonicum* é um camarão pequeno, que atinge cerca de 12cm, podendo alcançar até 15cm (HOLTUIS, 1952; VALENTI, 1985), a sua carne apresenta sabor mais acentuado e textura muscular mais firme em relação à carne de *M. rosenbergii* e por isso ele tem melhor aceitação nos mercados consumidores (MORAES-RIODADES & VALENTI 2001).

Entre as espécies nativas o *M.amazonicum* merece destaque. Essa espécie apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde a Venezuela até o Estado do Paraná. Habita as bacias Amazônicas, do São Francisco, do Paraná e rios do Nordeste e Centro-Oeste (HOLTHUIS, 1952; DAVANT, 1963; BIALETZKI *et al.*, 1997). Sua ocorrência no Estado de São Paulo foi confirmada por Magalhães (1999).

O *M. amazonicum* é conhecido como camarão regional no Estado do Pará (MORAES-RIODADES, 1999), camarão canela e camarão sossego nas demais regiões do Brasil (VALENTI,1985).

Essa espécie está sendo largamente explorada pela pesca artesanal na região Nordeste (Gurgel & Matos, 1984) e nos Estados do Pará e Amapá (ODINETZ-COLLART, 1987; ODINETZ-COLLART & MOREIRA, 1993; MORAES-RIDADES, 1999). A partir de 1996, pós-larvas dessa espécie passaram a ser produzidas no Estado do Pará e projetos piloto de engorda foram implantados nesse Estado (MORAES-RIODADES *et al.*, 1999).

Baseado nos resultados obtidos na larvicultura, o *M. amazonicum* vem despertando interesse para o cultivo por apresentar rápido crescimento, rusticidade e fácil manutenção em cativeiro (GUEST, 1979; BARRETO & SOARES, 1982; VALENTI, 1985). No estado do Pará, dados obtidos na larvicultura realizados pelos técnicos da SAGRI, indicaram que esta espécie é compatível com cultivo comercial (MORAES-RIODADES, 1999). Atualmente, experimentos com criação em cativeiro de *M. amazonicum* são conduzidos no laboratório de Aqüicultura (UFPA - Bragança) e no Centro de Aqüicultura da Unesp de Jaboticabal (CAUNESP) com matrizes oriundas de ambientes naturais da Amazônia.

Lobão e colaboradores (1986) estudaram o desempenho reprodutivo do *M. amazonicum* em laboratório e verificaram que os valores obtidos pela fecundidade absoluta eram inferiores aos descritos para outras espécies de gênero *Macrobrachium*. Contudo a fecundidade absoluta baixa era compensada pelo fato de sua reprodução ocorrer ao longo do ano. Resultados similares foram obtidos por Scaico (1992) em estudos com animais da mesma espécie oriundos do açude Epitácio Pessoa (PB). Esse autor sugeriu que as diferenças observadas podem ser atribuídas ao ambiente ou a características individuais e que a fecundidade aumenta com o crescimento do animal. Segundo Odinetz Collart (1991), o *M. amazonicum* possui uma atividade reprodutiva contínua ao longo do ano, contudo apresenta certos períodos mais favoráveis à sua maturação. A região norte apresenta um grande potencial para o desenvolvimento aqüícola, principalmente na criação de camarão regional (*M. amazonicum*) que é amplamente explorada pela pesca artesanal no Estado do Pará e possui um mercado significativo à sua comercialização (MORAES-RIODADES *et al.*, 1999). Essa atividade pode desempenhar um papel social e econômico importante, criando condições para um aproveitamento mais efetivo

1- TAXONOMIA E CARACTERISTICAS MORFOLÓGICAS:

Os crustáceos são animais que vivem nos ecossistemas aquáticos e terrestres. Apresentam exoesqueleto, apêndices birremes e possuem dois pares de antenas (RUPPERT & BARNES, 1994).

A ordem decápoda representa uma das ordens mais bem sucedidas dos crustáceos, apresentando aproximadamente 10.000 espécies descritas, encontradas em diferentes ambientes (BOWMAN & ABELE, 1982). Os decápodas apresentam duas subordens, Pleocyemata e Dendrobranchiata, que diferem quanto à incubação dos ovos. Em Pleocyemata os ovos são incubados entre os pleópodos abdominais da fêmea, enquanto que em Dendrobranchiata os ovos são liberados diretamente na água (PINHEIRO & HEBLING, 1998).

A maioria das espécies conhecidas de camarão pertence à infra-ordem Caridea. As 2408 espécies de carídeos existentes estão agrupadas em 270 gêneros e 27 famílias. Dentre estas se destaca a família Palaemonidae, cujos representantes ocorrem em todos os continentes, vivendo principalmente em ambientes de água salobra e doce, o *M. amazonicum* (fig. 01) pertence a esta família, e é uma espécie nativa da Bacia Amazônica (CHRISTOFFERSEN, 1989).

O *M. amazonicum* apresenta como característica um rostro longo que ultrapassa distintamente o escafocerito, com dentes na porção superior e inferior. O telson apresenta uma extremidade ponte-aguda. Apresenta exoesqueleto que oferece proteção contra predadores, mas limita seu crescimento. Para crescer ele precisa trocar o exoesqueleto e essa muda é chamada ecdise. No período de muda ele fica bastante vulnerável e costuma se esconder em tocas. Geralmente os machos adultos são maiores que as fêmeas e apresentam os quelípodos

proporcionalmente mais desenvolvidos. Os espécimes apresentam uma coloração transparente e quase incolor.



Figura 01: Vista dorsal do Macrobrachium amazonicum.

A maioria dos camarões apresenta a fertilização externa. Os machos apresentam uma estrutura chamada espermatóforo que contem os espermatozóides, que serão transferidos para o gonóporo na superfície toráxica da fêmea. (DOUGHERTY & SANDIFER, 1984)



Figura 02: Localização das gônadas masculinas em *Macrobrachium*. Adaptado de Valenti, 1996.

O M. amazonicum apresenta a seguinte classificação taxonômica:

Reino: Animallia Filo: Arthropoda Classe: Crustácea Ordem: Decapoda Infra-ordem: Caridea Família: Palaeomonidae Gênero: Macrobrachium Espécie:*Macrobrachium amazonicum*

2 Ó ESTUDOS ESTRUTURAIS E ULTRAESTRUTURAIS DAS GÔNADAS

Kuris *et al.* (1987) estudaram detalhadamente a diferenciação morfotípica em população sexualmente maduras de *M. rosenbergi.* Esses autores demonstraram a existência de três grupos de machos e os denominaram de SM (Small Male), OC (Orange Claw), que foram subdivididos em dois outros morfotipos WOC (Weak Orange Claw) e SOC (Strong Orange Claw) e BC (Blue Claw) que são machos com quelas azuis. Estes morfotipos foram classificados de acordo com a morfologia, a fisiologia e o comportamento.

Moraes-Riodades (2002) trabalhando com uma população de *M. amazonicum* oriunda de cultivo identificou e classificou em quatro morfotipos distintos de machos, sendo que a diferenciação morfotípica foi definida de acordo com a cor, a espinação dos quelípodos e o crescimento das porções corporais. De acordo com a autora, eles foram classificados em: TC ("Translucent Claw") que apresentam comprimento total variando entre 51,71 e 94,00 mm e comprimento do quelípodo variando entre 19,98 e 54,28mm; CC ("Cinnamon Claw") com comprimento total variando entre 60,00 e 98,00 e comprimento do quelípodo entre 24,65 e

54,81mm; GCøou GC₁ ("Green Claw *linha*") com comprimento total entre 85,00 e 140,62mm e comprimento do quelípodo variando entre 56,24 e 98,77mm e GC ou GC₂ ("Green Claw") com comprimento total variando entre 87,93 e 130,00mm e comprimento do quelípodo variando entre 71,89 e 175,55 mm (fig. 03). Segundo a autora, os morfotipos correspondem a castas dentro da população e foi sugerido que os machos GC sejam os dominantes e com maior atividade reprodutiva.



Figura 03: Morfotipos de M. amazonicum. Adaptado de Moraes-Riodades, 2002.

Papa (2004) utilizou outra denominação para os morfotipos de *M. amazonicum:* QT (Quela Transparente); QC (Quela Canela); QV (Quela Verde) e QVI (Quela Verde Intenso). De acordo com a autora não há diferenças nos índices gonodossomáticos e hepatossomáticos para os morfotipos QV (Quela Verde) e QVI (Quela Verde Intenso), sendo considerados como apenas um morfotipo.

O aparelho reprodutor dos camarões tem sido descrito em varias espécies, sendo constituído de dois testículos que são alongados e simétricos, ductos deferentes, canal

ejaculador e estruturas anexas como glândulas androgênicas. (KING, 1948; ELDRED, 1958; PILLAI, 1960; CARVALHO, 1980; BELL & LIGHTNER, 1988).

Bell & Lightner (1988) realizaram uma descrição histológica do aparelho reprodutor de camarões peneídeos e demonstraram que os testículos são revestidos por tecido conjuntivo, compostos por células germinativas (células jovens), células de revestimento e espermatozóides.

Shigekawa & Clark (1986) descreveram a espermiogênese de *Sicyonia ingentis* e demonstraram que este camarão marinho apresenta os testículos dotados de células em diferentes fases de maturação e o espermatozóide contendo uma espícula constituída de proteínas contráteis.

Clark Jr. et al., (1973) demonstraram através de estudos ultraestruturais que os espermatozóides de *Penaeus aztecus* apresentam uma cabeça esférica e uma pequena espícula não móvel composta por microtúbulos e microfilamentos.

Foi observado em machos de *Penaeus duorarum* a presença de uma massa contendo os espermatozóides, localizada na ampola terminal do ducto deferente denominada de espermatóforo. Os espermatozóides dessa espécie apresentam uma cabeça quase esférica e um flagelo quase tão largo quanto a cabeça (CUMMINGS, 1961).

Estudos estruturais realizados com *Macrobrachium acanthurus* desmontraram que esta espécie apresenta os testículos dotados de túbulos semíniferos apresentando células da linhagem espermatogênica e espermatozóides em forma de taça ou cálice (CARVALHO, 1980). O aparelho reprodutor do *Macrobrachium rosenbergui* também apresenta os testículos dotado de túbulos seminíferos que apresentam células da linhagem espermática e espermatozóides assumindo a forma de taça ou de cálice (CHOW *et al.*, 1982).

Lynn *et al.* (1983) demonstrou que os espermatozóides de *Macrobrachium rosenbergii* apresentam uma espícula que pode auxiliar no momento da fecundação. Neste estudo foi

verificado a interação do ovo/esperma e não foi observado uma clara reação acrossômica. Em *Pandalopsis japonica* os espermatozóides apresentam espículas contendo muitos microfilamentos e uma região central menos densa (KIM *et al.*, 2003).

O *M. amazonicum* constitui uma ferramenta básica para a estratégia de manejo, visto que possibilita um melhor aproveitamento desse recurso natural, evitando um estado de sobrepesca e a produtividade decrescente. Uma atividade não predatória orienta e beneficia a população de pescadores artesanais a explorar adequadamente o recurso pesqueiro, garantindo renda e trabalho e, desta forma, promove o desenvolvimento socio-econômico da região.

Apesar do *M. amazonicum* desempenhar um importante papel sócio-economico para a região, ainda há uma carência de informações sobre os aspectos estruturais e ultra-estruturais das gônadas da referida espécie durante o ciclo reprodutivo, bem com a caracterização de morfotipos em ambientes naturais. Esse estudo possibilitará o prosseguimento de pesquisas sobre o cultivo.

2.2 - OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo caracterizar a estrutura e a ultra-estrutura das gônadas de machos dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum* na população natural, do Furo das Marinhas (Mosqueiro, PA).

2.3- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as relações biométricas para a espécie;
- Determinar os morfotipos em ambiente natural;
- Descrever a estrutura do aparelho reprodutor de machos;
- Descrever os tipos celulares dos túbulos seminíferos;
- Caracterizar pela microscopia eletrônica as células germinativas masculinas nas diversas fases do seu desenvolvimento;
- Comparar os morfotipos com as características estruturais dos testículos;

3- METODOLOGIA:

O estudo foi realizado na Ilha do Mosqueiro-PA, no Furo das Marinhas. A ilha fica localizada a 56 km de Belém (fig. 4).



Figura 4: Mapa da área de coleta dos camarões. Furo das Marinhas, Mosqueiro, PA.

AMOSTRA

Os camarões foram coletados mensalmente, o número mínimo foi de 50 exemplares,

coletados durante o período de dezembro de 2004 a outubro de 2005. A coleta foi feita com o

auxílio dos pescadores locais (pescado vivo com auxílio de matapi).



Figura 5: Foto demonstrando o pescador e os matapis contendo os camarões.

Após a coleta, os camarões vivos foram transportados em água do próprio local, acondicionados em caixa de isopor e levados para o Laboratório de Organismos Aquáticos (CCB-UFPA), onde foram identificados, realizada a biometria (peso e comprimento total) e a sexagem.

A determinação do sexo foi verificada pela presença do apêndice sexual masculino no segundo par de pleópodos.



Figura 6: Diferenciação sexual esquemática de machos e fêmeas. (adaptado) Fonte: Valenti, 1996.

Para a determinação do peso foi utilizada balança digital com precisão de 0,2 g. Após esse procedimento os exemplares foram medidos com o auxílio de um paquímetro digital de precisão de 0,01mm. Logo em seguida os animais foram sacrificados e as gônadas dissecadas.

As gônadas foram colocadas em fixadores apropriados para as técnicas estruturais e ultraestruturais.



Figura 7: Sexagem e dissecação das gônadas de M. amazonicum.

Um total de 500 exemplares de machos foram obtidos. Os morfotipos foram classificados de acordo com o método de Riodades-Moraes, (2002). Aleatoriamente, de cada coleta 50 exemplares de machos eram retirados e 10 eram selecionados para as análises estruturais e ultra-estruturais das gônadas. De cada camarão, foram determinadas as seguintes dimensões:

- Comprimento total (CT): distância entre a margem distal do rostro até a extremidade distal do telson;
- Comprimento do cefalotórax (CC): distância entre a margem distal do rostro até o ponto médio da margem posterior da carapaça;

- Comprimento da carapaça (CCp): distância entre a margem posterior da órbita direita até o ponto médio da margem posterior da carapaça;
- Comprimento do segundo quelípodo direito (quela): distancia entre a margem proximal do ísquio até a extremidade distal do própodo;

Para a determinação histológica foram selecionados 10 machos aleatoriamente da amostra de 50 exemplares.

MÉTODOS

3.2.1- Análise das relações biométricas

Para a análise das relações biométricas foi realizada a regressão linear e regressão linear logaritmizada, onde o comprimento total (CT) ó variável independente, comprimento do cefalotórax (CC), comprimento do quelípodo (CQ) e peso total ó variáveis dependentes. Os dados foram organizados em planilhas do programa *Microsoft office Excel* 2003 e programa *Bio Estat 4.0*.

A equação linear estimada para análise das relações entre comprimento total, comprimento do cefalotórax e comprimento do quelípodo foi a seguinte:

Y=a+b. X

Onde,

 $\mathbf{Y} =$ Variável dependente (CC e CQ)

 $\mathbf{X} =$ Variável independente (CT)

 \mathbf{a} = interseção no eixo dos Y quando X = 0

b = inclinação da reta ou taxa constante de variação de Y em função de X, indicando o tipo de crescimento (isométrico ou alométrico).

De acordo com Fonteles Filho (1989), o tipo de crescimento pode ser classificado em três tipos:

b < 1 = Indica alometria negativa, ou seja, a variável dependente (Y) cresce em uma taxa
 relativamente menor que a independente (X);

b > 1 = Indica alometria positiva, onde a variável dependente (Y) cresce em uma taxa relativamente maior que a independente (X).

 b = 1 = Indica crescimento isométrico, as partes morfométricas (X e Y) crescem uniformemente.

Para a relação entre o comprimento total e o peso total a regressão linear foi realizada com os dados logaritimizados (log10).

Para testar se as regressões eram significativas foram realizadas análises de variância (ANOVA).

3.2.2- Microscopia óptica:

As gônadas foram fixadas em Karnovsky (24 horas), após a fixação foi desidratado em quantidades crescentes de álcool (a partir de 50%, 70%, 90%, absoluto I, absoluto II), diafanizado em xilol e incluído em parafina. Foram feitos cortes seriados de 5 µm de espessura. Os cortes obtidos foram desparafinizados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de álcool e corados pelo HE (Hematoxilina e Eosina). Fotografados em microscópio Olimpus CLTX 30.

3.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão:

Os fragmentos das gônadas foram fixados em solução de Karnovsky por três horas a 4^{0} C. Posteriormente foram lavados em tampão cacodilato de sódio 0,1M e pH 7,4 e pósfixados em tetróxido de ósmio a 1% por duas horas em temperatura ambiente. Desidratados em série crescentes de álcool e incluídos em Epon 812. Os cortes semi-finos foram corados com azul de toluidina a 1%. Os cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, sendo posteriormente analisados e fotografados em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss 900.

3.2.4- Microscopia Eletrônica de Varredura

Os fragmentos das gônadas foram fixados em solução de Karnovsky (paraformaldeído 4%, glutaraldeído 2% em tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,4), por 3 horas a 4°C. Posteriormente, foram lavadas em tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,4 e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% acrescido de 0,8% de ferricianeto de potássio em tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,4, por 2 horas em temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol (30% a 100%) e submetidas à secagem em ponto crítico em CO2. Posteriormente, foram colocadas em *stubs* e submetidas à metalização com cobertura de ouro de 10nm de espessura para análise em microscópio eletrônico de varredura.

Durante o estudo foi coletado 500 exempleres de machos, estes apresentaram variação de comprimento total entre 3,0 a 14,7 cm e peso entre 0,4 a 23g.

4.1- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS MORFOTIPOS

Os morfotipos da população natural do Furo das Marinhas apresentaram as seguintes características morfológicas (tabela 01).

| | ТС | СС | GCø | GC |
|------------------------|--------------------|-----------------|--------------------|---------------|
| | "Translucent Claw" | "Cinnamon Claw" | "Green Claw linha" | "Green Claw" |
| Comp. Total (cm) | 3,0 ó 6,0 | 6,1 ó 9,0 | 9,1 ó 14,7 | 9,1 ó 14,7 |
| Comp. Quelipodo (cm) | 1,0 ó 2,5 | 2,0 ó 4,0 | 4,0-9,0 | 6-14 |
| Peso (g) | 0,4 ó 4,0 | 1,5 ó 7,0 | 6,5 ó 17 | 6,5 ó 23 |
| Coloração do corpo | Transparente opaca | Canela | Esverdeado | Verde-azulado |
| Coloração Quelípodo | Translúcido | Canela | Esverdeado | Verde intenso |
| Espinação no Quelípodo | - | + | ++ | +++ |

Tabela 01: Quadro resumo demonstrando as características morfológicas dos morfotipos do furo das Marinhas.

4.1.1 ó Classes de Comprimentos dos morfotipos:

As classes de comprimentos corporais são verificadas na tabela 01. Quanto à coloração foi observado que os machos da população natural variam de translúcidos, canela e verde-azulados.

Na tabela 02 são apresentados as médias e os respectivos desvios padrão do comprimento total (CT), comprimento do cefalotórax (CC) e comprimento dos quelípodos (CQ).



Figura 8: Os morfotipos de machos *M. amazonicum* do Furo das Marinhas, Mosqueiro- Pa.

| | TC | CC | GCø | GC |
|-----|---------------|-----------------|-----------------|------------------|
| СТ | 5.36 ± 0.56 | $7.47{\pm}0.79$ | 9.82 ± 0.70 | 11.72 ± 1.51 |
| CCf | 2.48 ± 0.45 | 3.52 ±0.45 b | 4.70 ± 0.41 | 5.74 ± 0.85 |
| CQ | 2.20 ± 0.48 | 3.10 ± 0.66 | 4.76 ± 0.75 | 8.38 ± 2.77 |

4.2-FREQÜÊNCIA DOS MORFOTIPOS:

Em 500 machos analisados, observamos que 63% dos machos coletados pertenciam ao morfotipo CC (õCnnamon Clawö), 19% foram TC (õTranslucent Clawö), 10% foram do morfotipo CG¢(õGreen Claw linhaö) e apenas 8% foram GC (õGreen Clawö)(fig. 10). O número de cada morfotipos em todas as coletas também foi demonstrado (fig. 9).



Figura 9: Gráfico demonstrando a freqüência dos morfotipos em todas as coletas de *M. amazonicum*.



Figura 10: Gráfico demonstrando freqüência dos morfotipos de *M. amazonicum*.

4.3- RELAÇÕES BIOMÉTRICAS

A análise da regressão linear foi realizada entre a relação comprimento total e comprimento do cefalotórax apresentando crescimento alométrico negativo, o valor de F mostrou-se significativo (p< 0.001) (tabela 03). A relação comprimento total e comprimento do quelípodo também apresentaram crescimento alométrico negativo, onde o valor de F foi significativo (p< 0.001) (tabela 04).



Figura 11: Gráfico da regressão linear entre o comprimento total (CT) e comprimento do cefalotórax (CC) em *M. amazonicum*.

Tabela 03 ó Equação de regressão para CT = comprimento total (cm) e CC = (comprimento do cefalotórax (cm).

| Grupo | Ν | Y = b . X + a | r ² | F |
|--------|-----|-------------------------------------------|-----------------------|-------------|
| Machos | 500 | CC = 0.5091CT ó 0.2712 | 0.9337 | 12007.1848* |

 $N = n^{\circ}$ de exemplares, Y = variável dependente (CC), X = variável independente (CT), a = interseção da reta em y, b = inclinação da reta e coeficiente de alometria, r² = coeficiente de determinação, F = valor de F encontrado pela ANOVA.* Significativo ao nível de 0.1%

A relação comprimento total (cm) e peso (g) demonstrou um valor de F significativo para os dados logaritimizados (log10), apresentando alomentria negativa, determinando uma maior aumento do comprimento em relação à massa corpórea (Figura 10).



Figura 13: Gráfico da regressão linear entre o log10 comprimento total (cm) e lo10 peso (g) em *M. amazonicum.*

Tabela 05 ó Equação de regressão para CT = comprimento total (cm) e PT = peso total (g). determinação, F = valor de F encontrado pela ANOVA.

| Grupo | Ν | Y = b . X + a | r ² | \mathbf{F} |
|--------------|-----|-------------------------------------------|-----------------------|--------------|
| Machos | 500 | PT = 2.915CT ó 2.057 | 0.9437 | 8345.7335 |
| 0.1 1 17 | | | | ~ 1 |

 $N = n^{\circ}$ de exemplares, Y = variável dependente (PT), X = variável independente (CT), a = interseção da reta em y, b = inclinação da reta e coeficiente de alometria, r² = coeficiente de * Significativo ao nível 0.1%

4.4- MORFOLOGIA DO APARELHO REPRODUTOR

O aparelho reprodutor dessa espécie está localizado na parte antero-ventral do estômago, sobre o hepatopâncreas e debaixo do coração. Os testículos são simétricos, alongados, transparentes e situados no cefalotórax. De cada lado dos testículos partem os ductos deferentes que são dois tubos longos e finos enovelados que possuem uma dilatação na porção final onde situa-se uma estrutura contendo a massa de espermatozóides chamada de espermatóforo. Os ductos deferentes desembocam no 5º par de pereópodos (figura 14).



Figura 14: Morfologia das gônadas de *M. amazonicum*. Testículo (*), ductos deferentes (\longrightarrow) apresentando uma porção final dilatada (\Rightarrow)

ó CARACTERISTICAS ESTRUTURAIS DAS GÔNADAS DO M. amazonicum

ó Testículos

São alongados, transparentes e situados no cefalotórax. São constituídos por vários túbulos seminíferos. Cada túbulo está envolvido por uma cápsula de tecido conjuntivo bem delgado, que divide o parênquima do órgão dando-lhe um aspecto lobulado (figura 15). De forma geral os túbulos seminíferos apresentam uma população de células em diferentes fases

de maturação, que se distribui irregularmente dentro do túbulo, com um aglomerado de células situadas em um pólo e no outro lado, as células livres, os espermatozóides (figura 16).



Figura 15: Micrografia dos testículos do *M. amazonicum*, caracterizado pela presença de túbulos seminíferos revestidos por tecido conjuntivo (seta) contendo em seu interior células da linhagem espermatogênica e espermatozóides. HE 100X.



Figura 16: Aumento da figura 14, demonstrando os túbulos seminíferos limitados por uma delgada cápsula de tecido conjuntivo e células achatadas de revestimento (seta preta), em um dos lados há um aglomerados de células da linhagem espermatogênica (setas amarelas) e no lado oposto os espermatozóides livres (setas vermelhas). HE 400X.

ó Ductos Deferentes

Estão revestidos por cápsula de tecido conjuntivo, apresentando células de revestimento que podem variar de cúbicas a cilíndricas baixas conforme a região de corte. No ducto deferente foram observadas células nutridoras localizadas em um dos pólos do ducto e uma população de espermatozóides localizada na porção central (figura 17).



Figura 17: Micrografia do ducto deferente; **A**- Ducto deferente em aumento de 100X, **B**- Aumento da figura A, apresentando células cúbicas de revestimento (seta pret

Figura 18: Micrografia dos testículos do morfotipo TC. O parênquima testicular é dividido em túbulos seminíferos (setas amarelas) que apresentam células achatadas de revestimento. HE 400X.



Figura 19: Aumento da figura 17. Túbulo seminífero envolvido por tecido conjuntivo, apresentando células achatadas (seta vermelha), espermatogônias (seta preta), espermatócitos (seta branca), espermátide (seta amarela) e espermatozódes (seta azul). HE 1000X.

4.6.2 - MORFOTIPO CC:

- Morfotipo CC (õCinnamon Clawö)

Os testículos apresentam vários túbulos seminíferos apoiados em um delgado tecido conjuntivo e envolvidos por células achatadas. Em uma determinada área dos túbulos foi observado um grupo de células da linhagem espermática e em outra área verifica-se uma grande população de células, em intensa atividade meiótica. Os espermatozóides foram observados em pequena quantidade (fig. 20 e 21).



Figura 20: Micrografia dos testículos do morfotipo CC. Túbulo seminífero envolvido com delgado tecido conjuntivo e células achatadas (seta vermelha), células da linhagem espermatogênica (seta preta) e células em processo de espermatogênese (setas amarelas). HE 400X.



Figura 21: Aumento da figura 20. Túbulo seminífero do morfotipo CC, caracterizado pela presença de células da linhagem espermática: espermatogônias (seta preta), espermatócitos (seta branca), espermátides (seta amarela) e células em processo de espermatogênse (setas azuis) células. HE 1000X.

- Morfotipo GC E GCøt

Embora os morfotipos GCøe GC apresentem diferenças quanto à morfologia externa, estruturalmente não observamos diferenças marcantes em seus testículos. Apresentam os testículos com muitos túbulos seminíferos. Cada túbulo apresentava-se envolvido por um delgado tecido conjuntivo e células achatadas. Em um dos pólos de cada túbulo observamos um grupo de células da linhagem espermática e os espermatozóides ocupando quase todo o túbulo (figura 22 e 23).

As observações ultra-estruturais dos testículos revelaram a presença de células achatadas envolvendo os túbulos seminíferos (fig. 23A). Os núcleos das células espermáticas apresentam morfologias variadas, sendo alongados, endentados e arredondados (fig. 23A, B e C). Os espermatócitos são células menores que apresentam um núcleo arredondado com a

cromatina organizada em grumos densos (fig. 23 C). Foi observado espermátides em processo de diferenciação, com aspecto alongado e a presença de muitas mitocôndrias envoltas de um núcleo irregular (fig. 23D).



Figura 22: Micrografia dos testículos. Túbulo seminífero dos morfotipos GC e GC¢ **A**- Túbulo seminífero dos morfotipos GC: Presença de células achatadas (seta vermelha), células da linhagem espermática: espermatogônias (seta preta), espermatócitos (seta branca), espermátides (seta amarela) e os espermatozóides (seta azul). **B**- Túbulo seminífero dos morfotipos GC¢ Células da linhagem espermática: espermatogônias (seta preta), espermatócitos (seta amarela) e os espermatogônias (seta preta), espermatócitos (seta amarela) e os espermatogônias (seta preta), espermatócitos (seta amarela) e os espermatozóides (seta azul). **B**- Túbulo seminífero dos morfotipos GC¢ Células da linhagem espermática: espermatogônias (seta preta), espermatócitos (seta amarela) e os espermatozóides (seta azul). HE 600X.



Figura 23: Eletro-micrografia dos testículos do morfotipo GC. **A-**Célula de revestimento (seta) 3000X. **B-**Espermatogônias (*) e Espermatócitos (setas) 3000X. **C-** Células espermáticas com núcleos (N) apresentando morfologia variada e espermátide (seta) 3000X. **D-** Espermátide apresentando mitocôndrias () e um núcleo em processo de descondensação (N) 12000X.

4.7 -DESCRIÇÃO ESTRUTURAL E ULTRAESTRUTURAL DOS ESPERMATOZÓIDES DO *M. amazonicum:*

Os espermatozóides apresentam uma forma de õtaçaö ou de õcáliceö, possuem a porção apical côncava e a porção distal convexa e uma pequena espícula (figura 24). Estas células ficam mergulhadas em uma substância com um aspecto gelatinoso (figuras 24, 25A e B), no citoplasma foi observada a presença de muitas mitocôndrias e organelas vesiculares, o núcleo está localizado na região basal do cone de implantação da espícula (figura 26B). A espícula apresenta estruturas semelhantes a filamentos tubulares com estriações transversais (figura 26D).



Figura 24: Micrografia do ducto deferente em aumento de 1000X, caracterizado pela presença espermatozoídes (V) em forma de õguarda-chuva invertidoö.



Figura 25: Eletro-micrografia de varredura. Espermatozóide do *M. amazonicum* em forma de taça ou cálice mergulhado em uma substancia gelatinosa.



Figura 26: Eletron-micrografia de transmissão. **A-** Espermátide em diferenciação () 7000X, **B-**Seção longitudinal do espermatozóide demonstrando os componentes ultraestruturais: Citoplasma (C), Núcleo (N) e espícula (E) 7000X, **C**-Citoplasma do espermatozóide contendo estruturas vesiculares() 20000X, **D**-Aumento da figura 26B: Núcleo descondensado, seção longitudinal da espícula demonstrando as estriações tranversais (*) presença dos microfilamento em corte transversal da espícula. () 20000X.

: RELAÇÕES BIOMÉTRICAS:

Os estudos realizados com *M. amazonicum* tiveram impulso a partir do interesse para o cultivo comercial que essa espécie vem despertando. O *M. amazonicum* é uma das espécies de água doce mais pescada no Brasil, pois é largamente explorada pela pesca artesanal (NEW 2000).

No presente trabalho foi observado a presença de distintos morfotipos, essas diferenças morfológicas foram baseadas no comprimento total, coloração do corpo e dos quelípodos. Foram definidos quatro mofotipos: TC; CC; GCø e GC sendo classificados de acordo com Moraes-Riodades (2002) para *M. amazonicum* obtidos de cativeiro.

Os morfotipos do presente estudo apresentaram dimensões corporais menores que os descritos na literatura, isto pode ser explicado devido estes serem provenientes de uma população natural (tabela 01), enquanto que os morfotipos descritos por Moraes-Riodades (2002) faziam parte de uma população oriunda de viveiros de cultivo.

Embora Moraes-Riodades (2002) e Papa (2004) mencionem que indivíduos maiores apresentam quelípodo verde, essa característica não foi tão evidenciada em nosso trabalho, os morfotipos GC e GCø apresentavam quelípodos com coloração azulada. Segundo Davant (1963), a cor nos crustáceos pode se alterar de acordo com as características do ambiente em que os animais vivem, fato ocorrido no presente estudo, visto que os animais eram provenientes de habitat natural (região de Mosqueiro-PA).

No referente estudo o comprimento total máximo de 14,7 cm encontrado para *M. amazonicum*, foi semelhante ao encontrado em Vigia-PA (14,4cm) por Silva (2002) e na Ilha do Combu- PA (14,1 cm) por Silva (2006). Entretanto, este comprimento foi superior ao

registrado para a Ilha do Careiro na Amazônia central (10,6cm) por Odinetz-Collart & Moreira (1993) e inferior ao obtido por Borges (2003) no Açude de Rômulo Campos na Bahia (17,8 cm).

Durante o estudo foi observado o maior número de representantes do morfotipo CC e TC, atingindo 63% e 19% de freqüência, respectivamente. Devido aos seus tamanhos relativamente reduzidos eles podem ser mais ativos, dotados de maior mobilidade tanto para se alimentar como para fugir de predadores, lhes garantido vantagens e manutenção na população.

Os morfotipos GC e GCø apresentaram 8% e 10% de freqüência, respectivamente. Devido apresentarem maiores tamanhos são mais predados pela pesca, onde os maiores indivíduos são retirados em grandes quantidades do ambiente natural. Por outro lado quelípodos grandes lhes conferem vantagens adaptativas como captura de presas, defesa contra predadores e sucesso reprodutivo.

No presente estudo a análise de regressão linear foi significativa entre comprimento total e comprimento do cefalotórax, apresentando crescimento alométrico negativo. Este resultados foi semelhante ao obtido por Silva (2006) em *M. amazonicum* da Ilha de Combu e por Moraes-Riodades (2002) em *M. amazonicum*, oriundos de viveiro de cultivo. Entretanto alometria positiva foi observada por Antune e Oshiro (2004a) em *M. pontiuna* e isometria foi verificado por Román-Contreras e Campo-Lince (1993) em *M. acanthurus*. A diferença de alometria pode estar relacionada com as diferenças de espécies e formato do corpo do animal.

Os valores de R^2 obtidos nas relações de crescimento entre o quelípodo e comprimento total são mais baixos quando comparados com as outras relações de comprimento, assemelhando-se com os resultados de Moraes-Riodades (2002). O valor baixo de R^2 indica uma baixa correlação no padrão de crescimento do quelípodo e comprimento total, isto sugere que o quelípodo cresce muito mais rápido que o corpo. A relação entre o comprimento total e o peso também apresentou alometria negativa, semelhante aos resultados encontrados por Silva (2002) e Silva (2006) em *M. amazonicum* e por Martinnelli (2005) em *Farfantepenaeus subtilis*, também observou alometria negativa. Esse tipo de alometria observada indica um menor aumento da massa corporal em relação ao comprimento total e pode está associada a fortes gastos de energia durante o processo de reprodução.

5.2-ASPECTO ESTRUTURAL E ULTRAESTRUTURAL DO APARELHO REPRODUTOR

O *M. amazonicum* apresenta os testículos simétricos, alongados e transparentes. De cada lado dos testículos partem os ductos deferentes, que são estruturas enoveladas e na porção final apresenta uma dilatação denominada de ampola do ducto deferente, onde está localizado o espermatóforo contendo os espermatozóides que serão depositados no gonóporo da fêmea. Semelhante descrição assemelha-se foi observado em *M. rosenbergii* realizada por Chow *et al.* (1982), em *M. acanthurus* realizado por Carvalho (1980) e em vários peneídeos (BELL & LIGHTNER, 1948; KING, 1948 e ELDRED, 1958).

De modo geral os testículos do *M. amazonicum* estão constituídos por muitos túbulos seminíferos, que são revestidos por tecido conjuntivo, apresentam células achatadas que envolvem os túbulos, sugere-se que essas células façam parte do tecido conjuntivo e podem ser fibroblastos. No interior de cada túbulo existe uma população de células da linhagem espermática em diferentes fases de maturação, e espermatozóides com um aspecto morfológico semelhante a uma taça ou cálice. Resultados semelhantes foram verificados em camarões peneídeos por Bell & Lightner (1988) e em *M. rosenbergui* por Chow *et al.*, (1982). Embora sejam espécies diferentes, estas apresentam a mesma organização estrutural dos testículos, que são características comuns para os palemonídeos e peneídeos.

O ducto deferente é formado por três regiões: proximal, medial e posterior ou distal, esta última fica ligada a uma região dilatada contendo o espermatóforo denominada de ampola. Os ductos deferentes estão revestidos por cápsula de tecido conjuntivo, apresentam um epitélio de revestimento, que pode variar de cúbicas a cilíndricas baixas dependendo da região, sendo evidenciado também em Panulirus penicillatus por Matthews (1953). Contudo, Malek (1974) não observou a presença de nenhum tipo de epitélio envolvendo os ductos deferentes em Penaeus kerathurus, sendo observado glândulas ao longo do ducto deferente que secretam substâncias contendo proteínas que irão fazer parte do espermatóforo. Na espécie em estudo não foi observada nenhuma estrutura glandular ao longo do ducto deferente que possa estar envolvida na formação do espermatóforo, porém foi observado a modificação do epitélio simples cúbico a colunar alto, sugerindo que estas células epitéliais podem estar envolvidas na secreção de substâncias protéicas para a formação do espermatóforo do M. amazonicum. Em outros decápodas como carangueijos Carcinus maenas e Portunus sanguinolentus foi observado um epitélio simples secretório (SPALDING, 1942; GEORGE, 1963). Com relação ao M. amazonicum é necessário a realização de um estudo mais detalhado das diferentes regiões para comprovar estas hipóteses.

Na espécie em estudo foi observado um aglomerado de células localizadas na porção excêntrica dos ductos deferentes, ainda não sabemos a real função destas células, de acordo com Bell & Lightner (1988), essas células podem desempenhar o papel de sustentação ou podem ser células nutridoras. Na porção central dos ductos de *M. amazonicum* foi observado uma população de numerosos espermatozóides mergulhados em uma substância semelhante ao colóide, que pode ser composta de glicoproteínas, porém não foi feito PAS para comprovar esta hipótese.

Na análise histológica das gônadas do morfotipo TC revelou um órgão dotado de muitos túbulos seminíferos. No interior dos túbulos foram observadas células da linhagem

espermatogênica: espermatogônias; espermatócitos; espermátides e espermatozóides, sendo este último observado na região mais central de cada túbulo. Este morfotipo apesar de ser considerado um indivíduo muito jovem, com apêndice sexual muito reduzido ou até mesmo em formação, demonstrou através de análises histológicas dos testículos, serem capaz de produzir espermatozóides. Bell & Lightner (1988) verificaram que os testículos de peneídeos muito jovens não apresentam espermatozóides, apenas espermatogônias, espermatócitos e espermátides. Todavia Papa (2004) sugeriu através de análises dos índices gonadossomáticos que os morfotipo QT de *M. amazonicum* são indivíduos que realizam atividade sexual de forma intensa. Sagi & Raøanan (1988) sugeriram que machos SM (small male) de *M. rosenbergii* também apresentam atividade sexual, apesar de serem indivíduos muito pequenos quando comparados com os outros morfotipos.

O morfotipo CC do presente estudo apresenta túbulos seminíferos contendo poucas células da linhagem espematogênica, localizadas em um dos pólos do túbulo. Nestes animais observou-se uma grande população de células em processo de divisão celular, além disso, esses indivíduos caracterizam-se por apresentar poucos ou nenhum espermatozóide em seus túbulos. Sugerindo que os indivíduos com classe de comprimento entre 6,0 e 9,0 cm ou seja, no segundo estágio do desenvolvimento possivelmente estejam realizando de forma intensa o processo de espermatogênese. Provavelmente estes animais estavam se preparando para atingirem o próximo morfotipo, já que este caracteriza-se por apresentar animais que realizam a reprodução de forma intensa. Papa (2004) demonstrou que o morfotipo QC apresenta o maior índice hepatossomático entre os morfotipos, o que sugere que estes animais estejam acumulando reservas de nutrientes para atingirem o próximo morfotipo, essa energia será utilizada para o provável crescimento do corpo e do sistema reprodutor.

Os morfotipos GCøe GC de *M. amazonicum* são indivíduos maduros com quelípodos longos que são utilizados durante a corte. Sabe-se que em *M. rosenbergii*, os machos BC

utilizam seus quelípodos para virar a fêmea durante a cópula (VALENTI, 1985). Em *M. amazonicum* apesar de possuírem diferenças morfológicas quanto ao comprimento dos quelípodos, não foi observado diferenças histológicas em suas gônadas, sugerindo que este número elevado de gametas seja devido intensa atividade reprodutiva realizada por estes animais, que são considerados potencialmente reprodutores.

A diferenciação morfotípica realizada por Moraes-Riodades (2002) baseia-se nas análises morfológicas externas e a autora sugere que os indivíduos GCø e CG de *M. amazonicum* sejam machos dominantes e com maior atividade reprodutiva. No presente estudo também foram encontrados indivíduos GCø e GC, mas na análise histológica qualitativa sugere-se que os morfotipos GCø e GC sejam somente um, esses resultados corroboram com Papa (2003) que não observou diferenças na análise histológica dos testículos dos morfotipos QV e QVI de *M. amazonicum*. Segunda a autora, o morfotipo QV semelhante a GCø pode ser uma forma de transição entre QC e QVI, como ocorre em *M. rosenbergii* (SAGI *et al.*, 1988).

As observações ultra-estruturais dos testículos dos morfotipos GCøe GC revelaram a presença de células achatadas envolvendo os túbulos seminíferos, estas células fazem parte do tecido conjuntivo do túbulo e podem ser fibroblastos.

As células da linhagem espermáticas apresentam núcleos com morfologias diferenciadas, sendo alongados, endentados e arredondados. As espermatogônias são as maiores células da linhagem espermática. Os espermatócitos são células menores que apresentam um núcleo arredondado com a cromatina organizada em grumos. As espermátides quando em processo de espermiogênese são células com forma irregular e caracterizam-se pela presença de muitas mitocôndrias próximas de um núcleo irregular. A presença deste número elevado de mitocôndrias deve estar relacionada com a grande quantidade de energia

que a célula sexual resultante da diferenciação necessita para realizar o processo de fertilização.

Os espermatozóides do *M. amazonicum* possuem a porção apical côncava e a porção distal convexa e uma pequena espícula, possuindo a forma de uma taça ou cálice. A mesma morfologia foi descrita em *M. rosenbergii* (CHOW et al. 1982), e em *M. acanthurus* (CARVALHO, 1980). Entre os peneídeos já foram relatados espermatozóides com espículas, sendo verificadas em *Penaeus aztecus* (CLARK JR. et al, 1973) e com flagelos em *Penaeus duorarum* (CUMMINGS, 1961). Em *Sicyonia ingentis* os espermatozóides apresentam uma cabeça esférica e uma pequena espícula (SHIGEKAWA et al, 1986). A morfologia dos espermatozóides maduros pode servir como uma ferramenta para a taxonomia dos grandes grupos. Visto que, alguns palemonídeos (*M. amazonicum* e *M. rosenbergii*) apresentam a mesma morfologia, porém com tamanhos diferentes.

A análise ultra-estrutural dos espermatozóides de *M. amazonicum* revelou a presença de muitas mitocôndrias e organelas vesiculares. O núcleo apresenta um aspecto descondensado com cromatina fibrilar, localizado perto da região de implantação da espícula. A espícula apresenta estruturas semelhantes a microfilamentos alinhados que se organizam de maneira longitudinal, essas estruturas diferem dos microtúbulos observados nos flagelos. No presente estudo foi observado estriações transversais ao longo da espícula. A presença de estriações transversais também foram observadas em *Macrobrachium rosenbergii* (LYNN *et a.,* 1983), de *Palaemon elegans* (POCHON-MASSON, 1969), em *Palaemon serratua* (PAPATHANASSIOU *et al.,* 1984) e em *Palaemone paludosus* (KOEHTLER, 1979) também apresentam estriações transversais.

Enquanto que a espícula dos espermatozóides de *Pandalopsis japonica* apresenta estruturas semelhantes a microtúbulos organizadas em duas camadas com densidades diferentes (KIM *et al*, 2003). No presente estudo essa organização não foi visualizada. A

espícula de *Penaeus aztecus* apresenta elementos subestruturais semelhantes a microfilamentos ou filamentos e não apresenta motilidade (CLARK *et al.*, 1973). Em *M. rosenbergii* a espícula está envolvida na perfuração dos ovos no momento da fecundação (LYNN *et al.* 1983). Os espermatozóides de *M. amazonicum* não apresentam motilidade e ainda não se sabe o papel da espícula no processo de fecundação e nem as propriedades bioquímicas. Para entender a interação ovo/esperma é necessário a realização de estudos referentes a fertilização *in vitro* desta espécie.

6 ó CONCLUSÕES

- É De acordo com as análises morfológicas externas podemos classificar os machos de *M. amazonicum* em quatro morfotipos: TC, CC, GCøe GC.
- É Morfotipos da população natural do Furo das Marinhas ó Mosqueiro(PA) apresentaram intervalos de comprimentos menores que os descritos por Moraes-Riodades(2002) que são oriundos de cultivo.
- É As análises estruturais dos testículos indicaram a existência de três morfotipos distintos: TC, CC e GC.
- É A análise qualitativa das gônadas demonstrou que os morfotipos GC e GCø não apresentam diferenças quanto ao aspecto estrutural, sugerindo que estes sejam apenas um tipo de morfotipo.
- É O morfotipo TC sendo caracterizado pelo menor indivíduo, apresentou quantidades relevantes de espermatozóides em seus testículos.
- É O morfotipo CC caracteriza-se por apresentar-se em intensa atividade meiótica.
- É O Espermatozóide do *M. amazonicum* assemelha-se a uma de taça ou cálice contendo uma pequena espícula.
- É A espícula do espermatozóide do *M. amazonicum* não apresenta motilidade, apresentando elementos ultruaestruturais do tipo microfilamentos e estriações transversais.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, S. & OSHIRO, M. Y. Crescimento relativo de *Macrobrachium pontiuna* (Muller, 1880) (Decapoda, Palaemonidae) da Serra do Piloto, RJ. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 25., Brasília. **Resumos eletrônicos..** Brasília: Sociedade Brasileira de Zoologia, Cd-Room. 2004a.

ALVES, M. I. M. Alimentação de *Macrobrachium amazonicum* (HELLER) em condições de laboratorio. **Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.17. 19-23p. 1986.

BAYLEI, C. Aquaculture and basic human needs. **World Aquaculture**, Baton Rouge, v. 28. 28-31p. 1997.

BARRETO, A. V. & SOARES, C. M. A. Produção de pós-larva de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Paleamonidae) sob condições controladas de laboratório. **Rev. Bras. Zoologia.**, SãoPaulo, v. 1. 51-55 p. 1982.

BELL, T. A. & LIGHTNER. A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. 74 - 82p. 1988.

BIALETZKI, A., NAKATANI, K., BAUMGARTNER, G. & BOND-BUCKUP, G. Occurrence of *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Decápoda, Palaemonidae) in Leopodoøs inlet (Ressaco do Leopoldo), upper Paraná river, Porto Rico, Paraná, Brazil. **Revista brasileira de Zoologia**, Curitiba, v.14. 379-390p. 1997.

BORGES, M. S. Distribuição, abundância e biologia reprodutiva de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) e *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Crustacean, Decapoda, Palaemonidae) no Açude de Público de Rômul Campos, Itiúba ó Bahia. 87 f., Monografia (Trabalho de conclusão de curso) ó Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Bahia. 2003.

BOWMAN, T. E. & ABELE, L. G., Classification of the recent crustácea. In: ABELE, L. G. The biology of crustacean: systematics, the fossil record and biogeography. <u>New York Acad.</u> <u>Press Inc.</u>, v. 1, 1-27p. 1982.

BRAGAGNOLI, G. & GROTTA, M. Reprodução do camarão de água-doce *Macrobrachium amazonicum* do açude Epitácio Pessoa (PB), Brasil. Parte I: Ciclo sexual. **Rev. Nordestina Biol.**, v.10. 141-154 p. 1995

CARVALHO, H. A. Morfologia do Aparelho Reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN, 1836) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE) PARTE I ó MASCULINO. **Ciência e Cultura**. v. 32. nº 7. 941 ó 945p. 1980.

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. 17-23 p. 1993.

CHRISTOFFERSEN, M. L. Sistemática filogenética dos Caridea (Crustacea: Pleocyemata). In: **Congresso Brasileiro de Zoologia**. João Pessoa ó PB. 1989.

CHOW, S., OGASAWARA, Y., TAKI, Y. Male Reproductive System and Fertilization of the Palaemonid Shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. Bull. of the Japanese Society of Scientific Fisheries. v. 48. n° 2. 177-183p. 1982.

CLARK, JR. W. H., TALBOT, P., NEAL. R. A., MOCK, C. R. & SALSER, B. R. In fertilization with non-motile spermatozoa of the brown shrimp *Penaeus aztecus*. Marine **Biology.** v. 22. 353-354p. 1973.

CUMMINGS, W. C. Maturation and Spawning of the Pink Shrimp, *Penaeus duorarum* Burkenroad. Inst. of Marine Science. University of Miami, Florida. 462-468p. 1961.

DAVANT, P. Clave para la identificación de los camarones mrinos y de rio con importancia económica en el oriente de Venezuela. Cumana: Instituto Oceanográfico/ Universidade de Oriente. 113p. 1963

DOUGHERTY, W. J., SANDIFER, P. A. Junctional Relationships between germinal cells and sustentacular cells in the testes of a Palaemonid shrimp. **Tissue & Cell.** v. 16. n° 1. 115 ó 124p. 1984.

ELDRED, B. Observations on the structural development of the genitalia and the impregnation of the pink shrimp, *Penaeus duorarum* Burkenroad. Florida State Bd. Conserv. Tech. Ser. 23, 26 pp. 1958.

FONTELES FILHO, A. A. **Recursos Pesqueiros: Biología e Dinâmica Populacional.** Fortaleza: Ed. Imprensa Oficial do Ceará. 1989. 296p.

GEORGE, M. J. The anatomy of the crab *Neptunos sanguinolentus*. Herbst. Journ. Madras Univ. (B) 33. n. 3. 289-304p. 1965.

GUEST, W. C. Laboratory life history of the palaemonid shrimp *Macrobrachim amazonicum* (Heller) (Decapoda, Palaemonidae). **Crustaceana**, v. 37. 141-152 p. 1979.

GURGEL, J. J. S. & MATOS, M. O. M. Sobre a criação extensiva do Camargo-canela, *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862) nos açudes públicos do nordeste brasileiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3, São Carlos, *Anaisí* p. 295-311. 1984.

HOLTHUIS, L. B. A genera revision of the palaemonidae (Crustacea, Decapoda Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaemoninae. OCC. **Pap. Allan Hancock** Fd. v.12. 1-39 p. 1952.

KIM, D. H., JO, Q., CHOI, J. H., YUN, S. J., OH, T. Y., KIM, B. K. & HAN C. H. Sperm Structure of the *Pandalopsis japonica* (DECAPODA, PANDALIDAE). **Journal of Crustacean Biology.** V.23. n. 1. 23-32p. 2003.

KING, J. E. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus setiferus* (Linnaeus). **Biol. Bull.**, v. 94. 244 ó 262p. 1948.

KURIS, A. M., RAØANAN, Z., SAGI, A. & COHEN, D. Morphotypic differentiation of male Malaysian giant prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Crustacean Biology, Lawrence, v.7. 219-337p. 1987.

KOEHLER, L. D. A unique case of cytodifferentiation: spermiogenesis of the prawn, *Palaemonetes paludosus*. Journal of Ultrastructure Research. v.69. 109-120p. 1979.

LYNN, JW., CLARK, W. H. Jr. A morphological examination of sperm-egss interation in the fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Biol. Bull.** v. 164. 446 ó 458p. 1983.

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

MAGALHÃES, C., Desenvolvimento larval obtido em laboratório de paleminídeos da região Amazônica: I. *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea, Decápoda). **Amazoniana**, Manaus, v. 9. 247-274p. 1985.

MAGALHÃES, C. Crustáceos Decápodos In: ISMAEL, D; VALENTI, W.C.; MATSUMURA-TUNDISI, T. ROCHA, O.; (Editores) 1999. *Invertebrdos de Agua doce*. São Paulo, FAPESP. P. 127-133(VOL. 4 DA COLEÇÃO õBiodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XXö, organizada por Joly, C.A. & Bicudo, C.E.M). 1999.

MALEK. S. R. A. & BAWAB. F. M. The formation of the spermatofore in *Penaeus kerathurus* (Forskal, 1775) (DECAPODA, PENAEIDAE). **Crustaceana.** v.3 n.26. 273-285p. 1974.

MARTINELLI, J. M.. Estrutura populacional dos camarões Penaeidae no estuário do rio Caeté, litoral Norte do Brasil. 174f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) ó Curso de pós graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. Centro de Ciências Bilógicas. 2005

MATTHEWS, D. C. The origin, development and nature of the spermatophoric mass of the spiny lobster, *Panulirus penicillatus* (Oliver). Parcific Sci., n. 5. v. 4. 359-371p. 1951.

MORAES-RIODADES, P. M. C. Cultivo de camarões do gênero *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustace, Palaemonidae) no estado do Pará. **Monografia**, Curso de Pós-graduação Lato

sensu em nível de especialização III curso em Ecologia e Higiene do Pescado, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, 1-50 p. 1999.

MORAES-RIODADES, P. M. C. Diferenciação morfotípica em machos de camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE). **Dissertação (mestrado)** - Universidade Estadual Paulista ó Jaboticabal, Centro de Aqüicultura, 56 f. 2002.

MORAES-RIODADES, P. M. C.; VALENTI, W. C. Carcinicultura de água doce como promotora de desenvolvimento sustentável na Amazônia.In: ENCONTRO DE BIÓLOGOS DO CRB-1, 10, São Carlos. *Resumos.*. São Carlos, CRB, p.160. 1999.

MORAES-RIODADES, P. M. C.; VALENTI, W. C. Freshwater Prawn Farming in Bazilian Amazônia. In: AQUA 2000, International Conference and Exhibition Responsible Aquaculture in the New Millennium, Nice, França. *Abstractsí* p. 796. 2000.

MORAES-RIODADES, P. M. C. & VALENTI, W. C. Freshwater Prawn Farming in Brazilian Amazonia Shows Potential for Economic and Social Development. **Global Aquaculture Advocade**, Saint Louis, USA, v. 4. .73-74p. 2001.

MORAES-RIODADES, P. M. C.; VALENTI, W. C.; PERALTA, A. S. L.; AMORIM, M. D. L. Carcinicultura de água doce no Estado do Pará: situação atual e perspectivas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 11°, CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ENGENHARIA DE PESCA, 1, Olinda, PE. Anais./Vol.2. 598 ó 604p. 1999.

MOREIRA, L. C. & ODINETZ-COLLART, O. Migração vertical nictemeral das larvas do camarão *Macrobrachium amazonicum* num lago de várzea na Amazônia Central (ilha do Careiro). **Amazoniana**, Manaus, v. 12. 385-398p. 1993.

NEW, M. B. Status of freshwater prawn farming: a review. Aquaculture Research, Oxford, v. 26. 1-54p. 1995.

NEW, M. B.; Singholka, S. Kutty, M. N. Prawn capture fisheries and enhancement. In: New, M. B. & Valenti, W. C. (Ed.) **Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii.** Oxford, Blackwell Science. p. 411-428.2000.

ODINETZ-COLLART, O. La pêche crevettiére de *Macrobrachium amazonicum* (Palaemonidae) dans le Bas-Tocantins aprés la fermuture du barrage de Tucurui. **Rev. Hydrobiol. Trop.** v. 20. 131-144p. 1987.

ODINETZ-COLLART, O. Strategie de reproduction de *Macrobrachium amazonicum* en Amazonie centrale (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). **Crustaceana**, v. 61. 253-270 p. 1991.

ODINETZ-COLLART, O. & MOREIRA, L. C. Potencial pesqueiro do camarão *Macrobrachium amazonicum* na Amazônia Central (Ilha do Careiro). **Amazoniana**, Manaus, v. 12. 399-413p. 1993.

ODINETZ-COLLART, O. & MAGALHÃES, L. C. Ecological constraints and life history strategies of Palaemonid prawns in Amazônia. *Verh. Internat. Verein. Limnol., Stuttgard*, v. 25. 2460-2467p. 1994.

ODINETZ-COLLART, O. & REBELO, H. Variation in egg size of the fresh-water prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decápoda; Palaemonidae). Journal of Crustacean Biology, Laurence. v. 16. 684-688p. 1996.

PAPA, L. P. Determinação dos índices gonodossomático e hepatossomático e análise estrutural dos testículos dos diferentes morfotipos de *Macrobrachium amazonicum*. Dissertação (Mestrados) ó Centro de Aqüicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2003.

PAPA, L. P., VICENTINI, I. B. F., RIBEIRO, K., VICENTINI, C. A. & PEZZATO, L. E. Diferenciação morfotipica de machos do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* a partir da análise do hepatopancreas e do sistema reprodutor. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v.1 26. nº 4. 463-467p. 2004.

PAPATHANASSIOU, E. & KING, P. E. Ultrastrustural studies on gametogenesis of the prawn *Palaemon serratus* (Pennant) II. Spermiogenesis. **Acta Zoologica** (Stock-holm) v.65. 33-40p. 1984.

PILLAI, R. S. Studies on the shrimp *Caridina laevis* (Heller). II. The reproductive system. J. Mar biol. Índia. vol. 2. nº 2. 226 ó 236p. 1960.

PINHEIRO, A. A. & HEBLING, J. H. Biologia de Macrobrachium rosenbergii (De Man, 1987) in VALENTI, V. C. (org.). *Carcinicultura de água doce ó Tecnologia para produção de camarões*. FAPESP. 1998.

POCHON-MASSON. Infrastructure du spermatozoide de *Palaemon elegans*. (De Man), (Crustacé, Decápode). Archives de Zoologie Experimentale et Génerale. v.110. 363-372p. 1969.

ROJAS, N. E. T., LOBÃO, V. L. & BARROS, H. P. Métodos de manutenção de larvas de *Macrobrachium amazonicum* HELLER, 1862 (Crustácea, Decapoda, Palaemonidae). **Bol.** Inst. Pesca, vol.17. 15-26p. 1990.

ROMERO, M. E. Preliminary observations on potential of culture of *Macrobrachium amazonicum* in Venezuela. In: NEW, M. B. (eds.) *Giant Prawn Farming*. Amsterdam, **Elsevier**, p. 411-416. 1982.

ROMÁN- CONTRERAS, R. & CAMPOS-LINCE, L.S. Aspectos reproductivos y aproximación a um modelo de crescimento para uma población de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegman, 1836) em el Rio Palizada, Campeche, México. Bol. Ciênc. Mar. Limn. México. v. 1. 1993.

RUPPERT, E. E. & BARNES, R. D. Zoologia de Invertebrados. ROCA, São Paulo. 1029p. 1994.

SAGI, A & RAøANAN, Z. *Morphotypes differentiation of males of the freshwater prawn Macobrachium rosenbergii:* changes in the midigut glands and the reproduction system. J. Crust. Biol., Seminole, v.8, n.1, 43-47p. 1988.

SCAICO, M. A. Fecundidade e fertilidade de *Macrobrachium amazonicum* (Crustace, Decapoda) de um açude do nordeste brasileiro. **B. Inst. Pesca**, vol.19. 89-96 p. 1992.

SILVA, M. C. N.. Dinâmica Populacional do Camarão Cascudo *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) da Ilha do Combu ó Belém-Pa. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) ó Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará. 2006

SILVA, K. C. A. Aspectos da bioecologia do camarão cascudo, *Macrobrachium amazonicum* Heller, 1862 (Crustácea, Decapoda, Palaemonidae) no município de Vigia-Para-Brasil. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) ó Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará. 2002.

SHIGEKAWA, K., CLARK Jr., W. H. Spermiogenesis in the Marine Shrimp, *Sicyonia ingentis*. **Develop. Growth and Differ**. v. 28. nº 2. 95-112p. 1986.

SPALDING, J. F. The nature and formation of spermatophore and sperm plug in carcinus maenas. Quart. Journ. Micro. Sci., v. 83. 399-422p. 1942.

VALENTI, W. C.. Cultivo de camarões de água doce. 2^a ed. São Paulo. Nobel, 82 p. 1985.

VALENTI, W. C. Freshwater prawn culture in Brazil. *World Aquaculture*, Baton Rouge, v.24. n.1. 29-34p. 1993.

VALENTI, W. C. Criação de Camarões em Águas Interiores. São Paulo. FUNEP, 81p. 1996.

VALENTI, W. C. Modernização da Carcinicultura de água doce. CAUNESP NOTÍCIAS, Boletim Informativo do CAUNESP. n. 20. Ano VIII, janeiro 2001. p.3-4. 2001.

WALKER, I. Life History traits of shrimps (Decapoda, Palaemonidae) of Amazonian inland waters and their phylogenetic interpretation. **Studies on Neotropical Fauna and Environemt**, v. 27. 131-143 p. 1992.