

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL

Efeito dos ácidos graxos poli insaturados sobre o  
desempenho reprodutivo de fêmeas de *Macrobrachium*  
*amazonicum* (Heller, 1862)

Karina Ribeiro  
Bióloga

Jaboticabal-SP  
janeiro/2003

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Efeito dos ácidos graxos poli insaturados sobre o  
desempenho reprodutivo de fêmeas de *Macrobrachium  
amazonicum* (Heller, 1862)**

Dissertação apresentada ao  
Centro de Aquicultura da Unesp,  
como parte das exigências para  
obtenção do título de Mestre em  
Aquicultura, área de concentração  
em Aquicultura de Águas  
Continentais.

**Aluna: Karina Ribeiro  
Orientadora: Irene Bastos Franceschini Vicentini**

Jaboticabal-SP  
Janeiro/2003

Dedico este trabalho:

Aos meus Pais:

**Carlos e Marina**

Pelo incentivo e carinho recebidos em  
TODOS os momentos de minha vida. E por  
serem o motivo de minha Luta!

e à minha irmã **Kátia**

Por ser além de um presente de Deus,  
uma grande e valiosa amiga.

Agradecimentos Especiais

À Orientadora e Amiga

**Irene Bastos Franceschini Vicentini**, pelo  
apoio, e por me mostrar o significado da  
palavra ORIENTAÇÃO!

Ao **Eduardo Makoto Onaka**,  
pelo amor, carinho e companheirismo  
demonstrados.

## AGRADECIMENTOS

A Deus e a todas as minhas proteções, por me darem a força necessária para enfrentar os obstáculos do dia a dia.

Aos membros da Banca examinadora: Prof. Dr. Luis Edvaldo Pezzato, e Profa. Dra. Máira Aparecida Stefanini pelas preciosas contribuições para melhoras neste trabalho.

À minha orientadora Profa. Dra. Irene Bastos Franceschini-Vicentini, pela confiança e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Prof. Wagner Cotroni Valenti por me proporcionar o estágio no Setor de Carcinicultura. Com quem sempre pude contar e por confiar na realização deste trabalho.

À Profa Dra. Maria Elizabete Macedo Viegas, pelo precioso auxílio na formulação das Rações.

Aos amigos que me auxiliaram na montagem e condução do experimento: Valdecir Fernandes de Lima, José Roberto Polachini, Márcio Reche, Mariana C. Araújo, Eduardo M. Onaka, Michele Vetorelli, Artur Preto e Dino Sasaki, Muito obrigada pela preciosa ajuda.

Ao Departamento de Tecnologia da FCAV/UNESP/Jaboticabal, em nome da Profa. Dra. Regina e dos técnicos Tânia e João Carlos, pelo auxílio nas análises dos ácidos graxos.

Aos amigos que me auxiliaram no processamento do material histológico: Luciene P. Papa, Luciana Ganeco, Priscila Machado, Analígia Silva Santos, Júlio Marques Jr. e Sabrina dos Santos Rochel pela brilhante ajudam!

Ao amigo João Paulo Papa, pelo apoio na captação das imagens e auxílio na morfometria do material.

À sempre amiga Kátia Ribeiro, pelo auxílio na conferência das referências bibliográficas.

Aos Professores do Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos da UNESP/Campus de Bauru: Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini por ser além de um eterno mestre, um exemplo de dignidade e a Profa. Dra. Maria Terezinha Siqueira Bombonato, por estar sempre conosco, demonstrando competência e companheirismo. Aos antigos amigos de Laboratório, Claudinei, e Renata Maia por compartilharem comigo o início de

tudo, e aos novos amigos: Luciene, Priscila, Analógia, Júlio e Sabrina por demonstrarem amizade e espírito de equipe!

Aos amigos do Setor de Carcinicultura Helenice, Margarete, Mariana, Patrícia, Marcel, Deborah, Valdecir e Roberto por me receberem e compartilharem um pouco de sua sabedoria.

Aos funcionários do CAUNESP: Veralice, Fátima, D. Ana, Alta, Suerli, Marcio Alves e Mauro, pelo convívio prontidão e amizade.

A Profa Dra Laura Satiko Okada Nakaghi, pelo apoio nos momentos mais difíceis.

Aos meus ETERNOS amigos Valdecir (Vardeça), Marcio (Perereca) e Roberto (Robert) o que dizer além do meu MUITO OBRIGADO?

À amiga Rosângela Jomori, por me receber em Jaboticabal.

As minhas grandes amigas: Mariana C. Araújo (Mari) e Fabiana R. Bozzo (Fabi), pelo convívio e apoio em todos os momentos. E à amiga Luciene (Lú), que apesar de termos tido um rápido convívio demonstrou-se uma grande pessoa.

Aos amigos de turma da Pós-Graduação: Mariana, Peter, Luciana, Murilo, Analógia, Erley, Leo "Bacarin", Leo Taschibana, Nilton (Paraca), Milton (Mirtão), Marcelo (Japinha), Ronald, Marco Cestarolli, Denise, entre tantos, por compartilharem momentos de tensão e descontração!

A TODOS os amigos do CAUNESP: Rachel, Flávião, Rodrigo, Tesser, Gaúcho, Ana Elisa, Adriana Muñoz, Adriana Sacioto, Adriano, Denise,,,,,,pela gratificante convivência!

Aos amigos da nova turma de pós-graduação: Luciene, Dani, Fabiana, Luciane, Camilo, e Maurício pelos preciosos momentos de descontração!

À minha sempre amiga de graduação Renata Maia (Rê), pela amizade e por compreender meus atrasados telefonemas.

Em especial à amiga Mari, por ser exemplo de força, coragem e amizade; e a amiga Fabi por estar sempre disposta a ajudar.

À todos os que passaram pelo CAUNESP e que deixaram saudades;

A todos aquele que direta ou indiretamente me auxiliaram na conclusão deste trabalho o meu Muito obrigada!

"TALVEZ NÃO TENHAMOS CONSEGUIDO FAZER O  
MELHOR, MAS LUTAMOS PARA QUE O MELHOR  
FOSSSE FEITO.  
NÃO SOMOS O QUE DEVERÍAMOS SER; NÃO SOMOS  
O QUE IREMOS SER. MAS, GRAÇAS A DEUS, NÃO  
SOMOS O QUE ÉRAMOS".

MARTIN LUTHER KING

## ***SUMÁRIO***

<b>Introdução Geral</b>	<b>1</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>11</b>
<b>Capítulo 1</b>	<b>18</b>
<b>Resumo</b>	<b>19</b>
<b>Introdução</b>	<b>20</b>
<b>Material e Métodos</b>	<b>22</b>
<b>Resultados</b>	<b>25</b>
<b>Discussão</b>	<b>30</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>33</b>
<b>Capítulo 2</b>	<b>37</b>
<b>Resumo</b>	<b>38</b>
<b>Introdução</b>	<b>39</b>
<b>Material e Métodos</b>	<b>40</b>
<b>Resultados</b>	<b>44</b>
<b>Discussão</b>	<b>51</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>55</b>
<b>Conclusões Gerais</b>	<b>60</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A aqüicultura vem apresentando significativo crescimento nos últimos anos, principalmente nos países em desenvolvimento. Atualmente, é responsável pela produção de 36 milhões de toneladas anuais de pescado que correspondem a aproximadamente 30% do total consumido no mundo (Ostrensky et al., 2000). Essa atividade pode desempenhar um importante papel socio-econômico, criando condições para um aproveitamento mais efetivo dos recursos locais. Além de originar novos nichos econômicos, e promover oportunidades para fortes investimentos gerando ganhos significativos para a economia regional e nacional (Bailey, 1997). Acrescente-se a isso, a produção de alimento de alta qualidade e a geração de empregos.

Dentre os setores da aquicultura de maior interesse comercial estão os setores de exploração de pescado, que em geral engloba: piscicultura, ranicultura, maricultura, carcinicultura marinha e de água doce, dentre outros.

A criação de camarões de água doce é um dos setores da aqüicultura que mais cresceu nos últimos anos em nível mundial. Em 1998, o setor produziu cerca de 190.000 toneladas, movimentando um montante superior a US\$ 1 bilhão (New, 2000). Isso corresponde a mais de 20% do volume total produzido pelo setor de camarão marinho considerando que, esse percentual sempre foi ao redor de 5% (Valenti, 2000). Em relação à representatividade dos camarões de água doce nos mercados mundiais, estes ainda ocupam posição inferior aos marinhos. No entanto apresentam algumas vantagens, tais como: maior resistência a doenças, maturação dos reprodutores e larviculturas mais simples, independência da água salgada na fase de crescimento final. Além disso, cabe destacar que o sistema de produção do camarão de água doce é compatível a pequenas propriedades, o que proporciona menor impacto ambiental (New, 1995; Valenti, 1996).

Atualmente a carcinicultura de água doce é reconhecida como uma forma lucrativa de produzir crustáceos, com baixo impacto ambiental e com ganhos sociais, adaptando-se perfeitamente aos conceitos modernos da aqüicultura sustentável (New et al., 2000).

As últimas estatísticas oficiais da *Food and Agriculture Organization* (FAO) mostram que, no período de 1990 a 2000, ocorreu um crescimento global da carcinicultura de água doce o qual correspondeu a um aumento de 500%. Entre os anos de 1996 a 2000, o aumento da produção mundial passou de 55.000 t para 118.000 t, determinando aumento de 115% em quatro anos (Valenti, 2002).

Com relação ao Brasil, os dados demonstram oscilações em torno de 500 t/ano (FAO 2002). O Grupo de Trabalho em Camarão de Água Doce (GTCAD), estimou cerca de 400 t em 2001 (Valenti, 2002). É necessário que técnicos, extensionistas e produtores, assimilem as novas tecnologias disponíveis, para que a atividade volte a crescer no Brasil, seguindo a tendência internacional.

Dentre as novas técnicas de cultivo destaca-se o policultivo com peixes. A introdução do camarão na tilapicultura, por exemplo, aumenta significativamente a rentabilidade da produção devido à diminuição dos custos (Valenti, 2000).

Dentre os camarões de água doce mais explorados destacam-se as numerosas espécies do gênero *Macrobrachium* da família *Palaemonidae*. Estes são caracterizados por apresentarem um grande interesse comercial, tanto pelo cultivo quanto pela exploração natural (Odatez-Collart e Moreira, 1993).

A maioria da carcinicultura de água doce praticada no mundo está voltada principalmente para o *Macrobrachium rosenbergii*. Este fato inspira preocupação, pois o surgimento de problemas com essa espécie pode causar um colapso mundial na atividade. Tendo esta perspectiva, alguns países estão investindo na produção de espécies nativas como é o caso da China, que em 2000 produziu cerca de 100.000 t de *Macrobrachium nipponense* (Valenti, 2002).

O Brasil apresenta uma fauna rica em camarões de água doce. Porém, três espécies destacam-se por apresentarem grande potencial para o cultivo: *M. acanthurus*, *M. carcinus* e *M. amazonicum* (Valenti, 1993).

O *M. amazonicum*, por ser uma espécie rústica e dócil, apresenta grande potencial para a aqüicultura. Ocorre em quase todo o território nacional e, portanto, seu cultivo não oferece riscos de introdução de espécies exóticas na natureza, por escape de viveiros de cultivo. Este camarão é muito abundante na região amazônica e muito aceito por consumidores de todas as classes sociais (Moraes-Riodades e Valenti, 1999). Apresenta período larval relativamente curto, quando comparado à espécie *Macrobrachium rosenbergii*. Além disso, os indivíduos adultos apresentam um aproveitamento maior de carcaça por possuir abdômen maior que o cefalotórax

(Romero, 1982). Sua carne apresenta textura consistente e sabor mais acentuado, o que promove melhor aceitação nos mercados consumidores (Moraes-Riodades et al., 1999).

Com o intuito de ampliar a produção da espécie *M. amazonicum*, muitos estudos vem sendo realizados, principalmente em relação à ecologia e biologia pesqueira de populações naturais (Odinetz-Collart, 1987; 1991a; 1991b; Odinetz-Collart e Moreira, 1993; Odinetz-Collart e Magalhães, 1994). Foram investigados outros aspectos, tais como a fecundidade (Lobão et al., 1986; Scaico, 1992; Odinetz-Collart e Rabelo, 1996), o desenvolvimento gonadal (Bragagnoli e Grotta, 1995), o desenvolvimento larval (Guest, 1979; Romero, 1982; Barreto e Soares, 1982; Magalhães, 1985; Lobão et al., 1987; Rojas et al., 1990), e a alimentação e manutenção dos animais em laboratório (Alves, 1986; Roverso et al., 1990; Lobão et al., 1994).

Nos últimos anos, outros fatores vêm sendo investigados sobre a biologia do camarão *M. amazonicum*, como por exemplo: testes de laboratório sobre técnicas de estocagem, alimentação, manutenção e crescimento de pós-larvas (Barreto e Soares, 1982; Coelho et al., 1981; 1982a; 1982b; Lobão et al., 1987; 1994; 1996; Rojas et al., 1990; Roverso et al., 1990) e adultos (Alves, 1986).

Portanto, a avaliação do potencial das espécies de crustáceos para a produção, assim como, os aprimoramentos de técnicas que melhorem seu cultivo estão embasados na ampliação dos conhecimentos sobre ecologia e biologia das espécies. Estes dados referem-se a estudos envolvendo o crescimento e a reprodução dos animais.

Os Crustáceos são classificados a partir das medidas de tamanho do corpo, peso e fecundidade. Enquanto o crescimento pode ser determinado com um aumento no comprimento total do corpo, comprimento da carapaça, comprimento do télson e peso seco ou fresco, o potencial reprodutivo é avaliado a partir da fecundidade (Anger e Moreira, 1998).

A fisiologia reprodutiva dos crustáceos é geralmente influenciada por um contínuo crescimento somático e permite mudas periódicas nos adultos. O resultado desta relação entre muda e reprodução é mais evidente nas fêmeas. Tanto a vitelogênese quanto a secreção de uma nova cutícula durante a muda, podem afetar a fisiologia do organismo gerando competitividade na utilização do material de reserva estocado no hepatopâncreas. Certamente, a interação hormonal apresenta

papel significativo na regulação do suprimento nutricional durante os processos de muda e vitelogênese (Subramoniam, 2000). Isto pode ser comprovado a partir do retardamento do crescimento das fêmeas após atingirem a maturidade sexual. Nesta fase a energia passa a ser utilizada para a produção e incubação dos ovos (Hartnoll, 1982).

A maturação gonadal e ovoposição, em várias espécies de crustáceos decápodos, não é controlada somente por mecanismos endógenos, estando também relacionada às condições favoráveis do meio ambiente. Isto fica comprovado nas espécies com reprodução periódica, que sob condições controladas em laboratório, passa a apresentar reprodução contínua (Setz e Buckup, 1977; Carvalho, 1978; Bond e Buckup, 1983; Odinetz-Collart, 1991a; Rao, 1991). Portanto, o período reprodutivo pode variar em função da latitude, principalmente entre as populações das regiões temperadas e tropicais. Com isso, a reprodução pode apresentar a mesma intensidade durante o ano todo, ser periódica, ou ainda apresentar picos de maior intensidade em determinada época do ano (Santos, 1978).

Com relação ainda às características reprodutivas faz-se necessário o conhecimento morfológico e classificação do desenvolvimento gonadal proporcionando aplicação prática tanto no manejo de reprodutores, como em larviculturas de camarão (Sagi e Ra'Anan, 1985).

Alguns estudos morfológicos foram realizados em *M. acanthurus*, no que se refere à descrição dos estágios ovarianos. Carvalho e Pereira (1981) apresentaram a descrição da maturação gonadal nas fêmeas. Estes autores descreveram quatro estágios de maturação nos ovários de *M. acanthurus*, baseado nas características macro e microscópicas. O estágio I ou imaturo, estágio II ou em maturação compreendendo três sub-estágios, estágio III ou maduro e estágio IV ou pós-eliminação total compreendendo dois sub-estágios. Os sub-estágios só puderam ser estabelecidos a partir de análises das características histológicas. Chaves e Magalhães (1993) compararam os processos de desenvolvimento ovocitário entre o *M. amazonicum* e *M. acanthurus* e, constataram que a espécie *M. amazonicum* é semelhante ao *M. acanthurus* no que diz respeito à multiplicação das células foliculares, devido ao aumento do volume ovocitário e proliferação do tecido conjuntivo frouxo, provavelmente relacionados aos mecanismos de restauração da gônada, processo este também reportado por Carvalho e Pereira (1981).

Verdi (1996) estudou as mudanças histológicas que ocorrem no ovário do camarão de água doce *Macrobrachium borelli*, e constatou que a época de reprodução abrange o período de outubro a janeiro, e que os ovários são do tipo senerônico, ou seja, uma só camada de ovócitos se desenvolve em cada ciclo, enquanto as outras permanecem em estado latente até que ocorra a desova das camadas anteriores, o que indica o início de um novo ciclo. Este fato sugere desovas sucessivas a partir da recuperação do período pós-desova, mas não uma segunda desova no mesmo período reprodutivo.

Chang e Shih (1995) analisaram o ciclo reprodutivo do desenvolvimento ovariano em *M. rosenbergii* e constataram cinco estágios reprodutivos, sendo os estágios II, III e IV, os de maior crescimento ovariano, confirmado pelos índices gonadossomático (IGS). O diâmetro dos ovócitos também foi analisado e demonstrou aumento correspondente ao IGS. A classificação do desenvolvimento ovariano foi baseada em características externas correlacionadas aos tamanhos de ovócitos, crescimento ovariano e histologia ovariana. Os ovários foram preparados para muda e desova após atingirem o estágio V.

Em comparação a outros crustáceos, vesículas de gordura ou glóbulos de lipídeos são claramente observados em ovócitos vitelogênicos de *M. rosenbergii*. Este fato é similar ao encontrado em *Pandalu kessleri*, mas diferente do observado em *Peneaus monodon*. Nenhuma haste cortical foi observada na periferia do ovócito maduro em *Macrobrachium*, ao contrário do que tem se mostrado em ovócitos de *P. monodon*. Estudos de O'Donovan et al. (1984) em *P. japonicus* sugerem que a vitelogênese é realizada nas células foliculares, pois estas células rodeiam os ovócitos em estágios iniciais de vitelogênese, e apresentam tamanho que pode refletir sua habilidade biosintética. Em *M. rosenbergii* os estágios I e V de desenvolvimento ovariano apresentaram menores concentrações de vitelogenina na hemolinfa, em comparação aos demais estágios (II, III e IV) que apresentaram níveis mais elevados (Chang e Shih, 1995).

A vitelogênese é um período importante no ciclo reprodutivo de fêmeas de crustáceos, caracterizado por massivo aumento da concentração de vitelogenina na hemolinfa e conseqüente desenvolvimento ovariano (Wallace et al., 1967; Kerr, 1969; Fyffe e O'Connor, 1974; Meusy, 1980; Charniaux-Cotton, 1985; Lee e Puppione, 1988; Nelson et al., 1988). A maior parte do vitelo, que se acumula nos ovários é originado da vitelogenina captada da hemolinfa, ao passo que uma outra parte é produzida pelos

ovários (Kerr, 1969; Fyffe e O'Connor, 1974; Eastman-Reks e Fingerman, 1985; Pateraki e Stratakis, 2000).

Desta forma faz-se necessários estudos que auxiliem na definição de nutrientes específicos, direcionados para o gasto de energia durante a maturação gonadal, vitelogênese, embriogênese e formação de vitelo da larva.

As estimativas iniciais das necessidades nutricionais dos reprodutores podem ser observadas a partir de análise das mudanças na composição bioquímica das gônadas e hepatopâncreas, nos diferentes estágios de maturação (Anilkumar, 1980; Read e Caulton, 1980; Galois, 1984; Vincent et al., 1988; Castille e Lawrence, 1989; Millamena e Pascual, 1990; Chung et al., 1992).

Os lipídeos apresentam importante papel nos processos reprodutivos dos animais em geral. A glândula do intestino médio, o hepatopâncreas, é o maior órgão de absorção e estocagem de lipídeos contidos na alimentação. Durante a maturação do ovário, os estoques de lipídeos neutros e fosfolipídeos estocados no hepatopâncreas são quebrados e transportados para o ovário, que se torna um centro adicional de metabolismo de lipídeos (Harrison, 2000). Porém, muitos estudos (Castille e Lawrence, 1989; Teshima et al., 1988) discordam desta hipótese assumindo que a origem dos lipídeos encontrados nos ovários não é totalmente reconhecida. Teshima et al. (1986a; 1986b) demonstraram que fêmeas de camarões marinhos, duplicam seu consumo alimentar indicando que os lipídeos acumulados nos ovários são originados do alimento. Não se sabe ao certo como esses lipídeos são transportados aos ovários, se é por via de junção metabólica com o hepatopâncreas ou é diretamente captado do intestino (Ravid et al., 1999).

Apesar destas controvérsias pode-se afirmar que, tanto o desenvolvimento gonadal quanto à fecundidade são afetados por nutrientes essenciais, especialmente em desovas contínuas decorrentes de um curto período de tempo entre uma desova e outra (Izquierdo et al., 2001).

Dentre os vários grupos lipídicos, os ácidos graxos apresentam grande interesse nutricional e são caracterizados por apresentarem um grupo carbônico no final da sua primeira cadeia alifática e um grupo metil na posição oposta, podendo ser saturado (com duplas ligações nas cadeias) ou insaturado (com duplas ligações) (Vance e Vance, 1985). Em geral as duplas ligações são introduzidas nos ácidos graxos com seis ou oito átomos de carbono. Deste modo, os ácidos graxos insaturados provêm dos saturados através da introdução de duplas ligações

determinadas por enzimas, as desaturases, que são distribuídas diferentemente entre animais e plantas (Vance e Vance, 1985).

Os ácidos graxos altamente poliinsaturados (PUFA), também sintetizados pelas plantas, são essenciais para os animais, pois atuam na regularização funcional da membrana celular, além de agir como importante precursor hormonal. Os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) são encontrados principalmente na carne de peixes marinhos. Estudos com esses ácidos graxos avaliam a eficiência de conversão alimentar no crescimento e reprodução de animais marinhos ou de água doce. Os organismos larvais são mais dependentes que os adultos de uma dieta rica em HUFA, pois sua capacidade de conversão de ácidos graxos é muito variável durante todo o ciclo de vida, podendo não ser satisfatória para a taxa de crescimento somático (Brett et al., 1997).

Os papéis dos ácidos graxos na fisiologia animal são variados. Ácidos graxos monoinsaturados, com seu alto conteúdo calórico são principalmente usados como fonte ou estoque de energia. Já os ácidos graxos altamente insaturados são usados na manutenção da integridade da membrana celular e na produção dos eicosanoides. Os eicosanoides constituem uma classe lipídica associada aos processos fisiológicos hormonais. Os PUFAs afetam a fluidez da membrana devido a estrutura de suas cadeias apresentar muitos pontos de fusão com moléculas vizinhas, quando comparados com outros biolipídeos. Estudos demonstram que dietas, naturais ou artificiais, contendo HUFA influenciam na sobrevivência, crescimento, conversão alimentar, fecundidade, fertilidade, muda e a tolerância ao estresse osmótico em várias espécies de crustáceos (Kanazawa et al., 1978; 1979a; 1979b; 1979c; D'Abramo e Sheen, 1993; Xu et al., 1993; 1994a; 1994b; Rees et al., 1994).

O sucesso dos PUFA na maturação gonadal foi demonstrado a partir da qualidade dos lipídeos presentes na dieta durante a fase de vitelogênese, e sua conseqüente influência na composição dos lipídeos dos ovos (Middleditch et al., 1979; 1980; Galois, 1984; Teshima et al., 1988; Xu et al., 1992; 1994a).

Xu et al. (1992; 1994a) examinaram o efeito da composição de lipídeos presentes na dieta sobre a composição química dos ovos, os índices de fecundidade e a taxa de eclosão de *Penaeus chinensis*. Estes autores observaram uma correlação positiva entre o ácido graxo 20:5n-3 contido nos ovócitos, e o 22:6n-3 contido nos ovos eclodidos, sugerindo, desta forma, a importância da inclusão dos

HUFAs na dieta alimentar. Alava et al. (1993) demonstraram que dietas deficientes em outros fosfolídeos, inclusive o HUFA, retardaram o desenvolvimento ovocitário em *P. japonicus*. Em diversas espécies de peneídeos selvagens tem sido detectado nos ovários altos níveis de ácido aracdônico (20:4n-6) e 20:5n-6, demonstrando a necessidade da presença destes ácidos graxos na dieta alimentar, tendo em vista que são precursores na síntese de prostaglandinas, as quais apresentam muitas funções hormonais nestes indivíduos (Harrison, 2000).

Atualmente trabalhos vêm demonstrando que o uso de dietas balanceadas podem influenciar na performance reprodutiva de crustáceos em cativeiro (Alves, 1986; Cavalli et al., 1999; 2000).

Alves (1986) verificou maior eficiência no crescimento de camarões *M. rosenbergii* alimentados com ração preparada à base de algas, obtidas de plâncton, quando comparadas com aqueles alimentados com ração convencional para aves. Diferente dos estudos realizados por Alves (1986), trabalhos com *M. rosenbergii* demonstraram que dietas contendo altos níveis de ácidos graxos, HUFA (n-3) e ácido linoleico (PUFA-18:2n-6), promoveram não somente a melhora na produção de ovos, como aumentaram a tolerância das larvas com oito dias, ao estresse de amônia (Cavalli et al., 1999).

Também foram realizados estudos referentes ao aumento dos níveis de fosfolídeos em dietas de crustáceos (Cavalli et al., 2000), visto que este composto é uma fração significativa em todas as membranas biológicas e apresentam importante papel no transporte de lípidos, especialmente o colesterol. Considerando que, de uma forma geral, os crustáceos têm habilidade limitada para biossíntese de fosfolídeos, algumas espécies necessitam deste elemento na dieta para o crescimento e sobrevivência. No entanto o aumento de fosfolídeos na dieta não revelou mudança significativa na fecundidade, tamanho e viabilidade dos ovos de *M. rosenbergii* (Cavalli et al., 2000).

As análises dos parâmetros morfométricos são importantes para caracterizar o potencial dos reprodutores. Anger e Moreira (1998) analisaram diversas espécies como *M. acanthurus*, *M. olfersii* e *M. carcinus*, além de alguns crustáceos marinhos. A análise dos dados de comprimento do corpo, da carapaça e do télson, assim como o peso do animal e sua fecundidade, determinaram que entre *M. acanthururs* e *M. olfersii*, os machos são maiores que as fêmeas. Além disso, um maior número de

fêmeas de *M. acanthurus* apresentam menor comprimento de maturidade quando comparadas a outras espécies estudadas.

Em relação à espécie nativa *M. amazonicum*, com especial ênfase à fecundidade, tamanho e coloração dos ovos, os estudos realizados compreenderam populações de diferentes localidades geográficas (Guest, 1979; Vasquez Leon, 1980; Gamba, 1984; Vega-Perez, 1984; Magalhães, 1985; Lobão et al., 1986; Scaico, 1992; Odinetz-Collart e Rabelo, 1996).

Scaico (1992), analisando a fecundidade e a fertilidade de *M. amazonicum*, presentes em açudes do nordeste brasileiro, constatou que tanto a taxa de eclosão quanto a fertilidade e fecundidade aumentam de acordo com o tamanho dos animais. Assim, animais maiores possuem vantagem quando os valores reprodutivos são considerados.

Estudos envolvendo a variação do tamanho dos ovos de *M. amazonicum* isolados geograficamente, demonstraram que quanto maior fosse a distância do litoral, maior era o tamanho dos ovos encontrados nestes animais. Este fato sugere uma variação intra-específica, que promove um processo de continentalização semelhante a outras espécies do gênero *Macrobrachium* (Odinetz Collart e Rabelo, 1996).

O tamanho das fêmeas pode ser considerado quando os animais são selecionados para propostas reprodutivas. Em geral fêmeas de *M. rosenbergii* tornam-se reprodutivamente maduras com peso variando de 15 a 20g, porém encontrou-se fêmeas menores entre 6,5 a 8 g. Algumas larviculturas preferem fêmeas maiores para produzir apenas o número de ovos necessário (New e Valenti, 2000).

Selecionar reprodutores jovens no ciclo de produção sugere um aumento na taxa de crescimento de futuras progênies. O controle da idade dos reprodutores é dificultado quando o estoque é contínuo e os tanques de larvicultura são muito utilizados (New e Valenti, 2000). New (1995) demonstrou que as fazendas podem resistir às modificações de manejo, pois fêmeas maduras pequenas produzem um número menor de larvas, desta forma um maior número de fêmeas é exigido para manter a produção. Entretanto fêmeas menores apresentam grande desempenho na produção de ovos sobre curto período de tempo (Cavalli, 1998). Devido a sua alta frequência de mudas, estas fêmeas menores ficam um maior número de vezes ovadas e conseqüentemente desovam um maior número de ovos. O uso de fêmeas

jovens pode reduzir os custos e tempo envolvidos no povoamento de tanques de reprodutores. Embora um pequeno número de fazendas possua tanques de reprodutores, selecionar fêmeas jovens e em desenvolvimento pode apresentar melhora no desempenho reprodutivo dos animais. Este desempenho pode ser ainda influenciado posteriormente se utilizado dietas modificados para animais em maturação (Daniels et al., 2000). Juntamente com a seleção das fêmeas, os machos devem ser selecionados para que ocorra inseminação adequada das fêmeas.

Estudos envolvendo diferentes composições de dietas relacionadas ao desempenho reprodutivo não foram encontrados para a espécie *M. amazonicum*. Visto que um dos fatores limitantes para o uso desta espécie em larviculturas de produção intensiva é o baixo número de ovos por desova, consideramos importante a realização de constatações semelhante às de Cavalli et al. (1999). Estes autores observaram melhora na produção de ovos de fêmeas de *M. rosenbergii* submetidas a dietas com diferentes níveis de ácidos graxos (HUFA e PUFA).

Da mesma forma, não foram encontrados trabalhos que analisem as características morfológicas dos ovários diante de possíveis alterações obtidas a partir das dietas, em nenhuma espécie de camarão de água doce. Assim, faz-se necessário o estudo na espécie nativa brasileira, a fim de gerar informações que possam subsidiar tentativas de melhora na produção, seja através dos sistemas de cultivo comercial, ou através de exploração racional dos estoques naturais, evitando-se os riscos do seu esgotamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- Alava, V.R., A. Kanazawa, S.I. Teshima and S. Koshio. 1993. Effect of dietary phospholipids and n-3 highly unsaturated fatty acids on ovarian development of Kumura prawns. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Nippon Suisan Gakkaishi) 59:345-351.
- Alves, M.I.M. 1986. Alimentação de *Macrobrachium amazonicum* (HELLER) em condições de laboratório. Ciência Agronômica, Fortaleza.17(2):19-23.
- Anger, K., and G.S. Moreira. 1998. Morphometric and reproductive traits of tropical caridean shrimps. Journal of Crustacean Biology.18(4):823-838.
- Anilkumar, G. 1980. Reproductive physiology of female crustaceans. Ph.D. Dissertation. Calicut University India. In Crustacean Nutrition.
- Bailey, C. 1997. Aquaculture and basic human needs. World Aquaculture, Baton Rouge 28(3):28-31.
- Barreto, A. and A.M.C.Souares. 1982. Produção de pós-larvas de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Decapoda: Palaemonidae), sob condições controladas de laboratório. Rev. Brasil. Zool.1(1):51-53.
- Bond, G. and L. Buckup. 1983. O cultivo de *Macrobrachium borelli* (Nobili, 1896) e *Macrobrachium potiuna* (Müller, 1880) em laboratório. (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). Rev. Brasil. Bio. 43(2):177-190.
- Bragagnoli, G. and M. Grotta, 1995. Reprodução do camarão de água doce *M. Amazonicum* (1862) nos açudes públicos do nordeste brasileiro. Revista Nordestina de Biologia 10(2):141-154.
- Brett, M.T. and D.C. Müller-Navarra, 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. Freshwater Biology 38:483-499.
- Carvalho, H.A and M.C. Pereira. 1981. Descrição dos estádios ovarianos de *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN,1836) (CRUSTACEA, PALAEMONIDAE) durante o ciclo reprodutivo. Ciência e Cultura 33(10):1353-1359.
- Carvalho, H.A. 1978. Ciclo sexual de *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN, 1836) (CRUSTACEA, DECAPODA): relações com fatores abióticos e ciclo de intermuda. Tese de doutorado Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências,pp199.
- Castille, F. and A.L. Lawrence. 1989. The relationship between maturation and biochemical composition of the gonads and digestive glands of the shrimps *Penaeus aztecus* Ives and *Penaeus setiferus* (L.). Journal of Crustacean Biology 9, 202-211.
- Cavalli, R.O., G. Menchaert, P. Lavens and P. Sorgeloos. 2000. Maturation performance, offspring quality and lipid composition of *Macrobrachium rosenbergii* females fed increasing level of dietary phospholipids. Aquaculture 8:41-58.
- Cavalli, R.O., P. Lavens and P. Sorgeloos. 1999. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. Aquaculture 179:387-402.
- Cavalli, R.O., P. Lavens, and P. Sorgeloos. 1998. Reproduction of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fatty diets with different fatty acid composition. Aquaculture 179:387-402.

- Chang, C-F. and T-W. Shih. 1995. Productive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate Reproduction and Development* 27(1):11-20.
- Charniaux-Cotton, H. 1985. Vitellogenesis and its control in malacostracan Crustacean. *Zool.* 25: 197-206
- Chaves, P.T.C. and C.O. Magalhães. 1993. O desenvolvimento ovocitário em *Macrobrachium amazonicum* (Heller,1862)(Crustacea: Decapoda: Palaemonidae), camarão dulcícula da região amazônica. *Acta Amazonica* 23:17-23.
- Chung, C. K., K.H. Chu, and K.H. Yung. 1992. Changes in lipid composition of the shrimp, *Metapenaeus ensis*, during ovarian maturation. Third Asian Fisheries Forum, Asian Fisheries society, october 26-30.
- Coelho, P.A., M. Ramos-Porto, A.V. Barreto and V.E. Costa. 1982a. Crescimento em viveiro de cultivo do camarão canela *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae). *Rev. Brasil.Zool.* 1(1):45-49.
- Coelho, P.A., M. Ramos-Porto, and C.M.A. Soares. 1982b Biologia e cultivo de camarão de água doce. Centro de Tecnologia do Dept<sup>o</sup> de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Série Aquacultura 1:53.
- Coelho, P.A.; M. Ramos-Porto, and C.M.A. Soares. 1981. Cultivo de camarões do gênero *Macrobrachium* Bate (Decapoda, Palaemonidae) no Brasil. EMPARN, Bol. Tec., Natal 6:1-66
- D'Abramo, L.R. and S.S. Sheen. 1993 Polyunsaturated fatty acid nutrition in juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 115:63-86.
- Daniels W. H.; R.O. Cavalli and R.P. Smullen. 2000. Broodstock management. Pages 41-51 In: M. B. New, and W. C. Valenti, editors. *Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii.*, Blackwell Science, Osney Mead, Oxford, England.
- Eastman-Reks, S.B. and N. Fingerman. 1985. In vitro synthesis of vitellin by the ovary of fiddler crab *Uka pugilator*. *J. Exp. Zool.* 233:111-116.
- FAO 2002(Food and Agriculture Organization of the United Nation) Yearbook of fishery statistics: summary tables. FAO, Roma (via internet, <http://www.fao.org>).
- Fyffe, W.E. and J.D. O'Connor. 1974. Characterization and quantification of a crustacean lipovitellin. *Comp. Biochem. Physiol.* 48b:389-399.
- Galois, R.G. 1984. Variations de la composition lipidique tissulaire au cours de la vitellogenese chez la crevette *Penaeus idicus* Milne Edwards. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 84:155-166.
- Gamba, A.L. 1984. Different egg-associated and larval development characteristics of *Macrobrachium jelskii* and *Macrobrachium amazonicum* (Arthropoda: Crustacea) in venezuelan continental lagoon. *Inter. J. Inver. Repr. Devel.* 7:135-142.

- Guest, W.C. 1979. Laboratory life history of the palaemonidae shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Decapoda: Palaemonidae). *Crustaceana* 37(32):141-152.
- Harrison, K.E. 2000. Broodstock Nutrition and Maturation Diets. Pages 391-401. In: M. B. New, and W. C. Valenti, editors. *Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii.*, Blackwell Science, Osney Mead, Oxford, England.
- Hartnoll, R. 1982. Growth, in the *Biology of Crustacea*, vol. 2: Embryology, Morphology and Genetics, (Ed. By L.G. Abele)pp 111-196 Academic Press, New York.
- Izquierdo, M.S., H. Fernández-Palacios, and A.G.J. Tacom. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance on fish. *Aquaculture* 197:25-42.
- Kanazawa, A., S. Teshima and M. Endo. 1979a. Requirements of prawn *Penaeus japonicus* for essential fatty acids. *Memoirs of the Faculty of fisheries, Kagoshima University.* 28:27-33.
- Kanazawa, A., S.I. Teshima, K. Ono and K. Chalayondeja. 1979b. Biosynthesis of the fatty acids from acetat in the prawns, *Penaeus monodon* and *Penaeus merguensis*. *Memoirs of the Faculty of fisheries, Kagoshima University.* 28:21-26.
- Kanazawa, A., S. Teshima and S. Tokiwa. 1979c. Biosynthesis of fatty acids from palmitic acid in the prawn, *Penaeus japonicus*. *Memoirs of the Faculty of fisheries, Kagoshima University.* 28:17-20.
- Kanazawa, A., S. Teshima, M. Endo and M. Kayama. 1978. Effects of eicosapentaenoic acid on growth and fatty acids composition of the prawn, *Penaeus japonicus*. *Memoirs of the Faculty of fisheries, Kagoshima University.* 27:35-40.
- Kerr, M.S., 1969. The hemolymph proteins of the blue crab, *Callinectes sapidus*. II. A lipoprotein serologically identical to oocyte lipovitellin. *Dev. Biol.* 20: 1-17.
- Lee, R.F., D.L. Puppione. 1988. Lipoproteins I and II from the hemolymph of the bleu crab *Callinectes sapidus*: Lipoprotein II associated with vitellogenesis. *J. Exp. Zool.* 248:278-289.
- Lobão, V.L., E.A. Rosveso, M. Lace, and E. Hortencio. 1996. Ciclo de muda e crescimento de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) *Macrobrachium rosenbergii* (de man, 1879)(Decapoda: Palaemonidae). *Bol. Inst. Pesca* 23:31-45.
- Lobão, V.L., E.A. Roverso and J.V. Lombardi. 1994. Influência da densidade inicial de estocagem no desenvolvimento de *Macrobrachium rosenbergii* (de man, 1879) e *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Decapoda: Palaemonidae) em laboratório. *Bol. Inst. Pesca* 21:11-17.
- Lobão, V.L., N.E.T. Rojas, H.P. Barros, M. Lace, M.T. Horikawa and L.A.B.M Lula.1987. Determinação da densidade adequada para larvicultura de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Crustacea, Decapoda: Palaemonidae). *Bol. Inst. Pesca* 14:45-49.
- Lobão, V.L., N.E.T. Rojas, M. Lace and M.F.S. Magalhães. 1986. Estudo populacional de *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897) (Decapoda, Palaemonidae) do Rio Buava – SP. *Bol. Inst. Pesca* 2(13):37-43.

- Magalhães, C. 1985. Desenvolvimento larval obtido em laboratório de palemonídeos da Região Amazônica: I *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1962) (Crustacea, Decapoda) Amazoniana 9(2):247-274.
- Meusy, J.J. 1980. Vitellogenin, the extraovarian precursor of the protein yolk in Crustacean: A review . *Reprod. Nutr. Dev.* 20:1-21.
- Middleditch, B.S., S.R. Missler, H.H. Hines, J.P. Mcvey, A. Brown, D.G. Ward, and A.L. Lawrence. 1980. Metabolic profiles of penaeid shrimp: dietary lipids and ovary maturation. *J. Chromatogr.* 195:359-368.
- Middleditch, B.S., S.R. Missler, J.P. Ward-Mcvey, A. Brown, and A.L. Lawrence. 1979. Maturation of penaeid shrimp: dietary fatty acids. *Proceedings of the world mariculture society* 10:472-429.
- Millamena, O.M. and F.P. Pascual. 1990. Tissue lipid content and fatty acid composition of *Peneaus monodon fabricus* broodstock from the wild . *Journal of the world Aquaculture society.* 21:116-161.
- Moraes-Riodades, P.M.C. and W.C. Valenti. 1999. Carcinicultura de água doce como promotora de desenvolvimento sustentável na Amazônia. Page 160. In: Encontro de Biólogos do CRB-1,v.10, São Carlos. Resumos... São Carlos, CRB.
- Moraes-Riodades, P.M.C., W.C. Valenti, A.S.L. Peralta, and M.D.L. Amorim.1999. Carcinicultura de água doce no Estado do Pará: situação atual e perspectivas In: Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 9 e Congresso Latino-Americano de Engenharia de Pesca, v.1 Recife. Anais... Recife, AEP-PE, FAEP-BR. (no prelo).
- Nelson, K., B. Heyer and E. Johnson. 1988. Photoperiod-induced changes in female lobsters (*Homarus americanus*). *Comparative Biochemistry and Physiology.* 90b: 809-821.
- New, M. B. 2000. History and global status of freshwater prawn farming In: New, M. B. & Valenti, W. C. (ed.) *Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii*. Oxford, Blackwell Science 1-11,
- New, M.B. 1995. Status of freshwater prawn farming: A review. *Aquaculture research* 26:1-54.
- New, M.B., and W.C. Valenti. 2000. *Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science, Osney Mead, Oxford, England.
- New, M.B.; L.R. D'Abramo; W.C. Valenti and S. Singholka. 2000. Sustainability of Freshwater Prawn Culture Pages 429-434. In: M. B. New, and W. C. Valenti, editors. *Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii*., Blackwell Science, Osney Mead, Oxford, England.
- Odinetz-Collart, O. 1987. La pêche crevettière de *Macrobrachium amazonicum* (Palaemonidae) dans le Bas- Tocantins, après la fermeture du barrage de Tucuruí (Brésil). *Rev. Hydrobiol. Trop.* 20(2):131-144.

- Odinetz-Collart, O. 1991a. Strategies de reproduction de *Macrobrachium amazonicum* en America central ( Decapoda, Caridea, Palaemonidae). J. Crust. Biol.14(2):280-288.
- Odinetz-Collart, O. 1991b. Tucuruí dam and the populations of the prawn *Macrobrachium amazonicum* in the lower Tocantins (Pa-Brazil): a four year study. Verh. Internat. Verein. Limnol.,25:2460-2467.
- Odinetz-Collart, O. and C. Magalhães. 1994. Ecological constraints and life history strategies of Palaemonid prawns in Amazonia. Verh. Internat. Verein. Limnol. 25:2460-2467.
- Odinetz-Collart, O. and H. Rabelo. 1996. Variation in egg size of the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). J. Crust. Biol. 16(4):684-688.
- Odinetz-Collart, O. and L.C. Moreira. 1993. Potencial pesqueiro do *Macrobrachium amazonicum* na Amazonia Central ( Ilha Carreiro): variação da abundância e do comprimento. Amazoniana .XII(3/4):399-413.
- O'Donovan, P., M. Abraham and D. Cohen. 1984. The ovarian cycle during the intermoult in ovigerous *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture 36:347-358.
- Ostrensky, A.; J.R. Borghetti and M. Pedini. 2000. Situação atual da aquicultura brasileira e mundial. Páginas: 353-381. In: Valenti, W. C. editor Aquicultura no Brasil: Bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília-DF CNPq/ Ministério da Ciência e Tecnologia. Brasil.
- Pateraki, L.E. and E. Stratakis. 2000. Synthesis and organization of vitellogenin and vitellin molecules from the land crab *Potamon potamios*. Comp. Biochem. and Physiol. 125:53-61.
- Rao, K.M. 1991. Reproductive biology of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) from Lake Kolleru ( Andhra Pradesh). Ind. J. Animal Sc. 61(7):780-787.
- Ravid, T., A. Tietz, M. Khayat, E. Boehm, R. Michelis, and E. Lubzens. 1999. Lipid accumulation in the ovaries of a marine shrimp *Penaeus semisulcatus* (De haan). The J. Exp. Bio. 202:1819-1829.
- Read, G.H.L. and M.S. Caulton. 1980. Changes in mass and chemical composition during the molt cycle and ovarian development in immature and mature *Peneaus indicus* milne Edwards. Comparative biochemistry and Physiology 66A:431-437.
- Rees, J.F., K. Cure, S. Piyatiratitivorakakul, P. Sorgleelos and P. Menasveta, 1994. Highly Unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* post larvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment. Aquaculture, 122:193-207.
- Rojas, N.E.T., V.L. Lobão and H.P. Barros. 1990. Métodos de manutenção de larvas de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Crustacea, Decapoda: Palaemonidae). Bol. Inst. Pesca 17:15-26.
- Romero, M.E. 1982. Preliminary observations on potential of culture of *Macrobrachium amazonicum* in Venezuela. Pages 411-416. In: NEW, M. B. (eds) Giant Prawn Farming. Amsterdam, Elsevier.

- Rovero, E.A., V.L. Lobão and M.T. Hokrikawa. 1990. Arraçoamento intensivo de pós-larvas de *Macrobrachium amazonicum* (HELLER,1862) e *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN, 1868) (Decapoda, Palaemonidae) até a fase juvenil. Bol. Inst. Pesca, São Paulo 17:91-98.
- Sagi, A. and Z. Ra'Anan. 1985. Rapid identification of reproductive stat and the receptive period of female in pond populations of *Macrobrachium rosenbergii*- a new technique. Aquaculture 48:361-367.
- Santos, E.P. 1978. Dinâmica de populações aplicada à piscicultura. São Paulo, HUCITEC/EDUSP, pp.130.
- Scaico, M.A. 1992. Fecundidade e fertilidade de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda) de um açude do Nordeste brasileiro. Bol. Inst. Pesca 19:89-96.
- Seltz, E.Z.F. and L.A. Buckup. 1977. Duração da intermuda e o comportamento reprodutivo de *Macrobrachium borelli* (nobili, 1896) e *Palaemonetes (Palaemonetes) argentinus* NOBILI, 1901 no cultivo em laboratório (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). Rev. Brasil. Biol. 37(4):899-906.
- Subramoniam, T. 2000. Crustacean ecdysteroids Pages 135-156. In reproduction and embryogenesis-Review. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 125.
- Teshima, S., A. Kanazawa, and Y. Kakuta. 1986b. Role of dietary phospholipids in the transport of [ $C^{14}$ ] Cholesterol in the prawn. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish 52:719-723.
- Teshima, S., A. Kanazawa, and Y. Kakuta. 1986a. Role of dietary phospholipids in the transport of [ $C^{14}$ ] Tripalmitin in the prawn. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish 52:519-524.
- Teshima, S., A. Kanazawa, K. Horinouche and S. Koshio. 1988. Lipid metabolism in destalked prawn, *Peneaus japonicus* induced maturation and transfer of lipid reserves to the ovaries. Nippon Suisan Gakkaishi 54:1123-1129.
- Valenti, W.C. 1993. Freshwater prawn culture in Brazil. World Aquaculture, Baton Rouge 24(1):29-34.
- Valenti, W.C. 1996. Criação de camarão em águas interiores. FUNEP, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.
- Valenti, W.C. 2000. A modernização da carcinicultura de água doce. Boletim Informativo do Centro de Aquicultura da UNESP n. 20.
- Valenti, W.C. 2002. Situação atual, perspectiva e novas tecnologias para produção de camarões de água doce. In. Simpósio Brasileiro de Aqüicultura,12, Goiânia-GO. Anais ...SIMBRAQ 99-106.
- Vance, D.E. and J.E. Vance. 1985. Biochemistry of lipids and membranes. Benjamin Cumming.
- Vásquez León, E. 1980. Contribución al conocimiento de la biología del camarón de río *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1962) (Decapoda, Palaemonidae) em función de su potencial de cultivo. Memória 113:139-157.
- Vega-Pérez, L.A. 1984. Desenvolvimento larval de *Macrobrachium heterochrus* (Wiegmann,1836), *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1962) e *Macrobrachium brasiliense* (Heller, 1868)

(CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE), em laboratório. Tese de doutorado Universidade de São Paulo, Instituto de Oceanog. 277.

Verdi, A.C. 1996. Ciclo anual de reproducción del camarón dulceacuícola *Macrobrachium borelli* NOBILLI, 1896) (Crustacea, Caridea, Palaemonidae). Rev. Brasil. Biol. 3(56):561-568.

Vincent, M., L. Ramos and M. Oliva. 1988. Variations in the total carotenoid pigments in the ovary and hepatopancreas of *Penaeus schmitti* during ovarian maturation. Biochemical Systemics and Ecology 17:319-322.

Walace, R.A., S.L. Walker and P.V. Hauschka. 1967. Crustacean lipovitellin. Isolation and characterization of major highly-density lipoprotein from the eggs of decapods. Biochemistry 6:1582-1590.

Xu, X.L., W.J. Ji, J.D. Castell and R.K. O'Dor. 1992. Influence of dietary lipid source on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese prawn (*Penaeus chinensis*) broodstock. Aquaculture 119:359-370.

Xu, X.L., W.J. Ji, J.D. Castell and R.K. O'Dor. 1993. The nutritional value of dietary n-3 and n-6 fatty acid for the Chinese prawn (*Penaeus chinensis*). Aquaculture 118:277-285.

Xu, X.L., W.J. Ji, J.D. Castell and R.K. O'Dor. 1994a. Effect of dietary lipids on fecundity, hatchability and egg fatty acid composition of Chinese prawn (*Penaeus chinensis*). Marine Fisheries research 13:13-19.

Xu, X.L., W.J. Ji, J.D. Castell and R.K. O'Dor. 1994b. Essential fatty acid requirement of the Chinese prawn, (*Penaeus chinensis*). Aquaculture 127:29-40.



Capítulo 1:

INFLUÊNCIA DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI INSATURADOS SOBRE OS ÍNDICES  
HEPATOSOMÁTICO E GONADOSOMÁTICOS E A FECUNDIDADE DO  
*Macrobrachium amazonicum*.



**INFLUÊNCIA DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS SOBRE OS ÍNDICES  
HEPATOSSOMÁTICO E GONADOSSOMÁTICOS E A FECUNDIDADE DO  
*Macrobrachium amazonicum*.**

**Resumo:**

Avaliou-se a influência dos ácidos graxos, poli-insaturados (n-3 HUFA e 18:2n-6) sobre os índices gonadossomático, hepatossomático e a fecundidade de fêmeas da espécie *Macrobrachium amazonicum*. Para tanto, três grupos de 24 fêmeas foram alimentadas com rações isoproteicas e isolipídicas contendo diferentes níveis dos ácidos graxos n-3 HUFA e 18:2n-6 (12mg/g de ração) para T1, n-3 HUFA (6mg/g de ração) e 18:2n-6 (12mg/g de ração) para T2 e n-3 HUFA e 18:2n-6 (6mg/g de ração) para T3. As coletas iniciaram-se após 45 dias de experimento estando de acordo com o estágio ovariano I, III e V. Após biometria, os ovários e o hepatopâncreas foram coletados e pesados individualmente. Os dados foram correlacionados para obtenção dos índices hepatossomático (IHS) e gonadossomático (IGS). A análise da fecundidade foi obtida com a coleta de ovos fecundos e determinada a partir de relações: número de ovos/tamanho do animal, número de ovos/peso do animal e número de ovos/tamanho da carapaça. Observou-se também o tamanho dos ovos nos diferentes tratamentos. A análise estatística dos dados, quanto ao IGS, demonstrou diferenças significativas somente para ovários de fêmeas em estágio V alimentadas com o T2. A análise do IHS demonstrou não haver interação entre tratamentos. A diferença para este índice ocorreu entre os estágios de maturação. Em relação à fecundidade, fêmeas provindas do T2 apresentaram maior número de ovos e conseqüentemente maior fecundidade. Os resultados indicaram que baixas concentrações de n-3 HUFA e altas concentrações de ácido linoleico (18:2n-6), contribuíram para melhor potencial reprodutivo do órgão proporcionando gônada mais pesada em relação às dos demais tratamentos, além de aumentar a fecundidade demonstrada a partir do aumento do número de ovos para fêmeas do T2.

Palavras Chave: *Macrobrachium amazonicum*, fecundidade, ácidos graxos, índice gonadossomático e índice hepatossomático.

## **INTRODUÇÃO**

Recentes estudos vêm sendo direcionados na definição dos nutrientes específicos necessários para o gasto energético envolvido na maturação gonadal, vitelogênese, embriogênese e formação do vitelo da larva de crustáceos. As estimativas das necessidades nutricionais dos reprodutores podem ser observadas a partir da análise das mudanças na composição bioquímica do hepatopâncreas e das gônadas nos diferentes estágios de maturação (Read e Caulton 1980; Galois 1984; Vincent et al. 1988; Castille e Lawrence 1989; Millamena e Pascual 1990; Chung et al. 1992). Pode-se ainda verificar as necessidades nutricionais dos animais a partir do comportamento endócrino do metabolismo durante a gonadogênese, a vitelogênese e da produção de ovos (Harrison 1990).

A variação e a qualidade dos ovos são fatores importantes para a produção comercial de peixes e crustáceos (Kjorsvik et al. 1989). Desta forma, a composição dos nutrientes que formarão os ovos indicará a sua viabilidade além de refletir no desenvolvimento da larva (Lavens et al. 1991).

Visando ampliar e difundir os conhecimentos que auxiliarão no aumento da produção de camarões de água doce, recente estudos estão voltados, não somente para o crescimento final dos mesmos (González-Peña et al. 2002; Deering et al. 1997; Merican e Shim 1995; Bautista e Subosa 1997), mas também para a melhora do desempenho reprodutivo e viabilidade da prole (Cavalli et al. 1999; 2000).

Os camarões do gênero *Macrobrachium* apresentam grande interesse comercial, para a aqüicultura e para a exploração de estoques naturais (Odinetz-Collart e Moreira 1993). Dentre as espécies de camarões de água doce mais estudadas, encontra-se o *Macrobrachium rosenbergii*, devido a sua alta representatividade no mercado (FAO 2002). Esta espécie foi introduzida no Brasil na década de 70 e, por ser exótica, preocupa pelo impacto de sua liberação nos ambientes naturais brasileiros (Valenti 1993). Existe, ainda, preocupação com o possível surgimento de problemas, especialmente patológico, que poderiam causar colapso mundial na atividade. Desta forma alguns países estão investindo na produção de espécies nativas (Valenti 2002).

O Brasil apresenta fauna rica em camarões de água doce. Apesar disto, apenas três espécies destacam-se para o cultivo: *Macrobrachium acanthurus*, *Macrobrachium carcinus* e *Macrobrachium amazonicum* (Valenti 1993). No entanto o

*M. amazonicum* (Heller 1862) é o principal camarão explorado comercialmente na região Amazônica, entre os estados do Pará e do Amapá, a partir da pesca artesanal (Odinetz-Collart 1987). Por apresentar baixa fecundidade quando comparado com *M. rosenbergii* (Lobão et al. 1986; Scaico 1992; Odinetz-Collart e Rabelo 1996), sua utilização em larviculturas comerciais é praticamente irrelevante. Assim, atentando-se para este problema, nota-se a falta de trabalhos que visem alternativas de manejo no sentido de aumentar a fecundidade do *M. amazonicum*.

Estudos realizados com o *M. rosenbergii* demonstraram que, o aumento dos níveis de ácidos graxos poli-insaturados (HUFA-n-3) e ácido linoleico (PUFA- 18:2n-6), na dieta para reprodutores, aumentaram a produção de ovos, e também promoveram a tolerância das larvas com oito dias ao estresse de amônia (Cavalli et al. 1999).

O conhecimento da biologia reprodutiva é importante para avaliar-se o potencial dos animais a serem inseridos na aquicultura, assim como desenvolver estratégias de preservação da biodiversidade (Mussolin e Bueno 2002).

Desta forma o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência das diferentes concentrações de ácidos graxos HUFA e 18:2n-6 sobre os índices gonadosomáticos e hepatossomáticos, além da fecundidade de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum*. Este estudo teve o propósito de gerar subsídios que colaborem para as condições de produção da espécie. Essas informações poderão ser transferidas para o manejo no cultivo comercial, e também colaborar na exploração racional dos estoques naturais, evitando-se os riscos do seu esgotamento.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Reprodutores:*

Os animais utilizados constituíram a segunda geração de indivíduos provenientes do Estado do Pará. Estes foram transferidos dos viveiros de reprodutores do setor de Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), Câmpus de Jaboticabal-S.P., para os compartimentos das unidades experimentais. Selecionaram-se 72 fêmeas adultas de *M. amazonicum*, variando entre  $11,02 \pm 1,3$  cm de comprimento e pesando entre  $11,3 \pm 1,2$  g. Posteriormente estas fêmeas foram divididas em três grupos experimentais com 24 indivíduos cada.

### *Unidades Experimentais:*

Ao todo foram utilizadas 12 unidades experimentais. Estas apresentavam capacidade para 1000 L, e foram divididas em seis compartimentos por tela plástica perfurada, sustentados por canos de PVC. As unidades possuíam um filtro biológico central, com capacidade para 10 L, aeração e termostatos, caracterizando um sistema fechado. Foram avaliadas diariamente a temperatura, o fornecimento de ração e a sifonagem para eliminação de fezes e sobras de ração. O controle da qualidade de água foi observado semanalmente, por meio de análises de pH (peagâmetro Micronal B374), oxigênio dissolvido (oxímetro YSI modelo 55), alcalinidade e compostos nitrogenados como amônia (Solorzano 1969) e nitrito (Strickland e Parsons 1972).

### *Grupos Experimentais:*

Formulou-se três dietas isoproteicas e isolipídicas (Tabela 1). As variações dos níveis de ácidos graxos foram obtidos com a inclusão de óleos de girassol, de peixe e gordura vegetal hidrogenada. Para o T1 a ração fornecida apresentava alta concentração de n-3 HUFA e 18:2n-6 (12mg/g de ração), o T2 baixa concentração de n-3 HUFA (6mg/g de ração) e alta concentração de 18:2n-6 (12mg/g de ração) e para o T3 ração com baixa concentração de n-3 HUFA e 18:2n-6 (6mg/g de ração). Os ingredientes foram misturados separadamente e passados em peletizadora

automática com abertura de 5mm. Os peletes foram secos em ambiente fechado provido de desumidificador a uma temperatura de 26°C, a seguir foram embalados e armazenados a uma temperatura constante de -10°C.

O período experimental foi de aproximadamente 60 dias, sendo os primeiros cinco dias considerados como período de aclimação. Durante o experimento as fêmeas receberam ração suficiente para saciedade (5% do peso do animal). Os animais foram alimentados no período da tarde (1700-1800 h). No período da manhã (0800-0900 h) os compartimentos eram sifonados para eliminação de fezes, ecsúvia e sobras de ração.

As porcentagens nutricionais foram estipuladas a partir de dietas fornecidas para camarão de água doce. Lipídeos totais foram determinados a partir de métodos de extração à frio utilizando técnicas preconizadas por Bligh e Dyer (1959) e Folch et al. (1951). A composição dos ácidos graxos (Tabela 2) foi obtida com auxílio de cromatografia gasosa (Omegawax 250).

*Tabela 1: Composição das dietas experimentais (% peso seco)*

<b>ALIMENTO (%)</b>	<b>Tratamento 1</b>	<b>Tratamento 2</b>	<b>Tratamento 3</b>
Milho	10,00	10,00	10,00
Farelo de Trigo	16,00	16,00	16,00
Farelo de Arroz	4,35	4,35	4,35
Farelo de Soja	38,00	38,00	38,00
Farinha de Peixe	25,50	25,50	25,50
Melaço	0,40	0,40	0,40
Oleo de girassol	2,00	3,50	—
Oleo de peixe	3,00	1,50	1,00
Gordura Vegetal Hidrogenada	—	—	4,00
Suplemento Vitamínico e Mineral	0,75	0,75	0,75
<b>Composição analisada (%)</b>			
Lipídeo	9,00	9,00	10,00
Proteína Bruta	32,15	32,15	32,15
Fibras	2,10	2,00	2,00

Tabela 2: Composição dos níveis de ácidos graxos (mg/g de ração) presentes nas diferentes dietas experimentais.

Ácidos Graxos	Tratamentos		
	Ração 1	Ração 2	Ração 3
14:00	0,8 ±0,1	0,6 ±0,1	0,6 ±0,1
16:00	5 ±0,3	7,5 ±0,2	8,1 ±0,2
16:01	1,6 ±0,0	1 ±0,1	1 ±0,0
18:00	1,1 ± 0,1	1 ±0,0	1,4 ±0,1
18:1n9	6,1 ± 2	5,8 ±1,6	4,7 ±1,1
18:2n6c	11,4 ±2	10,3 ±1,6	5,1 ±0,6
18:3n3	0,3 ±0,1	0,2 ±0,1	0,2 ±0,1
20:1n9	0,5 ±0,0	0,3 ±0,1	0,2 ±0,0
20:4n6	0,8 ±0,2	1,4 ±0,1	1 ±0,3
20:5n3	5,3 ±0,1	3,6 ±0,0	3,2 ±0,3
21:5n3	0,5 ±0,0	0,1 ±0,0	0,4 ±0,2
22:02	1,2 ±0,1	0,9 ±0,3	1,3 ±0,2
22:6n3	4,9 ±0,3	1,7 ±0,2	1,9 ±0,2
∑ Saturados	7 ±2	9,1 ±1,2	10,2 ±1,1
∑ Monoinsaturados	1,6 ±0,0	1 ±0,1	1 ±0,0
∑ (n-6) PUFA	12,2 ±2	11,7 ±2,6	6,1 ±1,3
∑ (n-3)HUFA	10,7 ±1,9	5,4 ±1	5,5 ±0,9
DHA/EPA	0,9	0,5	0,6
(n-6) / (n-3)	1,14	2,1	1,1

$$\sum (n-6) \geq 18:2n-6$$

$$\sum (n-3) > 20:3 n-3$$

#### Procedimento das Análises

#### Índices Gonadossomáticos (IGS) e Hepatossomáticos (IHS):

O desenvolvimento gonadal e a presença de ecsúvia foram monitorados diariamente. Os estágios de maturação ovariana foram identificados a partir de análises macroscópicas do órgão sob a carapaça. As observações referentes ao tamanho e coloração dos ovários permitiram classificá-los de acordo com achados de Chang e Shih (1995). Assim, determinou-se que, ao final de 45 dias, as fêmeas que atingissem os estágio I, III e V, seriam coletadas. Para esta análise utilizaram-se cinco animais de cada estágio de maturação ovariana, em cada tratamento.

No momento das coletas, os animais inicialmente foram pesados e medidos. Posteriormente foram mortos por choque térmico para que os órgãos, ovários e hepatopâncreas, fossem coletados. A determinação dos IGS e IHS foi obtida a partir da seguinte relação:

$$\text{IHS E IGS (\%)} = \frac{\text{Peso do órgão}}{\text{Peso do corpo}} \times 100$$

## **Determinação da Fecundidade**

Para esta análise foram utilizadas cinco fêmeas de cada tratamento. As fêmeas foram observadas diariamente e, após passarem pela muda preparatória, um macho foi acondicionado em seu compartimento para a fecundação.

Decorrida a desova, o macho foi retirado a fim de se evitar possível agressão. Três dias posterior a desova, as fêmeas foram capturadas dos compartimentos, medidas e pesadas. Os ovos foram retirados manualmente dos pleópodos e a fêmea devolvida ao seu compartimento. Com auxílio de câmara clara acoplada em lupa, 50 ovos, de cada fêmea, em cada tratamento, foram medidos.

Os ovos foram pesados, embalados em papel alumínio e aclimatados em estufa à 100°C durante 12 hr. Após esse período foram transferidos para dissecadores e após duas horas foram pesados em balança analítica. Três amostras de ovos foram contadas e pesadas a fim de se obter a estimativa do número total de ovos. O cálculo da fecundidade foi obtido a partir da relação nº de ovos/tamanho total da fêmea; nº de ovos/tamanho da carapaça e, nº de ovos/peso total do animal.

## ***ANÁLISE ESTATÍSTICA***

O delineamento experimental consistiu de caixas inteiramente casualizadas com 24 réplicas (fêmeas) por tratamento. A partir dos resultados, realizou-se Análise de Variância (GLM) e teste de Tukey a 5% ( $P < 0,05$ ). O programa utilizado para conformidade dos resultados foi SAS versão 8.1.

## ***RESULTADOS***

Os parâmetros da qualidade de água apresentaram-se constantes nas unidades experimentais, durante todo o experimento. A temperatura permaneceu por volta de  $28,5 \pm 0,5$  °C, os níveis de oxigênio determinado foram de  $6,5 \pm 0,5$  mg/L com saturação equivalente a  $80 \pm 0,5$  %, e o pH apresentou faixas de  $8,2 \pm 0,1$ . Referente aos níveis dos compostos nitrogenados obteve-se média de  $2,5 \pm 1,5$  mg/L de amônia e  $15 \pm 1,0$  mg/L de nitrito.

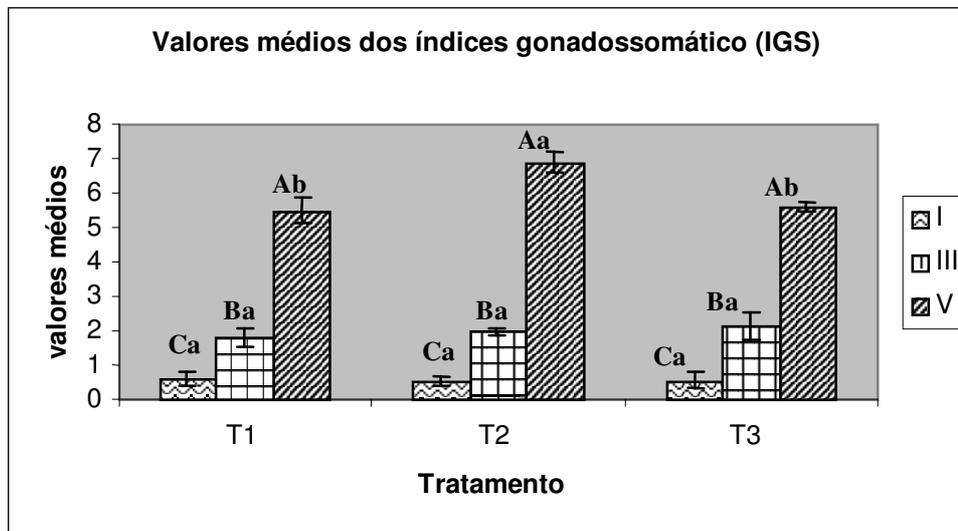
A composição dos ingredientes utilizados para a formulação das dietas práticas, fornecidas durante o experimento, pode ser observada na Tabela 1. Os níveis de lipídeos das rações permaneceram por volta de 9% do peso seco nos diferentes tratamentos. Os diferentes níveis de ácidos graxos determinaram dietas com altos níveis de n-3 HUFA e 18:2n-6 para T1; baixos níveis de n-3 HUFA e altos níveis de 18:2n-6 para T2 e, baixos níveis de n-3 HUFA e 18:2n-6 como sendo o T3 (Tabela 2).

Para a determinação dos índices somáticos foram coletados 15 indivíduos por tratamento, sendo cinco indivíduos de cada estágio ovariano: I, III e V .

As médias obtidas para o IGS em indivíduos com ovários no estágio I foram equivalentes a 0,61% para o T1; 0,52% para o T2, e 0,55% para T3. Em relação ao IGS de fêmeas com ovários no estágio III de maturação foram encontradas as seguintes médias: 1,79% para fêmeas submetidas ao T1; 1,98% para fêmeas submetidas ao T2 e, 2,14% para fêmeas submetidas ao T3. Em relação ao estágio ovariano maduro, ou seja estágio V, observou-se que fêmeas alimentadas com o T1 (altos níveis de n-3 HUFA e 18:2n-6) obtiveram índices de 5,49%; fêmeas submetidas ao T2 (baixos níveis de n-3 HUFA e altos níveis de 18:2n-6) obtiveram índices de 6,89% e, fêmeas submetidas do T3 (baixos índices de n-3 HUFA e 18:2n-6) obtiveram índices de 5,58%. A análise estatística dos dados revelou que o T2 proporcionou um aumento no IGS em indivíduos com ovários no estágio V. No entanto, indivíduos com ovários nos estágios I e III não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (Fig. 1).

Para indivíduos com ovários em estágio I o IHS encontrado foi de 3,88% para animais submetidos ao T1; 4,00% para animais submetidos o T2, e 2,89% para animais que receberam o T3. Já para indivíduos com ovários em estágio III os índices demonstraram médias de 4,77% para animais submetidos ao T1; 5,05% para animais que receberam o T2 e, 3,87% para animais submetidos ao T3. Nos animais com ovários em estágio de maturação final os índices encontrados foram de 3,71% para animais submetidos ao T1, animais submetidos ao T2 obtiveram médias de 2,62% e, animais que receberam T3 obtiveram médias de 3,11%.

Figura 1- Valores médios determinando os Índices Gonadossomáticos dos ovários, em estágio I, III e V, de fêmeas submetidas aos diferentes tratamentos.



Letras iguais entre estágio de maturação ou tratamento não diferem entre si  $P > 0,05$ ;

Letras Maiúsculas, evidencia diferenças entre os estágios de maturação gonadal no mesmo tratamento;

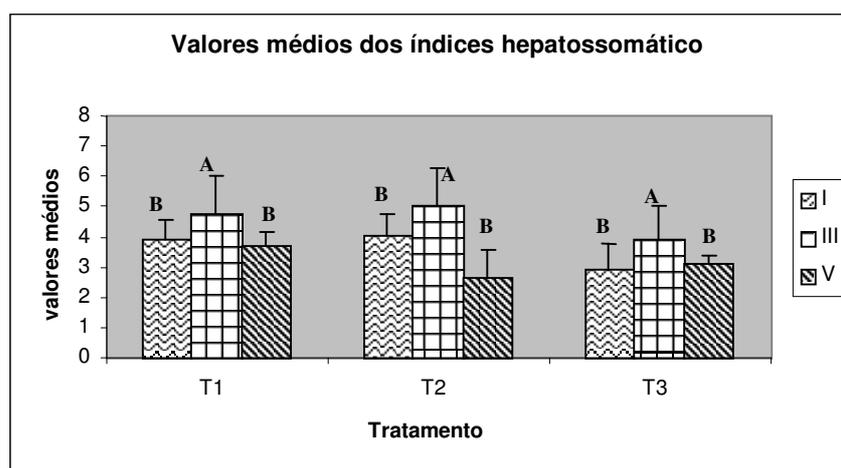
Letras Minúsculas, comparam diferenças entre os mesmos estágios de maturação nos diferentes tratamentos.

A análise estatística demonstrou não haver interação entre o IHS e os diferentes tratamentos. A interação ocorreu somente em relação aos valores de IGS (Tabela 3). Contudo, apesar de não haver interação entre os tratamentos e o IHS, observou-se influência dos estágios de maturação ovariana sobre os índices hepatossomáticos de indivíduos dentro do mesmo tratamento. Desta forma, fêmeas em estágio III de maturação gonadal obtiveram diferenças significativas em relação aos demais estágios de maturação dentro do mesmo tratamento (Fig2.).

Referente às análises de fecundidade e diâmetro dos ovos os valores obtidos variaram entre os tratamentos. Fêmeas que receberam T1 obtiveram em média 5.965 ovos, sendo que estes apresentaram diâmetros médios de 0,082 mm. Fêmeas que receberam o T2 apresentaram em média 6.513 ovos com diâmetros médios de 0,076mm. E fêmeas que receberam o T3, apresentaram 5.619 ovos medindo 0,090 mm em média. A análise dos dados, quanto ao número de ovos, demonstrou diferença significativa existente entre fêmeas alimentadas com T2 (contendo baixos níveis de n-3 HUFA e altos níveis de 18:2n-6), e as que receberam os demais tratamentos. A diferença quanto ao diâmetro dos ovos demonstrou que ovos providos de fêmeas alimentadas com o T3 apresentaram maior diâmetro, que os ovos de fêmeas

submetidas ao T2. No entanto, os ovos de fêmeas submetidas ao T1 não apresentaram diferenças entre o diâmetro dos ovos das fêmeas que foram submetidas aos T2 e T3 (Fig. 3).

*Figura 2-* Valores médios determinando os Índices Hepatosomáticos, de ovários em estágio I, III e V de maturação, de fêmeas submetidas aos diferentes tratamentos.



Letras iguais entre estágio de maturação/ tratamento não diferem entre si  $P > 0,05$ ;

Letras Maiúsculas, evidencia diferenças entre os estágios de maturação gonadal no mesmo tratamento.

*Tabela 3:* Análise da interação (F) por tratamento (Tr) e estágio de maturação ovariana (Em), entre IGS e IHS de fêmeas submetidas aos diferentes tratamentos.

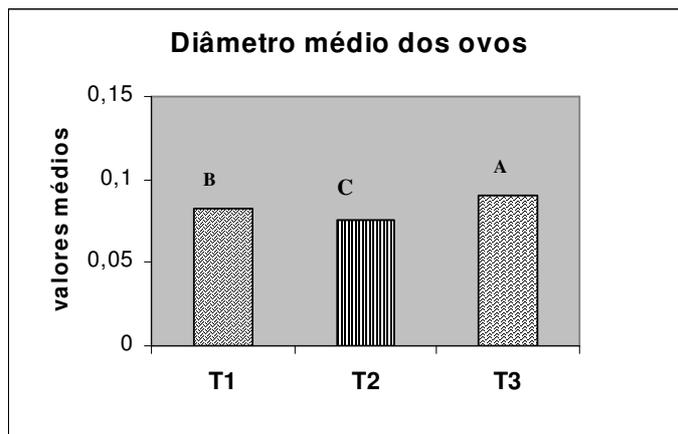
Estatística	Variação	
	Y1=IGS	Y2=IHS
Fp/ Tr	13,95**	4,21*
Fp/ Em	1635,95**	12,33**
Interação Tr e Em.	15,35**	1,97ns
CV	9,48	21,15

\*\*Significativo a 1%;

\*Significativo a 5%;

ns Não significativos.

Figura 3: Diâmetro médio de ovos de *M. amazonicum* provindos de fêmeas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos graxos.



Letras Maiúsculas, evidencia diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os tamanhos dos ovos dos diferentes tratamentos.

A fecundidade obtida foi analisada a partir das correlações existentes entre o número de ovos e: a) o peso total da fêmea; b) o tamanho total da fêmea e, c) o tamanho pós-orbital da fêmea. A análise dos dados demonstrou que não há diferença entre os tratamentos quando se utilizou a relação: nº ovos/peso das fêmeas, para a obtenção da taxa de fecundidade. No entanto, quando se utilizou a correlação do número de ovos com o tamanho total da fêmea e, o comprimento pós-orbital, existiu diferença do tratamento 2 em relação ao tratamento 3 (Tabela 4).

Tabela 4: Correlações existentes entre o número de ovos e: o peso total da fêmea, o tamanho total da fêmea e o tamanho pós-orbital de fêmeas de *M. amazonicum* alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos graxos.

Tratamento	Nº OVO/PT	Nº OVO/CT **	Nº OVO/CPO **
T1	539 <sup>NS</sup>	573AB	2386AB
T2	577	612 A	2547 A
T3	539	531 B	2181AB

Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ );

Nºovo = número de ovos obtidos;

PT= Peso total do animal (g);

CT= Comprimento Total do Animal (cm);

CPO= Comprimento pós-orbital da carapaça do animal (cm);

NS= Diferença não significativa;

\*\*= diferença a 1% ( $P < 0,01$ ).

## DISCUSSÃO

Os lipídeos apresentam importante papel nos processos reprodutivos dos crustáceos, e muitos estudos têm demonstrado que seus níveis e a sua composição nas dietas afetam profundamente a maturação ovariana e o sucesso reprodutivo (Harrison 2000).

Fêmeas de *M. amazonicum* alimentadas com dietas contendo baixa concentração de n-3 HUFA e alta concentração de 18:2n-6 apresentaram maior índice gonadossomático em indivíduos com ovários no estágio V de maturação. Com relação à dieta alimentar dos animais, fêmeas de *M. rosenbergii* alimentadas com dietas contendo altas concentrações de n-3 HUFA e alta concentração de 18:2n-6 obtiveram aumento do IGS (Cavalli et al. 1999), diferente do verificado para *M. amazonicum* no presente estudo. Trabalhos realizados com fêmeas de *Macrobrachium rosenbergii* (Cavalli et al. 2000; 2001; Lee e Chang 1997), capturados na natureza, demonstraram que durante o desenvolvimento ovariano este órgão aumenta seu peso devido ao acúmulo de lipídio e proteínas de vitelo no interior das células ovocitárias. A função do vitelo está na sobrevivência das larvas recém eclodidas, servindo como alimento endógeno nas primeiras horas de vida. Lee e Chang (1997) relataram, ainda, que os estágios IV e V são o momento em que ocorre o maior acúmulo de vitelo no órgão. Justificando assim o maior IGS encontrado em *M. amazonicum* quando as fêmeas se encontravam no estágio V de maturação gonadal. Cavalli et al. (2001) sugeriram que esses lipídeos depositados nos ovócitos sejam diretamente transferidos do hepatopâncreas para o ovário durante a maturação gonadal. Desta forma acreditamos que as espécies de *M. amazonicum* e *M. rosenbergii*, quando cultivados em cativeiro, apresentem diferentes necessidades nutricionais quanto aos níveis de ácidos graxos Omega 3 inseridos na ração para fêmeas reprodutoras.

As análises referentes ao IHS de fêmeas de *M. amazonicum* demonstraram que estes índices não apresentaram influência dos tratamentos. Resultados semelhantes ocorreram em IHS de fêmeas de *M. rosenbergii* submetidas a dietas contendo diferentes níveis de ácidos graxos (Cavalli et al. 1999; 2000). Porém, os resultados desta pesquisa relatam a influência dos estágios de maturação ovariana sobre os IHS de fêmeas de *M. amazonicum* dentro do mesmo tratamento. Neste caso, os hepatopâncreas dos animais analisados com ovários no estágio III,

independente dos tratamentos, apresentaram médias de IHS maiores que animais com ovários em estágios de maturação I e V.

O hepatopâncreas é uma glândula pertencente ao intestino médio que apresenta a importante função de metabolizar lipídeos (Garcia et al. 2002).

Estudos realizados com fêmeas maduras de *Penaeus monodon*, (Millamena e Pascual 1990), demonstraram que boa parte da reserva de energia acumulada no hepatopâncreas era utilizada para o gasto metabólico do animal, realizado principalmente durante a desova. Da mesma forma, Cavalli et al. (2001) relataram que as diminuições da atividade alimentar relacionada com a muda pré-desova contribuem para o declínio de lipídeo estocados no hepatopâncreas nos estágios I e V. Desta forma, pode-se inferir que as reservas presentes no hepatopâncreas dos animais, quando os ovários encontram-se em estágio III de maturação são muito importantes para a conclusão da ovogênese.

Visto que, o T2 ocasionou maior acúmulo de lipídeos, e conseqüentemente de vitelo, em ovários no estágio V constatado pelo aumento do IGS, este maior acúmulo de lipídeos não promoveu a diminuição de reservas acumuladas no hepatopâncreas. Harrison (1990) verificou fato semelhante e afirmou que a formação do vitelo no interior dos ovários, depende diretamente dos nutrientes ingeridos em relação aos estocados no hepatopâncreas. Da mesma forma, trabalhos realizados com diversas espécies marinhas como, *Metapenaeus affinis* (Teshima e Kanazawa 1983); *Penaeus indicus* (Galois 1984) e, *Penaeus monodon* (Millamena e Pacual 1990), demonstraram que boa parte das reservas lipídicas presentes no hepatopâncreas são utilizadas, por estes animais, durante a maturação gonadal. Essas diferenças nas transferências nutricionais, segundo Castille e Lawrence (1989), podem estar associadas com a qualidade dos nutrientes adquiridos, sugerindo que a dieta do T2 utilizada no presente estudo, supriu as necessidades nutricionais exigidas durante a ovogênese em *M. amazonicum*.

Izquierdo et al. (2001) relataram que tanto desenvolvimento gonadal como fecundidade são influenciados por nutrientes contendo ácidos graxos essenciais. Isso ocorre principalmente em espécies que apresentam desovas contínuas, quando existe um rápido intervalo entre uma vitelogênese e outra. Em *M. amazonicum* esta influência também ocorreu quando adicionou-se ácidos graxos altamente insaturados à dietas experimentais.

Diversos trabalhos relatam que a média de fecundidade das fêmeas de *M. amazonicum* é baixa. Scaico (1992) analisou fêmeas provenientes de açudes do nordeste brasileiro, medindo entre 35 a 71 mm, e determinou uma fecundidade variando entre 148 a 1128. Lobão et al. (1986) analisaram desovas de *M. amazonicum*, sob condições de laboratório, e encontraram fecundidade variando entre 178 e 1344. Esses dados são muito inferiores às observações realizadas em *M. acanthurus* e *M. rosenbergii*, que chegam a produzir mais de 50.000 ovos. Uma vez que, a fecundidade está correlacionada diretamente com o peso total do corpo, comprimento total do corpo e da carapaça (ou pós-orbital) do animal (Sureshkumar e Kurup 1998), o *M. amazonicum* poderia apresentar desvantagem em relação às espécies anteriormente citadas devido ao seu pequeno porte. No entanto, Cavalli et al. (1998) relataram que fêmeas menores apresentam maior frequência de mudas e conseqüentemente ficam ovadas mais vezes. Demonstrando, assim, que o tamanho do animal não é empecilho para seu uso em larviculturas de grande escala.

A análise dos resultados referentes ao número e ao tamanho dos ovos de fêmeas de *M. amazonicum* evidenciou que fêmeas alimentadas com T2, contendo baixos níveis de n-3 HUFA e altos níveis de 18:2n-6, obtiveram as maiores taxas de fecundidade em relação às fêmeas submetidas aos demais tratamentos. Porém, seus ovos foram menores que os ovos provenientes de fêmeas submetidas aos demais tratamentos. Contudo, fêmeas de *M. amazonicum* alimentadas com o T3 apresentaram as menores taxas de fecundidade porém seus ovos demonstraram os maiores tamanhos. Estes dados concordam com relatos de Katre (1977) que destacou a fecundidade como sendo relacionada com o número de ovócitos, competindo por espaço e deposição de vitelo. Além disso, a espécie *Macrobrachium* apresenta como característica reprodutiva a relação entre o tamanho dos ovos e a duração dos estágios larvais e ao aumento da sobrevivência larval em populações continentais (Jalihal et al. 1993). No entanto, Cavalli et al. (1999), trabalhando com fêmeas de *M. rosenbergii*, alimentadas com dietas contendo diferentes índices de n-3 HUFA e 18:2n-6, conseguiram os maiores índices de fecundidade para fêmeas alimentadas com altos índices de n-3 HUFA e 18:2n-6. Porém, estas fêmeas apresentaram os menores ovos em relação às fêmeas dos demais tratamentos. Este fato reforça a sugestão de que *M. amazonicum* e *M. rosenbergii* apresentam diferentes necessidades nutricionais quanto aos níveis de ácidos graxos Omega 3 para fêmeas reprodutoras.

Odinatez-Collart e Rabelo (1996) avaliaram o tamanho de ovos do camarão de água doce *M. amazonicum*, a partir de variações intra-específica de populações geograficamente distantes, e observaram que os ovos apresentam maior tamanho quanto mais distante o indivíduo se encontrava do litoral, e que processos similares envolvem outras espécies de *Macrobrachium*.

Desta forma, os resultados dessa pesquisa demonstraram que a dieta contendo baixas concentrações de n-3 HUFA e altas concentrações de 18:2n-6 promoveram aumento do índice gonadossomático, aumento da fecundidade, e conseqüente aumento do número de ovos. A não influência dos tratamentos no IHS demonstrou que as reservas lipídicas deste órgão são principalmente utilizadas no gasto energético das funções metabólicas durante os estágios pré e pós desovas, e secundariamente utilizadas para o acúmulo de vitelo nos ovócitos maduros presentes no ovário.

Agradecimentos:

À Profa Dra. Maria Elizabete Macedo Viegas, pelo auxílio na formulação das rações e ao Prof. Dr. Euclides Braga, pela ajuda nas análises estatísticas.

### **Referências Bibliográficas**

- Bautista, M.N. and P.F. Subosa. 1997. Changes in shrimp feed quality and effects on growth and survival of *Penaeus monodon* juveniles. *Aquaculture* 151: 121-129.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Castille, F. and A.L. Lawrence. 1989. The relationship between maturation and biochemical composition of the gonads and digestive glands of the shrimps *Penaeus aztecus* Ives and *Penaeus setiferus* (L.). *Journal of Crustacean Biology* 9, 202-211.
- Cavalli, R.O., G. Menchaert, P. Lavens and P. Sorgeloos. 2000. Maturation performance, offspring quality and lipid composition of *Macrobrachium rosenbergii* females fed increasing level of dietary phospholipids. *Aquaculture* 8:41-58.

- Cavalli, R.O., P. Lavens and P. Sorgeloos. 1999. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. *Aquaculture* 179:387-402.
- Cavalli, R.O., P. Lavens, and P. Sorgeloos. 1998. Reproduction of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fatty diets with different fatty acid composition. *Aquaculture* 179:387-402.
- Cavalli, R.O., T. Montakan, P. Lavens and P. Sorgeloos. 2001. Variations in lipid classes and fatty acid content in tissues of wild *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) females during maturation. *Aquaculture* 193:311-324.
- Chang, C-F. and T-W. Shih. 1995. Productive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate Reproduction and Development* 27(1):11-20.
- Chung, C.K., K.H. Chu, and K.H. Yung. 1992. Changes in lipid composition of the shrimp, *Metapenaus ensis*, during ovarian maturation. Third Asian Fisheries Forum, Asian Fisheries society, october 26-30.
- Deering, M.J., D.R. Fielder and D.R. Hewitt. 1997. Growth and fatty acid composition of juvenile leader prawns, *Penaeus monodon*, fed different lipids. *Aquaculture* 151:131-141.
- FAO 2002(Food and Agriculture Organization of the United Nation) Yearbook of fishery statistics: summary tables. FAO, Roma (via internet, <http://www.fao.org>).
- Folch, J.A., I. Ascoli, M. Lees, J.A. Meath and F. N. Lebaron. 1951. Preparation of lipid extracts from brain tissue. *J. Biol. Chem.* 191:838-841.
- Galois, R.G. 1984. Variations de la composition lipidique tissulaire au cours de la vitellogenese chez la crevette *Penaeus idicus* Milne Edwards. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 84:155-166.
- Garcia, F., M. González-Baró and R. Polero. 2002. Transfer of lipids between hemolymph and hepatopancreas in the shrimp *Macrobrachium borelli*. *Journal of General Physiology Online. Lipids* 37(6): 581-585.
- González-Peña, M. del C., A.J. Anderson, D.M. Smith and G.S. Moreira. 2002. Effect of dietary cellulose on digestion in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 211:291-303.
- Harrison, K.E. 2000. Broodstock Nutrition and Maturation Diets. Pages 391-401. In: M. B. New, and W. C. Valenti, editors. *Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii.*, Blackwell Science, Osney Mead, Oxford, England.

- Harrison, K. E. 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review. *Journal of Shellfish Research* 9:1-28.
- Izquierdo, M.S., H. Fernández-Palacios and A.G.J. Tacom. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance on fish. *Aquaculture* 197:25-42.
- Jalihal, D.R., K.N. Sankolli and S. Shenoy. 1993. Evolution of larval development patterns and the process of freshwaterization in prawn genus *Macrobrachium* *bate*, 11868 (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana* 65:365-376.
- Katre, S. 1977. The relation between body size and number of eggs in the freshwater prawn, *Macrobrachium lamarrei* (H. Milne Edwards) (Caridea, Decapoda). *Crustaceana* 33:17-22.
- Kjorsvik, E., A.M. Jensen and I. Holmefjord. 1989. Egg quality in marine fishes. *Ny Fish Report* 5(89):1-29.
- Lavens, P., S. Piyatiratitivorakul, P. Menasveta and P. Sorgeloos. 1991. HUFA Levels in eggs of wild and cultured broodstock of *Macrobrachium rosenbergii*. *European Aquaculture Society, Especial Publication* 15:260-263.
- Lee, Fang-Yi and Ching-Fong, Chang. 1997. The concentrations of vitellogenin (vitellin) and protein in hemolymph, Ovary and Hepatopancreas in different ovarian stages of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosebergii*. *Comp. Biochem physiology* 147(4): 433-439.
- Lobão, V.L., N.E.T. Rojas, M. Lace and M.F.S. Magalhães. 1986. Estudo populacional de *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897) (Decapoda, Palaemonidae) do Rio Buava – SP. *Bol. Inst. Pesca* 2(13):37-43.
- Merican, Z.O. and K.F. Shim. 1995. Apparent digestibility of lipid and fatty acids in residual lipids of meals by adult *Penaeus Monodon*. *Aquaculture*. 133:275-286.
- Millamena, O.M. and F.P. Pascual. 1990. Tissue lipid content and fatty acid composition of *Peneaus monodon fabricus* broodstock from the wild. *Journal of the world Aquaculture society*. 21:116-161.
- Mussolin, E.C. and S.L.S. Bueno. 2002. Reproductive biology of *Macrobrachium olfersii* (Decápoda, Palemonidae) in São Sebastião, Brazil. *Journal of Crustacean Biology* 22(2): 367-376.
- Odinetz-Collart, O. 1987. La pêche crevettiere de *Macrobrachium amazonicum* (Palaemonidae) dans le Bas- Tocantins, après la fermeture du barrage de Tucuruí (Brésil). *Rev. Hydorbiol. Trop.* 20(2):131-144.

- Odinetz-Collart, O. and H. Rabelo. 1996. Variation in egg size of the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). J. Crust. Biol. 16(4):684-688.
- Odinetz-Collart, O. and L.C. Moreira. 1993. Potencial pesqueiro do *Macrobrachium amazonicum* na Amazonia Central ( Ilha Carreiro): variação da abundância e do comprimento. Amazoniana .XII(3/4):399-413.
- Read, G.H.L. and M.S. Caulton. 1980. Changes in mass and chemical composition during the molt cycle and ovarian development in immature and mature *Peneaus indicus* milne Edwards. Comparative biochemistry and Physiology 66A:431-437.
- Scaico, M.A. 1992. Fecundidade e fertilidade de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda) de um açude do Nordeste brasileiro. Bol. Inst. Pesca 19:89-96.
- Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypoclorite method. Limnology and Oceanography 14:799-810.
- Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Researt board of Canada. Ottawa, Canadá.
- Sureshkumar, S. and B. M.Kurup. 1998. Fecundity indices of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De man). Journal of Aquaculture in the Tropics 13: 181-188.
- Teshima, S. and A. Kanazawa, 1983. Variation in lipid composition during the ovarian maturation of the prae. Bull Jpn. Soc. Fish 49:957-962.
- Valenti, W.C. 1993. Freshwater prawn culture in Brazil. World Aquaculture, Baton Rouge 24(1):29-34.
- Valenti, W.C. 2002. Situação atual, perspectiva e novas tecnologias para produção de camarões de água doce. In. Simpósio Brasileiro de Aqüicultura,12, Goiânia-GO. Anais ...SIMBRAQ 99-106.
- Vincent, M., L. Ramos and M. Oliva. 1988. Variations in the total carotenoid pigments in the ovary and hepatopancreas of *Penaeus schimitti* during ovarian maturation. Biochemical Systemic and Ecology 17:319-322.



Capítulo 2

**EFEITO DOS ACIDOS GRAXOS POLI INSATURADOS  
SOBRE O DESENVOLVIMENTO OVARIANO DE  
*Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862).**



# EFEITO DOS ACIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO OVARIANO DE *Macrobrachium amazonicum*.

## Resumo:

Este trabalho teve o intuito de avaliar a influência dos ácidos graxos poli-insaturados, sobre o desenvolvimento ovariano de *Macrobrachium amazonicum*. Para tanto, três grupos de 24 fêmeas foram alimentadas com rações isoproteicas e isolipídicas contendo diferentes níveis de ácidos graxos n-3 HUFA e 18:2n-6 (12mg/g de ração) para T1, n-3 HUFA (6mg/g de ração) e 18:2n-6 (12mg/g de ração) para T2 e n-3 HUFA e 18:2n-6 (6mg/g de ração) para T3. As coletas iniciaram-se após 45 dias de experimento. As fêmeas foram coletadas de acordo com o estágio de desenvolvimento ovariano I, III e V. As avaliações determinaram a morfologia ovariana e os índices gonadossomáticos (IGS). O desenvolvimento ovocitário e maturação gonadal variaram entre os tratamentos e estágios ovarianos. As observações morfológicas em ovários no estágio I demonstraram diferença somente em relação ao diâmetro destas células primordiais (ovogônias). As células de maior tamanho foram observadas nos órgãos dos animais do T2. Os ovários no estágio III, não apresentaram diferenças em relação aos tratamentos. Nos ovários no estágio V, evidenciou-se a influência dos tratamentos na morfologia dos órgãos. O diâmetro dos ovócitos se apresentou maior nos tratamentos 2 e 3, muito embora os ovócitos oriundos do tratamento T2 apresentassem tamanhos mais homogêneos e regulares. Nestes ovários no estágio V e submetidos ao T2, observou-se um número maior de células em diferentes estágios de desenvolvimento. O IGS foi estatisticamente maior somente nos ovários do estágio V do T2. Os resultados sugerem que o T2 foi melhor pois resultaram em ovário mais pesado além de possível diminuição no espaço de tempo entre as desovas com marcante presença de células em desenvolvimento nos ovários maduros.

Palavras Chave: *Macrobrachium amazonicum*, estrutura, ácidos graxos, ovário.

## INTRODUÇÃO

O maior custo operacional referente a área aquícola está relacionado a gastos investidos na alimentação (D'Abramo e Sheen 1994). Formulação de dietas equilibradas e sua adaptação para a nutrição são importantes para o sucesso da aquíicultura (Gonzalez-Peña 2002).

Recentes estudos vêm sendo direcionados à definição dos nutrientes específicos necessários para o gasto energético envolvido na maturação gonadal, vitelogênese, embriogênese e formação do vitelo da larva. As estimativas iniciais das necessidades nutricionais dos reprodutores podem ser observadas a partir de análise das mudanças na composição bioquímica das gônadas e hepatopâncreas nos diferentes estágios de maturação (Read e Caulton 1980; Galois 1984; Vincent et al. 1988; Castille e Lawrence 1989; Millamena e Pascual 1990; Chung et al. 1992). Pode-se ainda verificar as necessidades nutricionais dos animais a partir de análises do comportamento endócrino do metabolismo durante gonadogênese, vitelogênese e produção de ovos (Harrison 1990).

Estudos recentes estão voltados não somente para o crescimento final dos camarões (Gonzalez-Peña et al. 2002; Deering et al. 1997; Merican e Shim 1995; Bautista e Subosa 1997), mas também para a melhora no desempenho reprodutivo e viabilidade da prole (Cavalli et al. 1999; 2000). Dentre as espécies de camarões de água doce mais estudadas, encontra-se o *Macrobrachium rosenbergii*, devido a sua alta representatividade no mercado comercial (FAO 2002).

Esta espécie foi introduzida no Brasil na década de 70 e, por ser exótica, apresenta preocupação referente ao impacto de sua liberação nos ambientes naturais brasileiros (Valenti 1993). Dentre as espécies nativas de camarões de água doce existente no Brasil destaca-se o *M. amazonicum*, por apresentar grande potencial para a aquíicultura. Esses animais podem ser encontrados em quase todo o território nacional, sendo muito abundante na região amazônica e aceito por consumidores de todas as classes sociais (Moraes-Riodades e Valenti 1999). Os estudos referentes à *M. amazonicum*, realizados até o presente momento, têm-se concentrado principalmente na ecologia e biologia pesqueira de populações naturais (Odinetz-Collart 1987; 1991a; 1991b; Odinetz-Collart e Moreira 1993; Odinetz-Collart e Magalhães 1994). Foram investigados outros aspectos, tais como a fecundidade (Lobão et al. 1986; Scaico 1992; Odinetz-Collart e Rabelo 1996), o desenvolvimento gonadal (Bragagnoli e Grotta 1995), o desenvolvimento larval (Guest 1979; Romero

1982; Barreto e Soares 1982; Magalhães 1985; Lobão et al. 1987; Rojas et al. 1990), e a alimentação e manutenção dos animais em laboratório (Alves 1986; Roverso et al. 1990; Lobão et al. 1994).

Nos últimos anos vários estudos foram desenvolvidos, envolvendo outros aspectos da biologia do camarão de água doce *M. amazonicum*, como por exemplo: testes de laboratório sobre as técnicas de estocagem, alimentação, manutenção e crescimento tanto de pós-larvas (Barreto e Soares 1982; Coelho et al. 1981; 1982a; 1982b; Lobão et al. 1987; 1994; 1996; Rojas et al. 1990; Roverso et al. 1990) como de adultos (Alves 1986).

Por ser uma espécie que apresenta baixa média de fecundidade (Lobão et al. 1986; Scaico 1992; Odinetz-Collart e Rabelo 1996) quando comparado à espécie exótica *M. rosenbergii*, acaba se tornando mais difícil sua utilização nas larviculturas comerciais. Desta forma nota-se a falta de trabalhos que visem alternativas de manejo no sentido de aumentar a fecundidade do *M. amazonicum*.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis alterações sobre o desenvolvimento gonadal de fêmeas de *M. amazonicum*, submetidas a dietas com diferentes níveis de ácidos graxos, a fim de gerar informações que melhorem a produção, seja por sistema de cultivo comercial ou exploração racional dos estoques naturais, evitando-se os riscos do seu esgotamento.

## ***MATERIAL E MÉTODOS***

### *Reprodutores:*

Os animais utilizados constituíram a segunda geração de indivíduos provenientes do Estado do Pará. Estes foram transferidos dos viveiros de reprodutores do setor de Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), Câmpus de Jaboticabal-S.P., para os compartimentos das unidades experimentais. Selecionaram-se 72 fêmeas adultas de *M. amazonicum*, variando entre  $11,02 \pm 1,3$  cm de comprimento e pesando entre  $11,3 \pm 1,2$  g. Posteriormente estas fêmeas foram divididas em três grupos experimentais com 24 indivíduos cada.

### *Unidades Experimentais:*

Ao todo foram utilizadas 12 unidades experimentais. Estas apresentavam capacidade para 1000 L, e foram divididas em seis compartimentos por tela plástica perfurada, sustentados por canos de PVC. As unidades possuíam um filtro biológico central, com capacidade para 10 L, aeração e termostatos, caracterizando um sistema fechado. Foram avaliadas diariamente a temperatura, o fornecimento de ração e a sifonagem para eliminação de fezes e sobras de ração. O controle da qualidade de água foi observado semanalmente, por meio de análises de pH (peagâmetro Micronal B374), oxigênio dissolvido (oxímetro YSI modelo 55), alcalinidade e compostos nitrogenados como amônia (Solorzano 1969) e nitrito (Strickland e Parsons 1972).

### *Grupos Experimentais:*

Formulou-se três dietas isoproteicas e isolipídicas (Tabela 1). As variações dos níveis de ácidos graxos foram obtidos com a inclusão de óleos de girassol, de peixe e gordura vegetal hidrogenada. Para o T1 a ração fornecida apresentava alta concentração de n-3 HUFA e 18:2n-6 (12mg/g de ração), o T2 baixa concentração de n-3 HUFA (6mg/g de ração) e alta concentração de 18:2n-6 (12mg/g de ração) e para o T3 ração com baixa concentração de n-3 HUFA e 18:2n-6 (6mg/g de ração). Os ingredientes foram misturados separadamente e passados em peletizadora automática com abertura de 5mm. Os peletes foram secos em ambiente fechado provido de desumidificador a uma temperatura de 26°C, a seguir foram embalados e armazenados a uma temperatura constante de -10°C.

O período experimental foi de aproximadamente 60 dias, sendo os primeiros cinco dias considerados como período de aclimatação. Durante o experimento as fêmeas receberam ração suficiente para saciedade (5% do peso do animal). Os animais foram alimentados no período da tarde (1700-1800 h). No período da manhã (0800-0900 h) os compartimentos eram sifonados para eliminação de fezes, ecsúvia e sobras de ração.

As porcentagens nutricionais foram estipuladas a partir de dietas fornecidas para camarão de água doce. Lipídeos totais foram determinados a partir de métodos de extração à frio utilizando técnicas preconizadas por Bligh e Dyer (1959) e Folch et al. (1951).

A composição dos ácidos graxos (Tabela 2) foi obtida com auxílio de cromatografia gasosa (Omegawax 250).

*Tabela 1: Composição das dietas experimentais (% peso seco)*

ALIMENTO (%)	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
Milho	10,00	10,00	10,00
Farelo de Trigo	16,00	16,00	16,00
Farelo de Arroz	4,35	4,35	4,35
Farelo de Soja	38,00	38,00	38,00
Farinha de Peixe	25,50	25,50	25,50
Melaço	0,40	0,40	0,40
Oleo de girassol	2,00	3,50	—
Oleo de peixe	3,00	1,50	1,00
Gordura Vegetal Hidrogenada	—	—	4,00
Suplemento Vitamínico e Mineral	0,75	0,75	0,75
<b>Composição analisada (%)</b>			
Lípido	9,00	9,00	10,00
Proteína Bruta	32,15	32,15	32,15
Fibras	2,10	2,00	2,00

*Tabela 2: Composição dos níveis de ácidos graxos (mg/g de ração) presentes nas diferentes dietas experimentais.*

Ácidos Graxos	Tratamentos		
	Ração 1	Ração 2	Ração 3
14:00	0,8 ±0,1	0,6 ±0,1	0,6 ±0,1
16:00	5 ±0,3	7,5 ±0,2	8,1 ±0,2
16:01	1,6 ±0,0	1 ±0,1	1 ±0,0
18:00	1,1 ± 0,1	1 ±0,0	1,4 ±0,1
18:1n9	6,1 ± 2	5,8 ±1,6	4,7 ±1,1
18:2n6c	11,4 ±2	10,3 ±1,6	5,1 ±0,6
18:3n3	0,3 ±0,1	0,2 ±0,1	0,2 ±0,1
20:1n9	0,5 ±0,0	0,3 ±0,1	0,2 ±0,0
20:4n6	0,8 ±0,2	1,4 ±0,1	1 ±0,3
20:5n3	5,3 ±0,1	3,6 ±0,0	3,2 ±0,3
21:5n3	0,5 ±0,0	0,1 ±0,0	0,4 ±0,2
22:02	1,2 ±0,1	0,9 ±0,3	1,3 ±0,2
22:6n3	4,9 ±0,3	1,7 ±0,2	1,9 ±0,2
Σ Saturados	7 ±2	9,1 ±1,2	10,2 ±1,1
Σ Monoinsaturados	1,6 ±0,0	1 ±0,1	1 ±0,0
Σ (n-6) PUFA	12,2 ±2	11,7 ±2,6	6,1 ±1,3
Σ (n-3)HUFA	10,7 ±1,9	5,4 ±1	5,5 ±0,9
DHA/EPA	0,9	0,5	0,6
(n-6) / (n-3)	1,14	2,1	1,1

$$\Sigma (n-6) \geq 18:2n-6$$

$$\Sigma (n-3) \geq 20:3 n-3$$

*Procedimento de Análise:*

*Índices Gonadossomáticos (IGS)*

Os estágios de maturação ovariana foram identificados de acordo com análise macroscópica do órgão sob a carapaça. As observações referentes ao tamanho e coloração dos ovários permitiram classificá-los de acordo com achados

de Chang e Shih (1995). As fêmeas foram supervisionadas diariamente. Após 45 dias iniciaram-se as coletas que obedeceram aos estágios ovarianos I, III e V. No momento da coleta os animais eram pesados, medidos, mortos por choque térmico e seus órgãos coletados. O ovário foi pesado e correlacionado com o peso total do corpo para a obtenção do IGS.

$$\text{IHS E IGS (\%)} = \frac{\text{Peso do órgão}}{\text{Peso do corpo}} \times 100$$

### *Análise Morfológica*

Para cada tratamento, foram coletados cinco ovários em cada estágio de desenvolvimento. Após pesagem os órgãos foram fixados em formol tamponado 10%. Seguiram-se as rotinas histológicas na qual parte do material foi incluída em historesina e parte em "paraplast". Decorreu-se a microtomia do material para obtenção das lâminas com secções de 3 µm e 5 µm. Estas foram coradas com Hematoxilina/Eosina, Azul de Toluidina e Herdenhein-Scheleicher, para análise das características do material. As células ovarianas em desenvolvimento inicial e madura (ovogônias e ovócitos maduros) foram medidas com o auxílio do programa analisador de imagens Image Pro Plus acoplado ao fotomicroscópio Olympus B Max50. Análise e fotodocumentação foram realizadas em fotomicroscópio Olympus B Max-50.

### *ANÁLISE ESTATÍSTICA*

O delineamento experimental consistiu de blocos inteiramente casualizados com 24 réplicas (fêmeas) por tratamento. A partir dos resultados, aplicou-se Análise de Variância (GLM) e teste de Tukey a 5% (P<0,05). O programa utilizado para conformidade dos resultados foi SAS versão 8.1.

## RESULTADOS

Os parâmetros da qualidade de água apresentaram-se constantes nas unidades experimentais, durante todo o experimento. A temperatura permaneceu por volta de  $28,5 \pm 0,5$  °C, os níveis de oxigênio determinados foram de  $6,5 \pm 0,5$  mg/L com saturação equivalente a  $80 \pm 0,5$  %, e o pH apresentou faixas de  $8,2 \pm 0,1$ . Referentes aos níveis dos compostos nitrogenados obtiveram-se médias de  $2,5 \pm 1,5$  mg/L de amônia e  $15 \pm 1,0$  mg/L de nitrito.

A composição dos ingredientes utilizados para a formulação das dietas práticas fornecidas durante o experimento, pode ser observada na Tabela 1. Os níveis de lipídeos das rações permaneceram por volta de 9% do peso seco nos diferentes tratamentos. Os diferentes níveis de ácidos graxos determinaram dietas conforme segue: T1: com altos níveis de n-3 HUFA e 18:2n-6, T2: baixos níveis de n-3 HUFA e altos níveis de 18:2n-6 e T3; baixos níveis de n-3 HUFA e 18:2n-6 (Tabela 2).

O monitoramento diário facilitou a verificação dos animais a serem coletados após 45 dias de início de experimento.

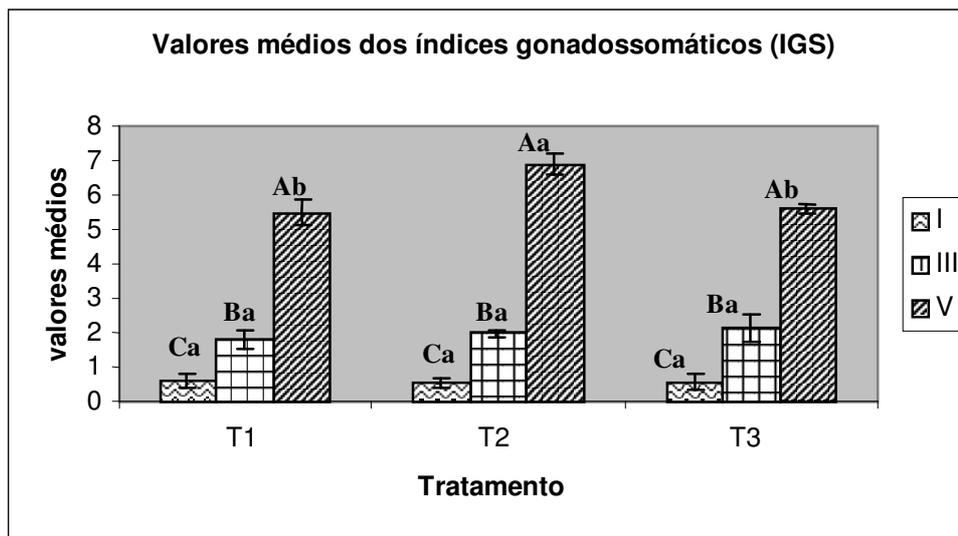
A análise dos índices gonadossomático (IGS), oriundos de animais submetidos aos diferentes tratamentos, demonstrou variação entre os mesmos (Fig.1) evidenciando que ovários no estágio V (último estágio de maturação), de fêmeas submetidas ao T2, destacou-se em relação aos demais órgãos oriundos dos outros tratamentos.

As análises microscópicas determinaram que ovários se caracterizam por apresentar externamente uma túnica albugínea composta por fibras colágenas, que limita a zona proliferativa central e uma região periférica (Fig. 2). Na túnica albugínea pode-se observar a presença de vasos de hemolinfa responsáveis pela nutrição e metabolismo do órgão (Fig. 3). Na zona proliferativa central localizam-se as células primordiais (ovogônias) e na região periférica encontram-se células em estágios mais avançados de desenvolvimento chamado de ovócitos.

O ovário apresenta, de forma geral, diferentes fases de desenvolvimento constituindo os estágios ovarianos. Entende-se por diferentes fases de desenvolvimento o grau de amadurecimento gonadal. Os ovários no estágio I, independente dos tratamentos, apresentaram na região central a zona proliferativa com presença de ovogônias. Estas células se apresentam esféricas com citoplasma

pouco evidente preenchido pelo volumoso núcleo (Fig.4). Próximo à periferia observou-se ovócitos em desenvolvimento.

Figura 1- Valores médios dos Índices Gonadossomáticos dos ovários de fêmeas submetidas aos diferentes tratamentos, nos determinados estágios de desenvolvimento: estágio I, III e V.

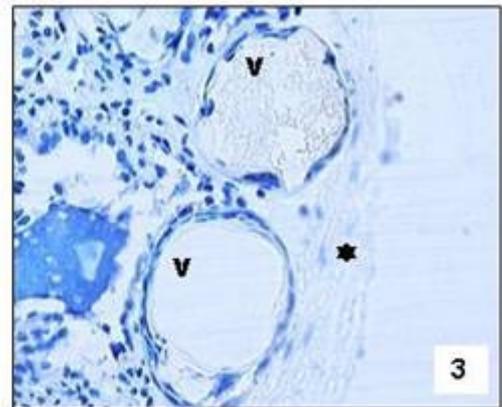
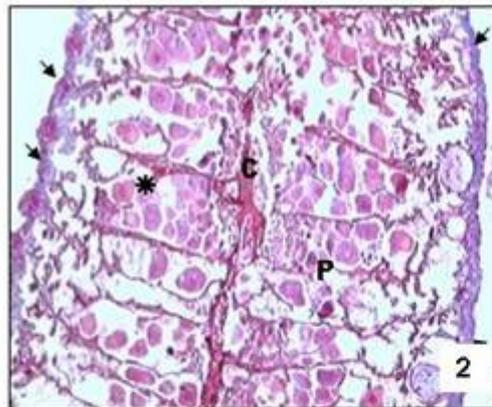


Letras iguais entre estágio de maturação ou tratamento não diferem entre si  $P > 0,05$ ;

Letras Maiúsculas, evidencia diferenças entre os estágios de maturação gonadal no mesmo tratamento;

Letras Minúsculas, comparam diferenças entre os mesmos estágios de maturação nos diferentes tratamentos.

Apesar das ovogônias serem muito semelhantes entre si, a análise morfométrica do diâmetro destas células constataram diferenças entre tratamentos. De acordo com a Fig 5, as células provenientes dos órgãos de animais que receberam T2 se apresentaram maiores ( $11,01\mu\text{m}$ ) que as do T1 ( $9,15\mu\text{m}$ ) e T3 ( $8,31\mu\text{m}$ ). A análise dos dados comprovou a influência dos tratamentos sobre o diâmetro das células. Ainda com relação às características do ovário no estágio I encontram-se os ovócitos pré-vitelogênicos (Fig. 6) próximos às células primordiais (ovogônias). Estes ovócitos apresentaram formato poliédrico e citoplasma com forte basofilia contendo núcleo volumoso com granulomas e vários nucléolos esparsos.



Figuras 2: Secção do óvário de *Macrobrachium amazonicum*, demonstrando Túnica albugínea de Revestimento (setas) Região central (c) e periférica (p) com destaque para as células germinativas (\*). H/E 40x.

Figura 3: Secção ovárica de *M. amazonicum*, evidenciando vasos hemolinfáticos de nutrição (v) e túnica albugínea (\*). A/B 2,5, 40x.

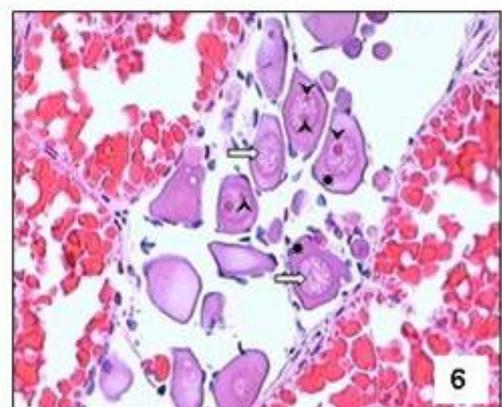
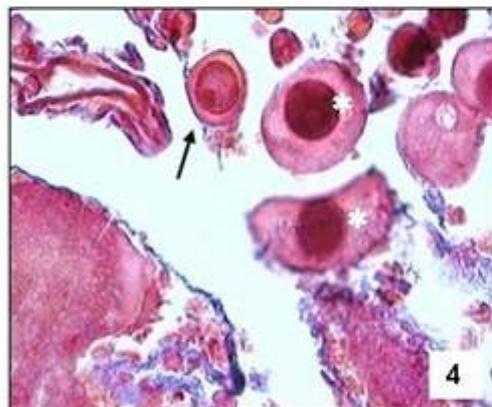
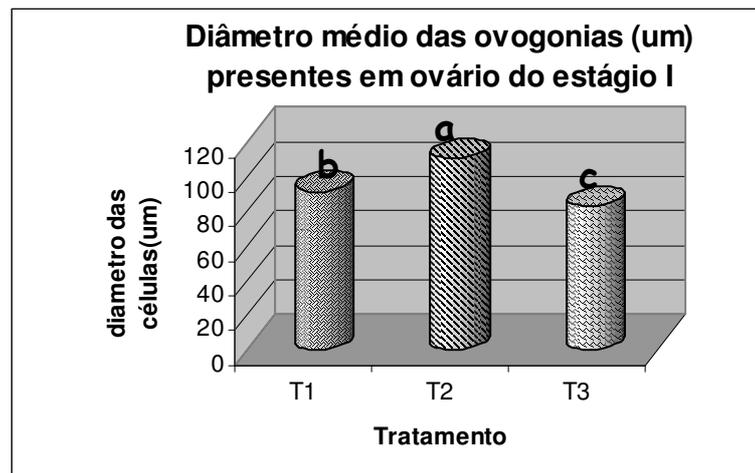


Figura 4: Fotomicrografia do ovário de *M. amazonicum*, demonstrando ovogônias (seta) com núcleos volumosos ocupando a maior parte do citoplasma (\*). H/E, 200x.

Figura 6: Fotomicrografia do ovário de *M. amazonicum*, demonstrando ovócitos pré-vitelogênicos (\*) com núcleos granulocíticos (seta) e presença de nucléolos (▲). H/E, 100x.

Os ovários em estágio III, não apresentaram variação em relação aos tratamentos. Nesta fase de desenvolvimento puderam ser encontrados ovócitos em vitelogênese inicial (Fig.7) e em vitelogênese avançada (Fig.8).

*Figura 5 - Valores médios referentes aos tamanhos das ovogônias de ovários em estágio I, dos animais submetidos aos diferentes tratamentos.*



Letras Minúsculas, comparam diferenças entre os tamanhos das células nos diferentes tratamentos.

Os ovócitos em vitelogênese inicial caracterizaram-se por apresentar citoplasma com basofilia menos acentuada que o das células pré-vitelogênicas devido à presença de vesículas não coradas (Chaves e Magalhães 1993). O núcleo destas células apresentou tendência a localização central e exibiu vários nucléolos em diferentes tamanhos. Ao redor desses ovócitos em vitelogênese inicial, dispõem-se as células foliculares constituídas de camada de células única e pavimentosa (Fig.8). Os ovócitos em vitelogênese avançada (Fig.9), apresentaram tamanho relativamente maior que todas as demais células citadas anteriormente. Seu citoplasma demonstrou indícios de acidofilia devido à sua periferia estar preenchida por grânulos incolores (Fig.9). Nesta fase de amadurecimento ovocitário o citoplasma exibiu a região próxima ao núcleo ocupada por material basófilo. Nota-se, ainda, o aparecimento de grânulos de vitelo se aglomerando na periferia do citoplasma. Os núcleos destas células não apresentaram alterações morfológicas que pudessem ser visualizadas à microscopia óptica. O ovário no estágio V representa a última fase do desenvolvimento ovariano. Nesta fase, grande parte das células já se encontravam maduras e prontas para serem liberadas ao meio externo.

Desta forma, as estruturas mais encontradas foram os ovócitos em vitelogenese avançada (Fig. 9) e os ovócitos maduros (Fig. 10). Os ovócitos em vitelogenese avançada presentes no ovário no estágio III apresentavam as mesmas características relacionadas para estas células no estágio de vitelogenese avançada. Os ovócitos maduros representavam a fase mais desenvolvida de células durante a maturação ovariana (Fig.10). Estes ovócitos se caracterizaram por apresentar citoplasma fortemente acidófilo, preenchido por grânulos incolores de localização central. O citoplasma desta célula, ao contrário do apresentado pela célula no estágio de vitelogenese avançada, apresentou-se intimamente acidófilo e a região ao redor do núcleo foi de difícil visualização, uma vez que o núcleo é raramente seccionado. Pode-se inferir ainda que nesta fase o citoplasma está totalmente preenchido por grânulos de vitelo. A zona de proliferação, nos ovários do estágio V (Figs. 11,12,13) apareceu em pontos isolados da gônada e as células primordiais (ovogônias) comprimidas pelos ovócitos maduros. As ovogônias foram visualizadas principalmente nos ovários de fêmeas submetidas ao T2. A análise do diâmetro médio dos ovócitos maduros revelou a influência do tratamento no tamanho celular. A análise estatística demonstrou diferença significativa entre as células dos T2 (340,57 $\mu$ m) e T3 (371  $\mu$ m) em relação ao T1 (292,04 $\mu$ m) (Fig.14).

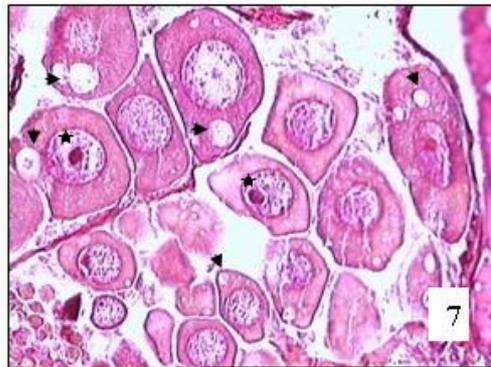


Figura 7: Secção ovárica de de *M. amazonicum*, demonstrando ovócitos em vitelogênese inicial (★) com presença de gotículas não coradas no interior do citoplasma (seta). H/E, 100x.

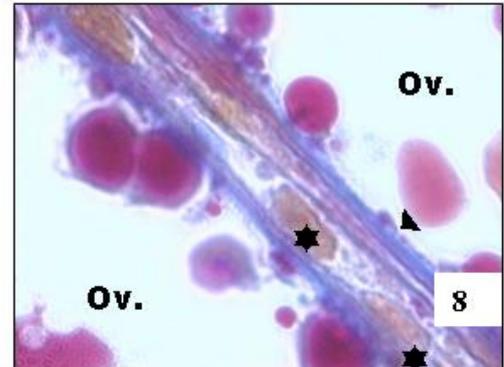


Figura 8: Secção de ovócitos ovarianos (Ov.) de *M. amazonicum*, evidenciando núcleos de células foliculares (★) presentes entre células ovocitárias (seta). Herdenhein-Scheleicher, imersão.

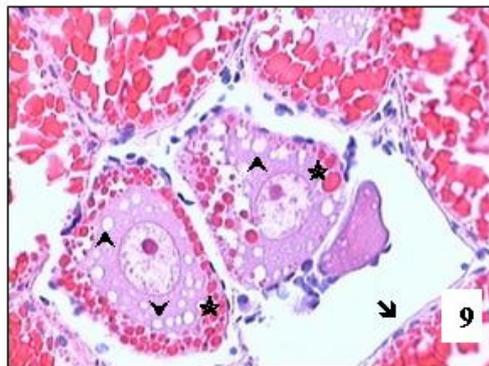


Figura 9: Fotomicrografia do ovário de *M. amazonicum*, demonstrando ovócitos em vitelogênese avançada evidenciando vesículas incolores (▲) e acúmulo de grânulos de vitelo na periferia do citoplasma (★). Marcante presença das células foliculares (seta). Herdenhein Scheleicher, 100x.

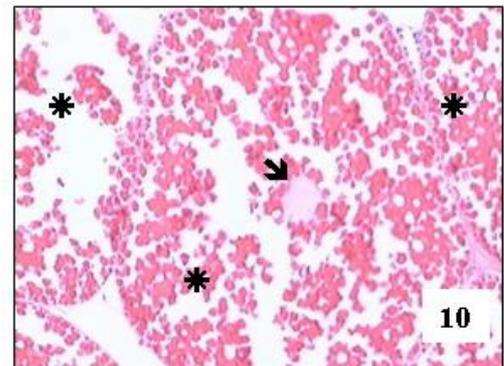
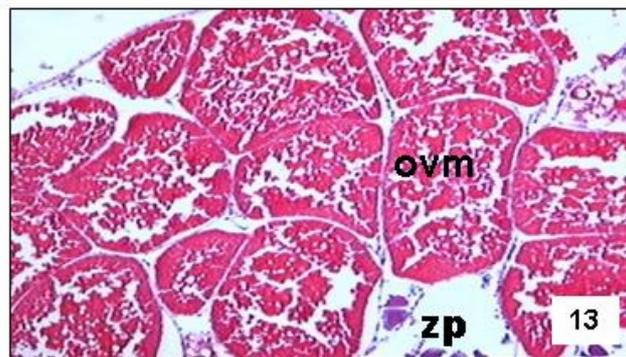
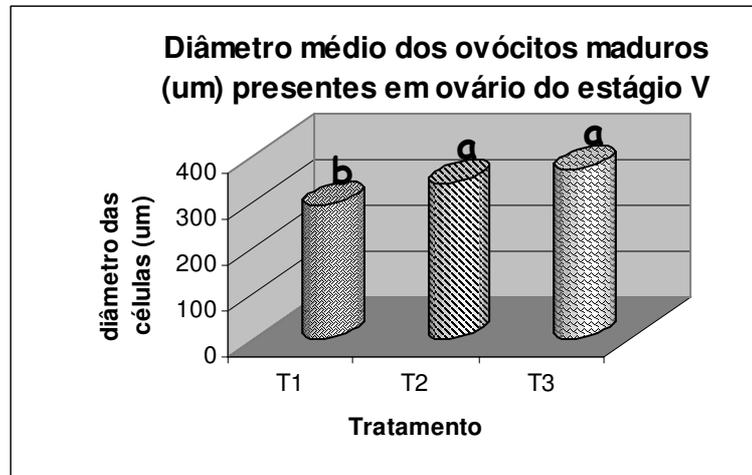


Figura 10: Fotomicrografia do ovário de *M. amazonicum*, demonstrando ovócitos maduros evidenciando citoplasma preenchido por grânulos vitelínicos (\*). O núcleo possui tamanho muito pequeno sendo difícil de ser seccionado (seta). H/E, 100x.



Figs. 11,12,13: Fotomicrografia de ovários em estágio V de fêmeas de *M. amazonicum* submetidas respectivamente aos tratamentos: T1, T2, T3. Destacando a presença de zonas proliferativas (zp) por entre as células ovocitárias maduras (ovm)

Figura 14 - Valores médios referentes aos tamanhos dos ovócitos maduros analisados em ovários no estágio V de fêmeas de *M. amazonicum*, submetidas a diferentes dietas.



Letras Minúsculas, comparam diferenças entre os tamanhos das células nos diferentes tratamentos.

## Discussão:

Brett et al. (1997) investigaram a importância dos ácidos graxos altamente insaturados, na nutrição de organismos aquáticos, e constataram que HUFA e PUFA influenciam tanto na fase de crescimento quanto na fase reprodutiva destes animais. Com relação aos camarões de água doce, Cavalli et al. (1999) observaram o aumento do potencial reprodutivo de fêmeas de *M. rosenbergii*, alimentadas com rações contendo diferentes concentrações de ácidos graxos. Em *M. amazonicum*, o presente trabalho constatou a importância dos ácidos graxos altamente insaturados no aumento do potencial reprodutivo de fêmeas.

Desta forma, pode-se observar que os diferentes tratamentos influenciaram os índices gonadosomáticos (IGS) de *M. amazonicum*, com especial ênfase para ovários no estágio V, tendo em vista que as fêmeas alimentadas com o T2 obtiveram o maior IGS (6,89%). Pode-se inferir que este índice está diretamente relacionado com a quantidade e/ou tamanho dos ovócitos maduros, proporcionando aumento do peso da gônada em relação ao peso do animal. Estas células maduras apresentaram grande deposição de vitelo o que estaria influenciando diretamente o peso do órgão. Cavalli et al. (2001) avaliaram as classes lipídicas existentes em

fêmeas de *M. rosenbergii*, e observaram que os aumentos dos índices gonadosomático eram proporcionais ao aumento dos níveis de lipídeos presentes nas gônadas. Lee e Chang (1997) determinaram que o aumento do peso dos ovários de *M. rosenbergii* é resultado do acúmulo de vitelo e proteínas armazenados nas células ovocitárias. Desta forma em *M. amazonicum* o acréscimo de 18:2n-6 (12mg/g de ração) proporcionou o aumento do IGS em indivíduos submetidos ao T2, uma vez que as células ovocitárias destes indivíduos apresentaram tamanho maior em relação ao T1 e estatisticamente igual ao T3, muito embora as fêmeas arraçadas com aumento de 18:2n-6 (12mg/g de ração) apresentassem maior fecundidade em relação aos indivíduos submetidos ao T1 e T3 (Ribeiro 2003).

Observações macro e microscópica de ovários de *M. amazonicum* determinaram o seu desenvolvimento gonadal. As observações macroscópicas consideraram o tamanho e a coloração dos ovários durante seu amadurecimento e demonstraram a existência de cinco estágios ovarianos. Em *M. amazonicum*, assim como em *Macrobrachium acanthurus* (Carvalho e Pereira 1981), observou-se que o órgão ao se aproximar da maturidade demonstrou coloração esverdeada. Características semelhantes foram relatadas por Chang e Shih (1995) que também determinaram para a espécie *Macrobrachium rosenbergii* cinco estágios de maturação gonadal. Porém, fêmeas desta espécie apresentavam ovários maduros de coloração alaranjada diferente do relatado anteriormente para *M. amazonicum*. Estas diferenças de colorações ovarianas podem estar relacionadas com características específicas e ambientais, visto que, apesar de serem do mesmo gênero *Macrobrachium*, as espécies *amazonicum* e *acanthurus* são nativas do Brasil enquanto a espécie *rosenbergii* é oriunda da Malásia.

As observações microscópicas dos ovários das fêmeas de *M. amazonicum*, demonstraram a existência de cinco tipos de celulares em ovários nos diferentes estágios de desenvolvimento. Estes estágios também foram determinados por Chaves e Magalhães (1993) em *M. amazonicum* e por Pereira e Carvalho (1981), em *M. acanthurus*. No entanto, esta última espécie apresentou desovas parciais, ou seja, podendo liberar ovócitos maduros a partir do estágio IV, e continuar a maturação ovariana para posterior desova após a eclosão dos ovos primeiramente fecundados, diferente do observado em *M. amazonicum* que libera de uma única vez todos os ovócitos maduros.

No estágio I do desenvolvimento ovariano de *M. amazonicum* foram encontradas as ovogônias e ovócitos pré-vitelogênicos. Nossas observações determinaram que o núcleo dos ovócitos pré-vitelogênicos apresentavam nucléolos em diferentes tamanhos, contrariando achados de Chaves e Magalhães (1993), que descreveram a existência de nucléolo único nos ovócitos pré-vitelogênicos nesta mesma espécie. Em ovários no estágio III de *M. amazonicum* observou-se células em estágios avançados de desenvolvimento, denominados ovócitos em vitelogenese inicial com vesículas incolores e esparsas no citoplasma. Em estudos realizados em ovários de *M. rosenberggi* (Chang e Shih 1995) e *Pandalus kessleri* (Quintio et al. 1989) essas vesículas incolores também foram observadas. Porém, o mesmo não ocorreu nas células ovocitárias de *Penaeus monodon* (Bell e Lingther 1988), que apresentou apenas hastes corticais. Estas vesículas incolores são consideradas de origem fosfolipídica e apresentam extrema importância após a fecundação devido ao seu envolvimento com a síntese de membranas celulares (Gomes et al. 1979). Ainda com relação aos ovários de *M. amazonicum* em estágio III, observou-se à presença de ovócitos em vitelogenese avançada, que demonstraram as primeiras deposições de grânulos de vitelo na periferia do citoplasma. A partir deste estágio de maturação ovariana, ficou evidente a presença de células foliculares. Estudos realizados em ovários de *Penaeus japonicus* (Yano e Chinzei 1987) sugeriram que o vitelo é sintetizado pelas células foliculares, e que o tamanho destas células equivalem a sua capacidade de atividade biosintética. Desta forma consideramos importante a associação de ovócitos em vitelogenese com as células foliculares, sugerindo uma associação funcional dessas células.

No último estágio de maturação gonadal de *M. amazonicum* foram encontrados principalmente ovócitos maduros com grande deposição de vitelo no citoplasma celular além de algumas regiões proliferativas. Nos indivíduos submetidos ao T2 encontrou-se um maior número de regiões proliferativas esmagadas pelos ovócitos maduros, quando comparadas às regiões proliferativas dos ovários de fêmeas submetidas aos demais tratamentos. Desta forma, dietas com baixa concentração de n-3 HUFA (6mg/g de ração) e alta concentração de 18:2n-6 (12mg/g de ração), além de melhorar a fecundidade (Ribeiro 2003), refletiram positivamente no espaço de tempo entre as desovas, devido à marcada presença de zonas proliferativas por entre as células maduras.

As análises morfométricas das células ovarianas de *M. amazonicum* demonstraram que as ovogônias de ovários no estágio I submetidas ao T2 (11,01  $\mu\text{m}$ ) eram maiores que as ovogônias encontradas nos demais tratamentos. Carvalho e Pereira (1981) analisaram ovogônias de *M. acanthurus* capturados na natureza, e determinaram os diâmetros médios de 80,30  $\mu\text{m}$  para essas células. Em trabalhos semelhantes realizados por Lee e Chang (1997), na espécie *M. rosenbergii*, ovogônias alcançaram diâmetros médios equivalente a 80  $\mu\text{m}$ . Estudos realizados em *Peneaus semisulcatus* (Ravid et al. 1999) demonstraram ovócitos com diâmetros médios de 100  $\mu\text{m}$ . Desta forma destaca-se que o diâmetro médio das ovogônias de *M. amazonicum* alcançou tamanho inferior às demais espécies estudadas por outros autores. No entanto, segundo Romero (1982) o *M. amazonicum* apresentou, em indivíduos adultos, aproveitamento maior de carcaça por possuir abdômen maior que o cefalotórax. Este pequeno tamanho das ovogônias provavelmente esteja relacionado com o espaço disponível no cefalotórax desta espécie.

A análise morfométrica das células maduras demonstrou que os tratamentos T2 (340,57  $\mu\text{m}$ ) e T3 (371  $\mu\text{m}$ ) são semelhantes. Porém, diferenciaram-se de T1, sendo que este último apresentou os menores valores para o diâmetro celular (292,04  $\mu\text{m}$ ). No entanto, os ovócitos maduros de indivíduos submetidos ao T2 apresentaram superfície mais regular que os ovócitos de indivíduos submetidos ao T3. Trabalhos realizados com *M. acanthurus* (Carvalho e Pereira 1981) e *M. rosenbergii* (Lee e Chang 1997) demonstraram tamanhos médios de ovócitos de 321,04  $\mu\text{m}$  e 510  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Estudos realizados com a espécie marinha *Peneaus semisulcatus* (Ravid et al. 1999) demonstraram que ovócitos maduros apresentavam diâmetros médios de 300  $\mu\text{m}$ . Desta forma, notou-se que o tamanho das células maduras de *M. amazonicum* se assemelham ao tamanho destas células nas outras espécies anteriormente citadas, diferente da relação de tamanho existente entre as ovogônias do *M. amazonicum* e as demais espécies analisadas anteriormente. Provavelmente em *M. amazonicum* este comportamento morfométrico das ovogônias e ovócitos maduros esteja relacionado a picos de crescimento presentes durante a maturação. Uma vez que as células maduras apresentaram como principal característica a deposição de vitelo no seu citoplasma, pode-se concluir que a ração com baixos níveis de n-3 HUFA (6mg/g de ração) e altos níveis de 18:2n-6 (12mg/g de ração) proporcionem ovócitos maduros com superfície mais regular, uma vez que indivíduos submetidos a este tratamento

apresentaram maior fecundidade. Segundo Katre (1977) a fecundidade está diretamente relacionada com o número de ovócitos, que competem por espaço no órgão e conseqüente deposição de vitelo. Acreditamos que a homogeneidade no tamanho celular pode promover a igualdade na deposição de proteínas e lipídeos de vitelo, pois uma possível desigualdade, tanto no tamanho quanto na deposição de vitelo, pode ocasionar produção de ovos inviáveis e uma possível diminuição na taxa de fecundidade conforme constatado em indivíduos submetidos ao T3, e que apresentaram queda na fecundidade (Ribeiro 2003)

Desta forma, o presente estudo demonstrou que fêmeas de *M. amazonicum*, alimentadas com dietas contendo baixos índices de n-3 HUFA (6mg/g de ração) e altos índices de 18:2n-6 (12 mg/g de ração), apresentaram melhor desempenho ovariano uma vez que exibiram maior índice gonadossomático, maior número de ovogônias e ovócitos maduros com superfície mais regular, levando a maior taxa de fecundidade. Acresce-se a este fato, que esta dieta reflete positivamente no espaço de tempo entre as desovas, otimizando o uso destes animais nas larviculturas comerciais.

#### Agradecimentos:

À Profa Dra. Maria Elizabete Macedo Viegas, pelo auxílio na formulação das rações, ao Prof. Dr. Euclides Braga, pela ajuda nas análises estatísticas, e ao Bacharel em Sistema de Informação João Paulo Papa, pelo auxílio na captação das imagens e morfometria realizadas.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Alves, M.I.M. 1986. Alimentação de *Macrobrachium amazonicum* (HELLER) em condições de laboratório. Ciência Agronômica, Fortaleza.17(2):19-23.
- Barreto, A. and A.M.C. Soares. 1982. Produção de pós-larvas de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Decapoda: Palaemonidae), sob condições controladas de laboratório. Rev. Brasil. Zool.1(1):51-53.
- Bautista, M.N. and P.F. Subosa. 1997. Changes in shrimp feed quality and effects on growth and survival of *Penaeus monodon* juveniles. Aquaculture 151: 121-129.

- Bell, T.A. and D.V. Lightner. 1988. A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37:911-917.
- Bragagnoli, G. and M. Grotta. 1995. Reprodução do camarão de água doce *M. Amazonicum* (1862) nos açudes públicos do nordeste brasileiro. Revista Nordestina de Biologia 10(2):141-154.
- Brett, M.T. and D.C. Müller-Navarra. 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. Freshwater Biology 38:483-499.
- Carvalho, H.A and M.C. Pereira, 1981. Descrição dos estádios ovarianos de *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN,1836) (CRUSTACEA, PALAEMONIDAE) durante o ciclo reprodutivo. Ciência e Cultura 33(10):1353-1359.
- Castille, F. and A.L. Lawrence. 1989. The relationship between maturation and biochemical composition of the gonads and digestive glands of the shrimps *Penaeus aztecus* Ives and *Penaeus setiferus* (L.). Journal of Crustacean Biology 9, 202-211.
- Cavalli, R.O., G. Menchaert, P. Lavens and P. Sorgeloos. 2000. Maturation performance, offspring quality and lipid composition of *Macrobrachium rosenbergii* females fed increasing level of dietary phospholipids. Aquaculture 8:41-58.
- Cavalli, R.O., P. Lavens and P. Sorgeloos. 1999. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. Aquaculture 179:387-402.
- Cavalli, R.O., T. Montakan, P. Lavens and P. Sorgeloos. 2001. Variations in lipid classes and fatty acid content in tissues of wild *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) females during maturation. Aquaculture 193:311-324.
- Chang, C-F. and T-W. Shih. 1995. Productive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. Invertebrate Reproduction and Development 27(1):11-20.
- Chaves, P.T.C. and C.O. Magalhães. 1993. O desenvolvimento ovocitário em *Macrobrachium amazonicum* (Heller,1862)(Crustacea: Decapoda: Palaemonidae), camarão dulcícula da região amazônica. Acta Amazonica 23:17-23.
- Chung, C.K., K.H. Chu, and K.H. Yung. 1992. Changes in lipid composition of the shrimp, *Metapenaeus ensis*, during ovarian maturation. Third Asian Fisheries Forum, Asian Fisheries society, october 26-30.
- Coelho, P.A., M. Ramos-Porto, A.V. Barreto and V.E. Costa. 1982a. Crescimento em viveiro de cultivo do camarão canela *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae). Rev. Brasil.Zool. 1(1):45-49.
- Coelho, P.A., M. Ramos-Porto, and C.M.A. Soares. 1982b Biologia e cultivo de camarão de água doce. Centro de Tecnologia do Deptº de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Série Aquacultura 1:53.
- Coelho, P.A.; M. Ramos-Porto, and C.M.A. Soares. 1981. Cultivo de camarões do gênero *Macrobrachium* Bate (Decapoda, Palaemonidae) no Brasil. EMPARN, Bol. Tec., Natal 6:1-66

- D'Abramo, L.R. and S.S. Sheen. 1994. Nutritional requirements, feed formulation practices for intensive culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Rev. Fish. Sci. 2:1-21.
- Deering, M.J., D.R. Fielder and D.R. Hewitt. 1997. Growth and fatty acid composition of juvenile leafer prawns, *Penaeus monodon*, fed different lipids. Aquaculture 151:131-141.
- FAO 2002 (Food and Agriculture Organization of the United Nations) Yearbook of fishery statistics: summary tables. FAO, Roma (via internet, <http://www.fao.org>).
- Folch, J.A., I. Ascoli, M. Lees, J.A. Meath and F.N. Lebaron. 1951. Preparation of lipid extracts from brain tissue. J. Biol. Chem. 191:838-841.
- Galois, R.G. 1984. Variations de la composition lipidique tissulaire au cours de la vitellogenese chez la crevette *Penaeus idicus* Milne Edwards. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 84:155-166.
- Gomes, M.G., N. Macha, P. Sawaya, and H.A. Carvalho. 1979. Histoquímica dos ovários de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836), nos diferentes estágios de desenvolvimento gonadal. II. Lipídeos. Bol. Fisiol. Animal. Univ. S. Paulo, 3:23-31.
- González-Peña, M. del C., A.J. Anderson, D.M. Smith and G.S. Moreira. 2002. Effect of dietary cellulose on digestion in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture. 211:291-303.
- Guest, W.C. 1979. Laboratory life history of the palaemonidae shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Decapoda: Palaemonidae). Crustaceana 37(32):141-152.
- Harrison. K.E. 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review. Journal of Shellfish Research 9:1-28.
- Katre, S. 1977. The relation between body size and number of eggs in the freshwater prawn, *Macrobrachium lamarrei* (H. Milne Edwards) (Caridea, Decapoda). Crustaceana 33:17-22.
- Lee, Fang-Yi and Ching-Fong, Chang. 1997. The concentrations of vitellogenin (vitellin) and protein in hemolymph, Ovary and Hepatopancreas in different ovarian stages of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosebergii*. Comp. Biochem physiology 147(4): 433-439.
- Lobão, V.L., E.A. Rosveso, M. Lace, and E. Hortencio. 1996. Ciclo de muda e crescimento de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) *Macrobrachium rosenbergii* (de man, 1879) (Decapoda: Palaemonidae). Bol. Inst. Pesca 23:31-45.
- Lobão, V.L., E.A. Roverso and J.V. Lombardi. 1994. Influência da densidade inicial de estocagem no desenvolvimento de *Macrobrachium rosenbergii* (de man, 1879) e *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Decapoda: Palaemonidae) em laboratório. Bol. Inst. Pesca 21:11-17.
- Lobão, V.L., N.E.T. Rojas, H.P. Barros, M. Lace, M.T. Horikawa and L.A.B.M. Lula. 1987. Determinação da densidade adequada para larvicultura de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Crustacea, Decapoda: Palaemonidae). Bol. Inst. Pesca 14:45-49.
- Lobão, V.L., N.E.T. Rojas, M. Lace and M.F.S. Magalhães. 1986. Estudo populacional de *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897) (Decapoda, Palaemonidae) do Rio Buava – SP. Bol. Inst. Pesca 2(13):37-43.
- Magalhães, C. 1985. Desenvolvimento larval obtido em laboratório de palemonídeos da Região Amazônica: I *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1962) (Crustacea, Decapoda) Amazoniana 9(2):247-274.

- Merican, Z.O., K.F. Shim. 1995. Apparent digestibility of lipid and fatty acids in residual lipids of meals by adult *Penaeus Monodon*. *Aquaculture*. 133:275-286.
- Millamena, O.M. and F.P. Pascual. 1990. Tissue lipid content and fatty acid composition of *Peneaus monodon fabricus* broodstock from the wild . *Journal of the world Aquaculture society*. 21:116-161.
- Moraes-Riodades, P.M.C. and W.C. Valenti. 1999. Carcinicultura de água doce como promotora de desenvolvimento sustentável na Amazônia. Page 160. In: Encontro de Biólogos do CRB-1,v.10, São Carlos. Resumos... São Carlos, CRB.
- Odinetz-Collart, O. 1987. La pêche crevettiere de *Macrobrachium amazonicum* (Palaemonidae) dans le Bas- Tocantins, après la fermeture du barrage de Tucuruí (Brésil). *Rev. Hydorbiol. Trop.* 20(2):131-144.
- Odinetz-Collart, O. 1991a. Strategies de reproduction de *Macrobrachium amazonicum* en America central ( Decapoda, Caridea, Palaemonidae). *J. Crust. Biol.*14(2):280-288.
- Odinetz-Collart, O. 1991b. Tucuruí dam and the populations of the prawn *Macrobrachium amazonicum* in the lower Tocantins (Pa-Brazil): a four year study. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*,25:2460-2467.
- Odinetz-Collart, O. and C. Magalhães. 1994. Ecological constraints and life history strategies of Palaemonid prawns in Amazonia. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 25:2460-2467.
- Odinetz-Collart, O. and H. Rabelo. 1996. Variation in egg size of the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). *J. Crust. Biol.* 16(4):684-688.
- Odinetz-Collart, O. and L.C. Moreira. 1993. Potencial pesqueiro do *Macrobrachium amazonicum* na Amazonia Central ( Ilha Carreiro): variação da abundância e do comprimento. *Amazoniana* .XII(3/4):399-413.
- Quintio, E.T., A. Hara, K. Yamauchi, T. Mizushima and A. Fujii. 1989. Identification and characterization of vitellin in a hermaphrodite shrimp, *Pandaluskessleri*. *Com. Biochem. Physiol.*, 94B: 445-451.
- Ravid, T., A. Tietz, M. Khayat, E. Boehm, R. Michelis, and E. Lubzens. 1999. Lipid accumulation in the ovaries of a marine shrimp *Penaeus semisulcatus* (De haan). *The J. Exp. Bio.* 202:1819-1829.
- Read, G.H.L. and M.S. Caulton. 1980. Changes in mass and chemical composition during the molt cycle and ovarian development in immature and mature *Peneaus indicus milne Edwards*. *Comparative biochemistry and Physiology* 66A:431-437.
- Ribeiro, K. 2003. Efeito dos ácidos graxos poli-insaturados sobre o desempenho reprodutivo de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862). Dissertação de Mestrado. Centro de Aqüicultura da UNESP Jaboticabal-SP 59.
- Rojas, N.E.T., V.L. Lobão, and H.P. Barros. 1990. Métodos de manutenção de larvas de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1962) (Crustacea, Decapoda: Palaemonidae). *Bol. Inst. Pesca* 17:15-26.
- Romero, M.E. 1982. Preliminary observations on potential of culture of *Macrobrachium amazonicum* in Venezuela. Pages 411-416. In: NEW, M. B. (eds) *Giant Prawn Farming*. Amsterdam, Elsevier.

- Rovero, E.A., V.L. Lobão, and M.T. Hokrikawa. 1990. Arraçoamento intensivo de pós-larvas de *Macrobrachium amazonicum* (HELLER,1862) e *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN, 1868) (Decapoda, Palaemonidae) até a fase juvenil. Bol. Inst. Pesca, São Paulo 17:91-98.
- Scaico, M.A. 1992. Fecundidade e fertilidade de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda) de um açude do Nordeste brasileiro. Bol. Inst. Pesca 19:89-96.
- Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypoclorite method. Limnology and Oceanography 14:799-810.
- Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons, 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research board of Canada. Ottawa, Canadá.
- Valenti, W.C. 1993. Freshwater prawn culture in Brazil. World Aquaculture, Baton Rouge 24(1):29-34.
- Vincent, M., L. Ramos and M. Oliva. 1988. Variations in the total carotenoid pigments in the ovary and hepatopancreas of *Penaeus schimitti* during ovarian maturation. Biochemical Systemic and Ecology 17:319-322.
- Yano, I. and Y. Chinzei. 1987. Ovary of the astaxanthin lipovitellin synthesis in kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. Comp. Biochem. Physiol., 86B: 213-218.