

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

*Aspectos Estruturais dos Testículos dos
Diferentes Morfotipos de Macrobrachium
amazonicum arraçados com dietas contendo
diferentes níveis de colesterol.*

Luciene Patrici Papa

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Aquicultura, Área de concentração em Aquicultura em águas continentais.

*Jaboticabal
São Paulo – Brasil
2003*

Papa, Luciene Patrici
P213a Aspectos estruturais dos testículos dos diferentes morfotipos de
Macrobrachium amazonicum arraçados com dietas contendo
diferentes níveis de colesterol / Luciene Patrici Papa. – – Jaboticabal,
2003
xii, 81 f. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro
de Aqüicultura da Unesp, 2003
Orientadora: Irene Bastos Franceschini Vicentini
Banca examinadora: Luiz Edivaldo Pezzato, Maíra Aparecida
Stefanini
Bibliografia

1. morfotipo. 2. colesterol. 3. *Macrobrachium*. I. Título. II.
Jaboticabal - Centro de Aqüicultura da Unesp.

CDU 639.512

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de
Jaboticabal.

lupapa@caunesp.unesp.br, lu.papa@bol.com.br

Dedico:

*Aos meus pais,
Mauro e Maria de Lourdes*

“A vocês que deixaram de realizar seus sonhos, para muitas vezes realizar os meus não bastaria apenas um Obrigada. À vocês que contribuíram para me tornar uma pessoa humilde e plenamente realizada, ofereço todas as minhas conquistas, que não serão apenas minhas, mas Nossas!!”

Ofereço:

À amiga,

Irene Bastos Franceschini Vicentini

Minha eterna gratidão pela confiança, amizade, compreensão e atenção em todas as horas. Agradeço ainda por me ensinar que a honestidade, o caráter e a vontade de mudar o mundo é o único caminho que devemos ter para sermos, acima de tudo, seres humanos.

“Talvez meio caminho andado seja a gente acreditar no que faz. Mas acima de tudo, o que mais nos incentiva, que mais nos valoriza e também mais nos torna conscientes de nossa responsabilidade, é saber que outros crêem em nós. E não há palavras que descrevam o que sentimos ao saber dos sacrifícios a que eles se impõem por crerem não apenas em nós, mas também no que cremos..”

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

A Deus e a todas as minhas proteções, pela realização de mais um sonho...

Aos membros da Banca examinadora: Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, e Profa. Dra. Máira Aparecida Stefanini pelas preciosas contribuições neste trabalho;

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini, pela grande amizade e confiança, em mim depositada, desde os primeiros momentos de minha jornada pelo mundo científico;

À Profa. Dra. Maria Terezinha Siqueira Bombonato, pela amizade, atenção e pelas valiosas sugestões e contribuições científicas;

À Profa. Dra. Margarida Maria Barros Ferreira Lima pelas inúmeras e valiosas sugestões científicas;

*Ao Prof. Wagner Cotroni Valenti pelos incansáveis esforços para que o *Macrobrachium amazonicum* seja conhecido pelo mundo científico, nos permitindo participar desta “empreitada”;*

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato pela disposição e cumplicidade nas nossas tentativas na área de nutrição de organismos aquáticos;

Ao Centro de Aquicultura da Unesp/CAUNESP, pela oportunidade de realização deste trabalho;

Ao Laboratório de Morfologia de Organismo Aquáticos – FC – Bauru, pela oportunidade de realização deste trabalho;

Ao Laboratório AquaNutri – FMVZ – Botucatu, especialmente ao amigo Giovanni Gonçalves, pela oportunidade do aprendizado na formulação das rações utilizadas neste trabalho;

Ao Setor de Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP, pela oportunidade de realização deste trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo auxílio concedido em forma de Bolsa de Mestrado;

Aos amigos que me auxiliaram na montagem e condução do experimento: Valdecir Fernandes de Lima, José Roberto Polachini, Karina Ribeiro, Patrícia Maria Contente Moraes Riodades, e Julio Marques Junior. Muito obrigada pela preciosa ajuda e coragem nas horas mais difíceis;

Aos amigos que me auxiliaram no processamento do material histológico: Karina Ribeiro, Mariana dos Santos Silva, Sabrina dos Santos Rochel e Analígia da Silva Santos pela valiosa ajuda e estímulo nas horas difíceis;

Aos amigos do Setor de Carcinicultura, Karina, Mariana, Patrícia, Marcel, Michelle, Julio, Dino, Valdecir e Roberto por me receberem e compartilharem um pouco de sua sabedoria;

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

Aos meus irmãos, Ana Valéria, Helen, João Paulo e Helena, e sobrinhos, Gustavo e Bárbara, que sofreram junto comigo nessa jornada. Saibam que este trabalho também é de vocês e obrigada por estarem todas as horas ao meu lado;

Aos meus ETERNOS amigos de Botucatu: Ana Karina, Sandra, Erik, Raquel, Virgínia, Marileide, Fernanda, Mario Roberto, Leo Gaúcho, Leo Tachibana, Giovanni, Marcos e Abílio, o que dizer além do meu MUITO OBRIGADA?

Aos meus ETERNOS amigos de Jaboticabal: Janessa, Michelle, Karina, Brenda, Eduardo, Laurindo, Alessandra, Julio, o que dizer também, além do meu MUITO OBRIGADA?

À TODOS os amigos do CAUNESP ..., pela gratificante convivência!

À minha mais nova AMIGA Mariana dos Santos Silva, pela paciência que teve comigo e grande companheirismo na realização deste trabalho;

Aos Pais da Mariana, Dona Terezinha e Dr. Marcos, por transformarem a sua casa em “minha casa” na cidade de Bauru;

Às amigas Marileide, Vânia e Gisele por também fazerem de suas república “minha casa” em Bauru. Muito Obrigada!

À todos aquele que direta ou indiretamente me auxiliaram na realização deste trabalho, o meu Muito Obrigada!

Sumário

Capítulo 1

<i>Introdução Geral</i>	01
<i>Objetivos</i>	15
<i>Referências Bibliográficas</i>	16

Capítulo 2 - Determinação dos índices gonadossomático e hepatossomático e análise estrutural dos testículos dos diferentes morfotipos de *Macrobrachium amazonicum*.

<i>Resumo</i>	24
<i>Abstract</i>	25
<i>Introdução</i>	26
<i>Material e Métodos</i>	29
<i>Resultados</i>	30
<i>Discussão</i>	39
<i>Referências Bibliográficas</i>	43

Capítulo 3 – Diferenciação morfológica de machos de camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum*: Alterações no hepatopâncreas e no sistema reprodutor.

<i>Resumo</i>	47
<i>Abstract</i>	48
<i>Introdução</i>	49
<i>Material e Métodos</i>	51
<i>Resultados</i>	52
<i>Discussão</i>	57
<i>Referências Bibliográficas</i>	60

Capítulo 4 - Análise dos índices gonadossomático e hepatossomático de machos de *Macrobrachium amazonicum* arraçoados com dietas contendo diferentes níveis de colesterol.

<i>Resumo</i>	63
<i>Abstract</i>	64
<i>Introdução</i>	65
<i>Material e Métodos</i>	68
<i>Resultados</i>	71
<i>Discussão</i>	75
<i>Referências Bibliográficas</i>	77

Capítulo 5

<i>Conclusões Gerais</i>	81
--------------------------------	----

INTRODUÇÃO

- ***Panorama da aqüicultura***

A aqüicultura vem apresentando crescimento significativo nos últimos anos, principalmente nos países em desenvolvimento. Atualmente, é responsável pela produção de 36 milhões de toneladas anuais de pescado que correspondem aproximadamente a 30% do total consumido no mundo (OSTRENSKY et al., 2000). Essa atividade desempenha papel socio-econômico importante, criando condições para um aproveitamento mais efetivo dos recursos locais, originando novos nichos econômicos, e promovendo oportunidades para novos investimentos com 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.

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 et al., 2000). Isso corresponde a mais de 20% do volume total produzido pelo setor de camarões marinhos que, historicamente, sempre foi ao redor de 5% (VALENTI, 2001).

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).

Os camarões de água doce, ainda ocupam posição inferior aos marinhos nos mercados mundiais. No entanto apresentam algumas vantagens em relação a estes últimos, tais como: maior resistência a doenças, maturação e larvicultura mais simples, independência da água salgada na fase de crescimento (engorda), sistema de produção compatível com pequenas propriedades e menor impacto ambiental (NEW, 1995; VALENTI, 1996). As últimas estatísticas oficiais da FAO mostram que, no período de 1990 a 2000, ocorreu um crescimento global da carcinicultura de água doce correspondente a 1000% (FAO, 2002).

Atualmente no Brasil, são produzidas cerca de 400 toneladas de camarões de água doce. Porém, observa-se uma retomada do interesse pela atividade no país. É necessário que os técnicos, extensionistas e produtores, assimilem as novas tecnologias disponíveis, para que a atividade volte a crescer no Brasil, seguindo a tendência internacional.

Ainda, na carcinicultura de água doce existe um potencial imenso para o policultivo com peixes. A introdução do camarão na tilapicultura, por exemplo, aumenta significativamente a rentabilidade, a um custo muito baixo (VALENTI, 2000). Estudos experimentais, seguidos de validação da metodologia em nível comercial, tem demonstrado a viabilidade técnica e econômica do policultivo da tilápia do Nilo com o camarão de água doce (SANTOS & VALENTI, 2002).

A carcinicultura de água doce praticada no mundo está embasada em espécies do gênero *Macrobrachium*. Segundo dados da FAO, entre 1990 e 2000, o volume de *Macrobrachium rosenbergii* produzido passou de 21.000 para 118.500 toneladas, correspondendo a um aumento de quase 500% (FAO, 2002). A produção da China apareceu nas estatísticas a partir de 1996 e ainda assim, o volume produzido passou

de 55.000 toneladas, em 1996 para 118.500 toneladas, em 2002 (FAO, 2002), o que representa um crescimento de 115% em apenas quatro anos. Deve-se acrescentar os dados reportados a FAO pelo Vietnã como “Outros Camarões e Crustáceos de Água Doce” (27.000t), pois quase 100% são de espécies do gênero *Macrobrachium* (NEW, 2000; VALENTI, 2001). A FAO somente apresenta dados referentes a camarões da espécie *M. rosenbergii*. No entanto cresceu o cultivo de outras espécies do gênero *Macrobrachium*, tais como *M. malcolmsonii* na Índia e, principalmente *M. nipponense*, que atingiu cerca de 100.000t na China em 2000 (MIAO & GE, 2002). Desta forma, a produção mundial de camarões de água doce ultrapassou 240.000t em 2000. Estes dados indicam que o setor cresceu mais de 1000% na última década.

Na fauna brasileira ocorrem três espécies de camarões de água doce, com grande potencial para o cultivo: *M. acanthurus*, *M. amazonicum* e *M. carcinus* (VALENTI, 1993).

Destaca-se neste estudo o *M. amazonicum*, pela sua resistência a doenças e docilidade no manuseio, pela ampla distribuição geográfica e grande interesse econômico. Estudos envolvendo a biologia reprodutiva, estratégias de procriação e aspectos ambientais correlacionados são estudados nas populações da bacia Amazônica (MAGALHÃES & WALKER, 1988; ODINETZ-COLLART, 1987; 1991a; b; WALKER, 1992; ODINETZ-COLLART & MAGALHÃES, 1994) e, da Venezuela (MONTESINO et al., 1977 apud VASQUES LÉON, 1980).

O *M. amazonicum* apresenta grande potencial para a aquicultura, pois ocorre em quase todo o território nacional. Desta forma, seu cultivo na maior parte do país, não oferece riscos de introdução de espécies exóticas na natureza por escape de viveiros de aquicultura. Este

camarão é abundante na região amazônica e muito aceito por consumidores de todas as classes sociais (MORAES-RIODADES & VALENTI, 1999). Apresenta período larval relativamente curto e abdômen maior que o cefalotórax (ROMERO, 1982). É um camarão pequeno, que atinge cerca de 12 cm de comprimento (VALENTI, 1985). No entanto, sua carne apresenta textura mais firme e sabor mais acentuado em relação à carne de *M. rosenbergii* e, por isso, apresenta maior aceitação nos mercados consumidores (MORAES-RIODADES & VALENTI, 1999).

- ***Morfologia do sistema reprodutor masculino***

O conhecimento morfológico e comportamental das gônadas de espécies do gênero *Macrobrachium* faz-se necessário para embasar estudos com relação às suas características reprodutivas. Porém a maioria dos trabalhos concernente à reprodução foi realizada em fêmeas, existindo restrição na literatura especializada no que se refere a morfologia do aparelho reprodutor masculino neste gênero. Acresce-se a este fato a carência de estudos relacionando-se a estrutura do aparelho reprodutor masculino e os diferentes morfotipos existentes (SAGI et al., 1988).

Com relação aos morfotipos de camarões de água doce, pode-se evidenciar a diferenciação morfotípica entre machos que compõem os indivíduos sexualmente maduros de uma população. Quando existe o polimorfismo dentre os machos maduros de uma população, os diferentes morfotipos podem adotar estratégias de cópula alternativas (SAGI et al., 1988). Este comportamento foi descrito para insetos (ALCOCK et al., 1977; WARD, 1983), para peixes de água doce (GROSS

& CHARNOV, 1980), para alguns mamíferos terrestres (GADGIL, 1972), e para crustáceos (RA'ANAN & SAGI, 1985; SHUSTER, 1987). Estes morfotipos representam uma hierarquia de dominância, que determina a utilização de diferentes estratégias reprodutivas, diferindo dos casos onde os indivíduos não apresentam diferenciação morfotípica e, portanto, somente uma estratégia reprodutiva é utilizada durante todo o período de vida.

Este mecanismo de diferentes estratégias de acasalamento foi descrito para indivíduos machos, sexualmente maduros, da espécie *M. rosenbergii*, onde os machos pequenos (SM) podem se transformar em machos dominantes com quela azul (BC), após a passagem pela fase intermediária de machos com quela de cor alaranjada (OC) (RA'ANAN & SAGI, 1985).

Assim, faz-se necessária à descrição da anatomia e da histologia dos sistemas reprodutores masculinos dos indivíduos dos diferentes morfotipos, tendo em vista a pouca literatura concernente às descrições estruturais em machos, para a família Palaemonidae. Estas informações se fazem necessárias para embasar estudos pertinentes à reprodução (CARVALHO, 1980).

Trabalhos com o aparelho reprodutor masculino de algumas espécies do gênero *Macrobrachium* relatam a presença de testículos, vasos deferentes e poros genitais, sendo que todas estas estruturas apresentam-se aos pares (SREEKUMAR et al, 1982; SAGI et al., 1988; VERDI & DELGADO, 1998). Porém, BUTCHER & FIELDER (1994) descrevem o aparelho reprodutor masculino de *M. australienses* compondo-se apenas de testículos e vasos deferentes, não considerando os poros genitais como parte deste aparelho. Já

CARVALHO (1980) descreveu a via espermática de *M. acanthurus* constando de testículos, canais deferentes, sacos espermatofóricos, além de citar a presença de estruturas anexas do aparelho reprodutor masculino, como glândulas androgênicas.

Dentre os camarões dulcícolas do gênero *Macrobrachium* tem existido muita controvérsia na literatura especializada com relação à organização estrutural do testículo quanto à denominação lobular e tubular. PATWARDHAM (1937), NAGAMINE (1980), SREEKUMAR et al. (1982), SAGI et al. (1988) e BUTCHER & FIELDER (1994) estudando *M. australiensis* utilizaram o termo lobular. Já outros pesquisadores como SINGH & ROY (1994) estudando *M. birmanicum*, CARVALHO (1980) estudando *M. acanthurus*, RAO et al. (1987) estudando *M. lanchestri*, VERDI & DELGADO (1998) estudando *M. borellii*, adotam o termo tubular. Ainda SREEKUMAR & ADIYODI (2001) estudando *M. idella* descreveram os testículos compostos de numerosos ácinos saculares.

Nota-se que existe muita discussão quanto à classificação testicular ser do tipo lobular ou tubular. Fato semelhante observou-se com relação à descrição da estrutura testicular em peixes de água doce (GRIER et al, 1980; GRIER, 1981; GRIER, 1992; VICENTINI et al., 2001; VICENTINI, 2002). Em peixes teleósteos definiu-se o termo lobular para testículos que apresentam lóbulos testiculares terminando em fundo cego na periferia do órgão (GRIER et al., 1980), enquanto que o termo tubular recebeu nova denominação passando a testículo do tipo tubular anastomosado designado para testículos que apresentam túbulos que se iniciam em fundo cego e apresentam luz permanente, podendo se interconectar lembrando uma anastomose (GRIER et al., 1980; VICENTINI et al., 2001).

Quanto à morfologia do aparelho reprodutor masculino em camarões de água doce, CARVALHO (1980) descreveu *Macrobrachium acanthurus* composto por testículos, vasos deferentes, saco espermatofórico e glândulas androgênicas. Nesta espécie os testículos são pares, simétricos, alongados e unidos na região mediana. Eles estão localizados no cefalotórax, dispostos sobre o hepatopâncreas e o coração.

Microscopicamente os testículos de *M. acanthurus* são providos de túbulos seminíferos enovelados, estão revestidos por uma cápsula de tecido conjuntivo. Esta cápsula é composta por uma camada externa fibrosa e outra interna frouxa. Os túbulos seminíferos, em corte transversal, apresentam-se circulares, formados por uma parede na qual se distingue o epitélio germinativo. Neste epitélio pode-se evidenciar as células da linhagem germinativa, apresentando atividade espermatogênica apenas em algumas regiões, permanecendo o restante do epitélio composto por “espermatogônias em repouso” (CARVALHO, 1980). A ampla luz tubular aparece sempre repleta de espermátides em fases avançadas da espermiogênese e/ou espermatozóides (CARVALHO, 1980).

SAGI et al. (1988) descreveram histologicamente o aparelho reprodutor masculino, dos diferentes morfotipos – SM (Small Male), WOC (Week Orange Claw), SOC (Strong Orange Claw), e BC (Blue Claw), da espécie exótica *M. rosenbergii*. Para *M. rosenbergii* os espécimes SM se transformam em OC, passando pela fase de WOC. Os espécimes OC se transformam em BC, passando pela fase de SOC. Os espécimes SM apresentam uma estratégia de cópula, denominada “copulação sorrateira” (TELECKEY, 1984). Entretanto, este detém o potencial para o crescimento somático. Esses espécimes SM ainda apresentam sistema

reprodutor relativamente grande e gônadas relativamente pesadas (SAGI & RA'ANAM, 1988). Assim, seus testículos contêm espermatozóides maduros e estão ativamente engajados em promover a espermatogênese (SAGI et al., 1988).

Quando os espécimes, de *M. rosenbergii*, SM tornam-se OC, ocorre aumento no peso relativo do hepatopâncreas e redução do peso relativo das gônadas (SAGI & RA'ANAN, 1988; SAGI et al., 1988). Dois fatores paralelos ocorrem nos testículos dos espécimes OC os quais indicam uma natureza intermediária nesse morfotipo: (1) os espermatozóides maduros, encontrados em testículos de espécimes SM, são extremamente reduzidos, chegando a desaparecer totalmente em espécimes OC. Embora o espécime OC seja sexualmente inativo, ocorre rápido crescimento corpóreo até alcançar a aparência e tamanho do morfotipo dominante, BC; (2) a taxa do processo de espermatogênese aumenta na fase em que os espécimes se encontram no morfotipo OC (SAGI et al., 1988).

O testículo dos machos dominantes (BC) contém apenas espermatozóides maduros, enquanto a zona espermatogênica desaparece e, portanto, a espermatogênese termina (SAGI et al., 1988). Assim, os testículos dos machos BC são exclusivamente para estocagem de espermatozóides, sendo que esta característica complementa o "status" de dominância reprodutiva deste morfotipo (RA'ANAN & SAGI, 1985). Desta forma, os machos SM produzem e estocam espermatozóides, enquanto que os espécimes OC somente produzem espermátocitos, e os espécimes BC apenas estocam espermatozóides (SAGI et al., 1988).

Segundo PATWARDHAM (1937) e SREEKUMAR et al. (1982), anatomicamente o sistema reprodutor masculino de *M. rosenbergii* consiste de um par de testículos, ductos deferentes e poros genitais. Os testículos apresentam-se como estruturas alongadas, unidas na região anterior, estando situados na face dorsal do hepatopâncreas e coração.

Microscopicamente os testículos de *M. rosenbergii* apresentam lóbulos contendo cilindros compactados e unidos por tecido conjuntivo, existindo diferença neste compartimento entre os diferentes morfotipos (SAGI et al., 1988). Os testículos dos morfotipos SM e OC estão envolvidos por epitélio pavimentoso. Parte desse epitélio apresenta-se estratificado e inclui células de vários tamanhos, formando a zona espermatogênica. Esta zona apresenta células germinativas tanto de atividade espermatogênica quanto de maturação de espermatozóides, que se situam no lúmen de cada cilindro (SAGI et al., 1988).

A transição para o morfotipo SOC está marcada por atividade espermatogênica dos testículos, caracterizada por espessa zona espermatogênica na parede lobular. Os cilindros testiculares contêm espermatócitos com aparência uniforme no tamanho, na forma e nas características histológicas. Cada cilindro apresenta espermatócitos no mesmo grau de desenvolvimento, porém esse grau pode variar entre os cilindros, provavelmente, correspondendo em um estágio espermatogênico (SAGI et al., 1988). Nos espécimes do morfotipo BC, os testículos contêm quase que exclusivamente espermatozóides maduros, sendo que não há atividade espermatogênica (SAGI et al., 1988).

RAO et al. (1987) descrevem os testículos de *M. lanchestrii*, apresentando-se recoberto por uma cápsula de tecido conjuntivo denso. Este órgão está constituído por numerosos lóbulos que variam de tamanho. Estes lóbulos estão separados entre si, por uma delgada membrana limitante. Em determinados locais os lóbulos estão revestidos por tecido conjuntivo frouxo e podem estar interconectados. Entre os lóbulos testiculares observam-se sinusóides de hemolinfa. Cada lóbulo testicular apresenta-se repleto de células germinativas em diferentes estágios de desenvolvimento, dispostas ao acaso. Os autores enfatizam que não há grandes variações nos testículos em relação ao tamanho dos camarões desta espécie, sendo que todos os animais apresentam atividade espermatogênica.

Para *M. borellii*, os testículos foram descritos como órgãos pares, de coloração branco leitosa e de formato tubular, com localização sobre o tubo digestivo médio e abaixo do coração. Este órgão encontra-se limitado por uma fina camada de epitélio pavimentoso, composto por células de núcleo achatado. Abaixo deste epitélio encontra-se a zona germinativa onde estão localizadas as células da linhagem espermatogênica (VERDI & DELGADO, 1998). A zona germinativa está em posição lateral e periférica nos túbulos seminíferos, formada pelas células germinativas mais imaturas, as espermatogônias primárias e secundárias, e os espermatozóides encontram-se na zona luminal dos túbulos seminíferos (VERDI & DELGADO, 1998).

- ***Células da linhagem Germinativa***

Os testículos abrigam as células germinativas que são responsáveis pela perpetuação da espécie, devido ao seu potencial de transmissão

dos caracteres hereditários. São escassas as informações que abordam a descrição das células da linhagem espermatogênica.

CARVALHO (1980) descreve as células da linhagem espermatogênica de *M. acanthurus*. Nesta espécie as espermatogônias são células cúbicas, com citoplasma pouco visível e núcleo ovalado ou alongado. O núcleo apresenta cromatina em filamentos e grumos grosseiros aderidos a região da carioteca. Este tipo celular ocorre ao longo de toda a parede do túbulo seminífero, embora somente as células posicionadas em um dos setores tubulares apresentem espermatogênese. As células germinativas, presentes na parede do túbulo seminífero que apresentam as mesmas características estruturais citadas anteriormente, e que não apresentam atividade espermatogênica, são denominadas de “espermatogônias em repouso”. Admite-se que uma vez cessada a maturação celular de um setor tubular, outro setor recomeça a divisão celular, garantindo assim a continuidade do processo espermatogênico. Com relação a *M. borellii*, VERDI & DELGADO (1988) enfatizam a presença de espermatogônias primárias e secundárias como sendo células grandes com relação núcleo-citoplasma alta. O seu núcleo é esférico e o citoplasma apenas se observa como um anel perinuclear claro e sem estruturas intracitoplasmáticas visíveis em nível de microscopia de luz.

Com relação aos espermatócitos primários de *M. acanthurus*, estas células apresentam citoplasma reduzido e pouco visível. Seu núcleo é esférico ou ovalado e volumoso, com a cromatina mais condensada do que nas espermatogônias. Essa cromatina se distribui em filamentos e em grumos grosseiros podendo estar aderidos ou não a carioteca. Estas células representam os tipos celulares mais freqüentes no epitélio de maturação e muitas delas acham-se em divisão celular, sendo nítidas as

diversas fases da prófase I da meiose em que se encontram (CARVALHO, 1980). Os espermatócitos secundários são tipos celulares de difícil visualização devido a sua rápida divisão, formando as espermatídes. Estas últimas células estão situadas na porção mais interna do epitélio germinativo. Seu núcleo é escuro, com cromatina condensada em grandes grumos (CARVALHO, 1980).

As espermatídes sofrem profundas alterações durante a espermiogênese. Esse tipo celular quando jovem, está situado na porção interna do epitélio germinativo, apresentando forma ovalada, com citoplasma uniforme, granuloso e levemente basófilo. O seu núcleo é arredondado, excêntrico e homogêneo. Estas células quando maduras estão no lúmen do túbulo seminífero apresentando-se polimórficas. A variação na forma da espermatíde ocorre devido às profundas modificações pelas quais o núcleo passa, transformando-se de arredondado a elíptico. Assim, constitui formato de taça, onde se inicia a formação do pescoço e cauda do espermatozóide (CARVALHO, 1980).

Os espermatozóides são células que ocupam a luz tubular, o canal deferente e o saco espermatofórico. São células pequenas e imóveis, e apresentam cabeça em formato de taça, com pescoço curto e cauda em forma de espinho (CARVALHO, 1980).

- ***Colesterol***

Os conhecimentos do sistema endócrinos e da genética em espécies do gênero *Macrobrachium* constituem subsídios para a indução de taxas de crescimento mais elevadas destes animais. A implicação desses sistemas no comportamento reprodutivo das espécies, por sua

vez, pode favorecer a elaboração de técnicas de manejo reprodutivo com aplicação na aqüicultura (GOLDBERG & OSHIRO, 2000).

O colesterol é um importante esteroide animal que ocorre livre ou quimicamente ligado aos ácidos graxos, sendo componente básico das biomembranas e importante para a manutenção da função e estrutura celular (GONG et al., 2000). Trata-se de um precursor de numerosos componentes fisiológicos, como hormônios sexuais, hormônios de muda, corticóides adrenais, ácidos biliares e vitamina D (SHEEN, 2000). A maioria dos animais pode sintetizar o colesterol através do acetato, mas o mesmo não ocorre com os crustáceos que se mostram incapazes de sintetizar colesterol *de novo* (KANAZAWA & TESHIMA, 1971; TESHIMA & KANAZAWA, 1979a; 1979b; TESHIMA, 1972). Assim, o colesterol deve ser considerado essencial para o bom desenvolvimento e sobrevivência dos crustáceos (SHEEN, 2000; GONG, et al., 2000).

O colesterol é o precursor da síntese de hormônios esteróides (KANAZAWA & TESHIMA, 1971) os quais implicam no desenvolvimento de características sexuais, mobilização de reservas de nutrientes, gonadogênese e gametogênese (TESHIMA & KANAZAWA, 1979a; 1979b; VEITH & MALECHA, 1983). Durante a maturação testicular o colesterol é mobilizado do hepatopâncreas (LAUTIER & LAGANIGUE, 1988) e/ou músculo (TESHIMA & KANAZAWA, 1988), e é transportado para as gônadas. Entretanto, a reserva de colesterol pode não ser suficiente. Assim, sua suplementação durante a maturação gonadal é exigida para que ocorram a gonadogênese e a gametogênese.

Pesquisas envolvendo nutrição de crustáceos têm demonstrado a necessidade de suplementação de colesterol na dieta para o crescimento de diferentes espécies deste grupo animal, como juvenis de camarão

Litopenaeus japonicus, da lagosta americana *Homarus americanus*, e crustáceos planctônicos (TESHIMA, 1985; 2000).

Segundo SHEEN (2000) o colesterol é essencial aos crustáceos, sendo necessária sua suplementação nas dietas. KANAZAWA & TESHIMA (1971) observam que juvenis de *P. japonicus*, alimentados com dieta contendo 0,5% de colesterol obtiveram melhor crescimento. No entanto, outros pesquisadores obtiveram melhor crescimento, desta espécie, com dietas contendo 0,2% (SHUDO et al., 1971) e 2,1% (DESHIMARU & KUROKI, 1974) de colesterol. Ainda utilizando a mesma espécie *P. japonicus*, estudos realizados em laboratório, concluíram que a adição de colesterol em níveis que variam entre 0,5% a 2,0% se mostra como mais adequados (TESHIMA, 2000).

D'ABRAMO et al. (1984) encontram crescimento satisfatório para juvenis de *Homarus americanus* alimentados com dietas contendo entre 0,19% e 0,59% de colesterol. KEAN et al. (1985) reavaliam a exigência ótima de colesterol para *H. americanus*, estabelecendo níveis que variam entre 0,25% a 0,50% na dieta. Já para *Pacifastacus leniusculus* D'ABRAMO et al. (1985) observam melhor crescimento com a adição de 0,40% de colesterol na dieta.

Estudos realizados com o camarão branco *Peneaus vannamei*, indicaram melhor crescimento quando as dietas continham entre 0,23% a 0,42% de colesterol (DUERR & WALSH, 1996). EMERY (1987) reportou que a pós-larva de *P. vannamei* exige 0,5% de colesterol na dieta para melhor crescimento corpóreo.

Para juvenis do camarão de água doce *M. rosenbergii*, a suplementação de 0,50% a 1,0% de colesterol, numa dieta contendo

0,12% de colesterol, não promoveu o crescimento significativo (BRIGGS et al., 1988).

Apesar de ser conhecida a necessidade de suplementação de colesterol na dieta de crustáceos, por estes não serem metabolicamente hábeis a neo-síntese da substância (KANAZAWA & TESHIMA, 1971) nenhum estudo foi realizado sobre o impacto da deficiência de colesterol na produção de hormônios esteróides.

OBJETIVOS

Na tentativa de esclarecer a relação direta entre a maturidade sexual e o desenvolvimento do camarão *Macrobrachium amazonicum*, propôs-se uma análise morfológica das gônadas dos machos de *M. amazonicum* nas diferentes fases de desenvolvimento sexual. Esta informação básica é imperativa para qualquer tentativa de controle do processo reprodutivo em camarões.

De posse dessas informações, avaliou-se as características estruturais do testículo frente à administração de quatro dietas com diferentes concentrações de colesterol. Desta forma pretendeu-se verificar a importância do colesterol ao desempenho reprodutivo e ao ganho de peso dos machos de *M. amazonicum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCOCK, J.; JONES, E.; BUCHMANN, S.L. Male mating strategies in the bee *Centris pallida* Fox (Anthrophoridae: Hymenoptera). **Am. Nat.** v.111, p.145-155, 1977.

BAILEY, C. Aquaculture and basic human needs. **World Aquaculture**, Baton Rouge, v.28, n.3, p.28-31,1997.

BRIGGS, M.R.P.; JAUNCEY, K.; BROWN, J.H. The cholesterol and lecithin requeriments of juveline prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) fed semi-purified diets. **Aquaculture**, v. 70, p. 121-129, 1988.

BUTCHER, A.R. & FIELDER D.R. The reproductive anatomy of male freshwater prawns *Macrobrachium australiense* (Holthuis, 1890) in Southheast Queensland. **Invertebr. Repord. Dev.** v.26, n.3, p. 205-212, 1994.

CARVALHO, H.A. Morfologia do Aparelho Reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN, 1863) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE). Parte I – Masculino: **Ciência e Cultura**, v.32, n.7, 1980.

D'ABRAMO, L.R.; BORDNER, C.E.; CONKLIN, D.E., BAUM, N.A. Sterol requirement of juvenile lobsters, *Homarus* sp. **Aquaculture**. v.42, p.13-25, 1984.

D'ABRAMO, L.R.; WRIGTH, J.S.; WRIGHT, K.H.; BORDNER, C.E.; CONKLIN, D.E. Sterol requirements of cultured juveline crayfish *Pacifasticus leniusculus*. **Aqualculture**, v.49, p. 245-255, 1985.

DESHIMARU, O. & KUROKI, K. Studies on a purified diet for prawn: II optimum contents of cholesterol and glucosamine in the diet. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.** v.40, p.421-424, 1974.

DUERR, E.O. & WALSH, W.A. Evaluation of cholesterol addition to a soyabean meal-based diet for juvenile Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone), in an outdoor growth trial. **Aquaculture**. v.2, p.111-116, 1996.

EMERY, A.E. The cholesterol and lecithin requirement of the marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. **Ms Thesis**, Department of Wild Life and Fisheries Sciences, Texas A&M University, College Station, TX, USA, 1987.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Yearbook of fishery statistics: summary tables. **FAO**, Roma (<http://www.fao.org>).

GADGIL, M. Male dimorphism as a consequence of sexual selection. **Am. Nat.** v.106, p.574-580, 1972.

GOLDBERG, R.S. & OSHIRO, L.M.Y. Eficiência da Eletroejaculação de morfotipos machos do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*. **Rev. Brás. Zootec.** v. 29, n.1, p.1-5, 2000.

GONG, H.; LAWRENCE, A.L.; JIANG, D.H.; CASTILLE, F.L.; GATLIN III, D.M. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei*. I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. **Aquaculture**. v. 190, p.305-324, 2000.

GRIER, H.J. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. **Amer. Zool.** v.21, p.354-357, 1992.

GRIER, H.J. Chordate testis: The extracellular matrix hypothesis. **Amer. Zool.** v.261, p.151-160, 1981.

GRIER, H.J., LINTON, J.R., LEATHERLAND, J.F. DE VLAMING, V.L. Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. **Amer. J. Anat.** v.159, p. 331-345, 1980.

GROSS, M.R. & CHARNOV, E.L. Alternative male histories in bluegill sunfish. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v.77, p.136-141, 1980.

HARRISON, K.E. Broodstock Nutrition and Maturation Diets. In: New, M.B. & Valenti, W. C. (ed.) **Freshwater Prawn Culture: The farming of *Macrobrachium rosenbergii***. Oxford, Blackwell Science .p.390-408, 2000.

KANAZAWA, A. & TESHIMA, S. In vivo conservation of the cholesterol to steroid hormones in the spiny lobites *Panelirus japonicus*. Bulletin of the Japanese Society of Science Fisheries. v.37, p.891-897, 1971.

KANAZAWA, A.; TANAKA, N.; TESHIMA, S. KASHIWADA, K. Nutricional requeriments of prawn: II Requeriment for sterol. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.** v. 37, p. 211-215, 1971.

KEAN, J.C.; CASTELL, J.D.; BOGHEN, A.G.; D'ABRAMO, L.R.; CONKLIN, D.E. A re-evaluation of the lecithin and cholesterol requirements of juvenile lobster (*Homarus americanus*) using crab protein based diet. **Aquaculture**, v.47, p.143-149, 1985.

LAUTIER, J. & LAGANIGUE, J.C. Lipid metabolism of the crab *Pachygrapsus mamoratus* during the vitelogenesis. **Biochemical Systematic and Ecology**. v.16, p.203-212, 1988.

MAGALHÃES, C. & WALKER, I. Larval development and ecological distribution of central amazonian palaemonid shrimps (Decapoda Caridea). **Crustaceana**, v.55, n. 3, p. 279-292, 1988.

MONTESINO, H., MARCANO, L., ROJAS, A. & VALLEJO, A. Sobre o cultivo del camarón de río *Macrobrachium carcinus* en Venezuela. In: I Simpósio Asociación Latinoamericana de Acuicultura. **Resumos I Simp. Asoc. Latinoamer. Acuicul.** v.5, 12 nov. Maracay, Venezuela, 1977. (Apud In VÁSQUES LEÓN, 1980).

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

NAGAMINE, C.; KNIGHT, A.W.; MAGGENTI, A.; PAXMAN, G. Effects of androgenic gland ablation on male primary and secondary sexual characteristics in the Malaysian Prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda, Palaemonidae) with first evidence of induced feminization in a nonhermaphroditic decapod. **Gen. Comp. Endocrinol.** V.41, p.423-441, 1980.

NEW, M. B.. **History and global status of freshwater prawnfarming** In: New, M. B. & Valenti, W. C. (ed.) *Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii*. Oxford, Blackwell Science. p. 1-11, 2000

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

NEW, M.B.; D'ABRAMO, L.R.; VALENTI, W.C. & SINGHOLKA, S. Sustainability of Freshwater Prawn Culture In: New, M.B. & Valenti, W. C. (ed.) **Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii**. Oxford, Blackwell Science .p.429-434, 2000.

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

ODINETZ-COLLART, O. La pêche crevettière de *Macrobrachium amazonicum* (Palaemonidae) dans le Bas-Tocantins, après la fermeture du barrage de Tucuruí (Brésil). **Rev. Hydorbiol. Trop.**, v.20, n.2, p. 131-144, 1987.

ODINETZ-COLLART, O. Stratégie de reproduction de *Macrobrachium amazonicum* en Amérique centrale (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). **J. Crust. Biol.**, v. 14, n. 2, p. 280-288, 1991a.

ODINETZ-COLLART, O. Tucuruí dam and the populations of the prawn *Macrobrachium amazonicum* in the lower Tocantins (Pa-Brazil): a four year study. **Verh. Internat. Verein. Limnol.**, v.25, p. 2460-2467, 1991b.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R. PEDINI, M. **Situação atual da aqüicultura brasileira e mundial.** In: VALENTI, W. C. 2000.

PATWARDHAM, S.S. *Palaemon* (The Indian river prawn). **Indian. Zool. Men.** v.6, p.1-102, 1937.

RA'ANAN, Z. & SAGI, A. Alternative mating strategies in male morphotypes of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). **Biol. Bull.** v.169, p.592-601, 1985

RAO, K.M., SHAKUNTALA, K., REDDY, S.R. Histology of the male reproductive system of the prawn *Macrobrachium lanchesteri* (Custacea: Decapoda). **J. Indian Inst. Sci.**, v.67, p. 29-41, 1987.

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

SAGI, A. & RA'ANAM Z. Morphotopic differentiation of males of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: changes in the midgut glands and the reproduction system. **Journal of Crustacean Biology.** v.8, n.1, p.43-47, 1988.

SAGI, A.; MILNER, Y.; COHEN, D. Spermatogenesis and sperm storage in the testes of behaviorally distinctive male morphotypes of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). **Biol.. Bull.** v. 174, p. 330-336, 1988.

SANTOS, M.J. & VALENTI, W.C. Production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* stocked at different densities in polyculture systems in Brazil. **J. World Aquac. Soc.** v.37, n.3 (no prelo)2002.

SHEEN, S.S. Dietary cholesterol requirement of juvenile mud crab *Scylla serrata*. **Aquaculture.** v. 189, p.277-285, 2000.

SHUDO, k.; NAKAMURA, K.; ISHIKAWA, S.; KITABAYASHI, K. Studies on the growth promoting effects of both squid liver oil and cholesterol. **Bull. Tokai Reg. Fish Res. Lab.** v. 65, p. 129-137, 1971.

SHUSTER, M.S. Alternative reproductive behaviours: three discrete male morphs in *Paracerceis sculpta*, an intertidal isopod from the northern Gulf of California. **J. Crust. Biol.** v.7, p.318-327, 1987.

SINGH, S.R. & ROY, D. Reproductive cycle of the freshwater prawn *Macrobrachium birmanicum* choprai (Tiwari). **Asian Fish. Sci.**, v.7, n.2-3, p. 77-89, 1994.

SREEKUMAR, S. & ADIYODI, R.G. Progress of spermatogenesis through various stages of molting cycle in the freshwater shrimp, *Macrobrachium idella* (Hilgendorf): A light microscopic study. **Uttar Pradesh J. of Zool.** v.21, n.1, p.5-10, 2001.

SREEKUMAR, S.; ADIYODI, R.G.; ADIYODI, K.G. Aspects of sperm production of *Macrobrachium* sp. Giant Prawn. In: NEW, M. B. (eds) Giant Prawn Farming. **Elsevier**, p.83-89, 1982.

TELECKEY, J.M. Alternate male reproductive strategies in the Giant Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Pacific Science.** v.38, p. 372-373, 1984.

TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. Bioconcentration of progesterone by the ovaries of crab *Portunus trituberculatus*. **General and Comparative Endocrinology.** v.17, p.152-157, 1979b.

TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. Biosynthesis of cholesterol in the lobster *Panulirus japonica*, the prawn *Peneaus japonicus* and the crab *Portunus trituberculatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology.** v.38B, p.597-602, 1979a.

TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. Digestibility of dietary lipids and cholesterol in the prawn. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries.** v.49, p.963-966, 1983.

TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. Necessity of dietary sterols and phospholipid for growth of the prawn, *Penaeus japonicus* Bate. In. New and innovative advances in biology/engineering with potential for use in aquaculture., p.15-20, 1988.

TESHIMA, S. Lipid In: YONE, Y. (ed) Fish nutrition and diets. **Suisangaku Series n. 54**, Tokyo, Japan, p.20-30, 1985.

TESHIMA, S. Phospholipids and Sterol. In:New, M.B. & Valenti, W. C. (ed.) **Freshwater Prawn Culture: The farming of *Macrobrachium rosenbergii***. Oxford, Blackwell Science .p.429-434, 2000.

TESHIMA, S. Sterol metabolism. **Memoirs of the Faculty of Fisheries**, Kagoshima University, v. 21, p. 69-147, 1972.

VALENTI, W.C. A modernização da carcinicultura de água doce. Revista da Associação Brasileira dos Criadores de Camarões, ano III, n1, 2001.

VALENTI, W.C. Criação de camarão em águas interiores. **Bol. Téc.** v. 2, p.81, 1996.

VALENTI, W.C. **Cultivo de camarão de Água Doce**. São Paulo, Nobel, pp.82, 1985.

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

VEITH, W.J. & MALECHA, S.R. Histochemical study of the distribution of lipids 3 α e 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in the androgenic gland of the cultured prawn *macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Crustacea, Decapoda). **South African Journal of Science**. v.79, p.83-85, 1983.

VERDI, A. & DELGADO, E. Microestructura del aparato reproductor masculino de *Macrobrachium borellii* (Nobili, 1896) (Crustácea, Caridea, Palaemonidae), **Rev. Bras. Biol.** v. 58, p. 343-348, 1998.

VICENTINI, C.A. Estrutura comparativa da espermatogênese em peixes neotropicais, *Prochilodus scrofa*, *Astyanax scabripinnis* e *Phalloceros caudimaculatus* (Pisces, Teleostei), **Tese de Livre docente**, Bauru-SP, pp.102, 2002.

VICENTINI, C.A.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; ORSI, A.M.; BENETTI, E.J. Testicular ultrastructure and morphology of the seminal pathway in *Prochilodus scrofa*. **J. Submicrosc. Cytol. Pathol.** v.33, n.3, p.357-362, 2001.

WALKER, I. Life history traits of amazonian inlandwaters and their phylogenetic interpretation. **Studies on neotropical fauna and environment.** v. 27, n.2/3, p.131-143, 1992.

WARD, P.I. The effect size on the mating behavior of the dung fly, *Sepsis cynipsea*. **Behav. Ecol. Sociobiol.** v.13, p.75-80, 1983.

DETERMINAÇÃO DOS ÍNDICES GONADOSSOMÁTICO E
HEPATOSSOMÁTICO E ANÁLISE ESTRUTURAL DOS TESTÍCULOS
DOS DIFERENTES MORFOTIPOS DE *Macrobrachium amazonicum*

RESUMO

O camarão *Macrobrachium amazonicum* tem sido explorado comercialmente através da pesca artesanal na América do Sul. Devido ao seu grande potencial na aquicultura, um programa multidisciplinar foi estabelecido recentemente, visando à obtenção de tecnologia para a produção. Enfatizando os processos reprodutivos, detalhes estruturais do sistema reprodutivo em camarões de água doce ainda não foram totalmente elucidados e com isso, dificultam quaisquer tentativas para controle do processo reprodutivo. Deste modo, este trabalho tem como objetivo caracterizar o sistema reprodutivo de machos de *M. amazonicum*, de acordo com os quatro morfotipos já descritos para esta espécie. Estes quatro morfotipos foram estabelecidos de acordo com a coloração, forma e espinhação do segundo par de pereiópodos (quela), comprimento dos própodos e da carapaça, e são denominados: Translucent Claw (TC), Cinnamon Claw (CC), Green Claw' (GC ') e Green Claw (GC). Os índices Gonadossomático (IGS) e Hepatossomático (IHS) foram determinados para 10 machos de cada morfotipo, que foram caracterizados pelas características externas. O sistema reprodutor foi retirado, fixado e processado em rotina histológica. A análise estatística (SAS) mostrou os seguintes resultados ($p < 0.05$): $CC < (TC = GC' = GC)$ para IGS; e $TC < (GC' = GC)$ para IHS. As análises histológicas entre os quatro morfotipos evidenciaram as mesmas características morfológicas para os morfotipos GC' e GC. Baseados nestes resultados sugere-se apenas só três morfotipos para o camarão de água doce *M. amazonicum*: TC, CC e GC.

Palavras-chaves: *Macrobrachium amazonicum*, machos, morfotipos, estrutura testicular

ABSTRACT

Macrobrachium amazonicum has been exploited by artisan fisheries in South America. Because of its great aquaculture potential, a recent multidisciplinary program was established to improve farming techniques. Despite this and the emphasis on reproductive processes, structural details on prawn reproductive system are still not well understood and make difficult any attempt to control its reproduction. Thus, this study attempted to characterize the reproductive system of *M. amazonicum* males according to the four developmental morphotypes described in other *Macrobrachium* species. These four morphotypes are established according to coloration, second pereopod (claw) shape and spination, and propodus and carapace lengths, and are named: Translucent Claw (TC), Cinnamon Claw (CC), Green Claw' (GC') and Green Claw (GC). The gonadosomatic (GSI) and hepatosomatic (HSI) indices were determined for 10 prawns in each morphotype, which were unequivocally characterized by these traits. Their testes were then fixed for histological routine. Statistical analyses (SAS) showed the following results ($p < 0.05$): $CC < (TC = GC' = GC)$ for GSI; and $TC < (GC' = GC)$ for HSI. Histological analyses among the four morphotypes showed the same morphological characteristics for GC' and GC. Based on these results we suggest only three morphotypes for the freshwater prawn *M. amazonicum*: TC, CC and GC.

Key-words: *Macrobrachium amazonicum*, males, morphotypes, testicular structure

INTRODUÇÃO

A criação de camarões de água doce é um dos setores da aqüicultura que mais cresceu nos últimos anos, em nível mundial (NEW, 2000; VALENTI, 2001). 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).

A carcinicultura de água doce praticada no mundo está embasada em espécies do gênero *Macrobrachium*. Segundo dados da FAO, entre 1990 e 2000, o volume de *Macrobrachium rosenbergii* produzido passou de 21.000 para 118.500 toneladas, correspondendo a um aumento de quase 500% (FAO, 2002). A produção da China apareceu nas estatísticas a partir de 1996 e ainda assim, o volume produzido passou de 55.000 toneladas, em 1996 para 118.500 toneladas, em 2002 (FAO, 2002), o que representa um crescimento de 115% em apenas quatro anos. Deve-se acrescentar os dados reportados a FAO pelo Vietnã como “Outros Camarões e Crustáceos de Água Doce” (27.000t), pois quase 100% são de espécies do gênero *Macrobrachium* (NEW, 2000; VALENTI, 2001). A FAO somente apresenta dados referentes a camarões da espécie *M. rosenbergii*. No entanto cresceu o cultivo de outras espécies do gênero *Macrobrachium*, tais como *M. malcolmsonii* na Índia e, principalmente *M. nipponense*, que atingiu cerca de 100.000t na China em 2000 (MIAO & GE, 2002). Desta forma, a produção mundial de camarões de água doce ultrapassou 240.000t em 2000. Estes dados indicam que o setor cresceu mais de 1000% na última década.

Na fauna brasileira existe uma espécie de camarão de água doce com grande potencial para o cultivo, o *M. amazonicum* (VALENTI, 1993), devido a sua resistência a doenças e docilidade no manuseio, pela ampla distribuição geográfica e grande interesse econômico. Estudos envolvendo a biologia reprodutiva, estratégias de procriação e aspectos ambientais correlacionados vêm sendo realizados nas populações da bacia Amazônica (MAGALHÃES & WALKER, 1988; ODINETZ-COLLART & MAGALHÃES, 1994).

O conhecimento morfológico e comportamental das gônadas de espécies do gênero *Macrobrachium* faz-se necessário para embasar estudos com relação às suas características reprodutivas. Porém, a maioria dos trabalhos concernentes à reprodução foi realizada em fêmeas, existindo restrição na literatura especializada no que se refere a estudos sobre a morfologia do aparelho reprodutor masculino neste gênero. Acresce-se a este fato a carência de estudos relacionando-se a estrutura do aparelho reprodutor masculino e os diferentes morfotipos existentes (SAGI et al., 1988).

Assim, faz-se necessária à descrição da morfologia dos órgãos reprodutores masculinos dos diferentes morfotipos, tendo em vista a pouca literatura concernente às descrições estruturais em machos, principalmente para a família Palaemonidae. Estas informações se fazem necessárias para embasar estudos pertinentes à reprodução (CARVALHO, 1980).

Trabalhos morfofuncionais sobre o aparelho reprodutor masculino de algumas espécies do gênero *Macrobrachium* relatam a presença de testículos, vasos deferentes e poros genitais, sendo que todas estas

estruturas apresentam-se aos pares (CARVALHO, 1980; SREEKUMAR et al., 1982; SAGI et al., 1988; VERDI & DELGADO, 1998).

SAGI et al. (1988) descrevem a relação entre os morfotipos e a maturidade testicular de *M. rosenbergii*. Desta forma observam três morfotipos Small Male (SM), Orange Claw (OC) e Blue Claw (BC). Segundo esses autores, os testículos dos espécimes SM apresentam tanto produção como estocagem de espermatozóides. Os testículos dos machos OC não apresentam produção de espermatozóides, somente de espermátócitos, enquanto nos espécimes BC se observa apenas a estocagem de espermatozóides.

Para *M. amazonicum* a descrição dos morfotipos foi realizada por MORAES-RIODADES (2002), baseada em descrição morfológica externa. Desta forma, caracterizam-se quatro morfotipos, Translucent Claw (TC), Cinnamon Claw (CC), Green Claw *linha* (GC') e Green Claw (GC). Os quatro morfotipos caracterizados incluem: (1) machos pequenos com quelas translúcidas (TC), (2) machos pequenos e intermediários com quelas de coloração caramelo (CC), (3) machos grandes, com crescimento do corpo acentuado, apresentando quelas de coloração esverdeada (GC'), e (4) machos grandes que representam o desenvolvimento final morfotípico, com taxa de crescimento reduzido, e mudas não freqüentes, apresentando quela de coloração verde (GC) (MORAES-RIODADES, 2002). Porém não existem trabalhos relacionando a morfologia testicular de *M. amazonicum* com os morfotipos existentes.

No sentido de esclarecer a relação direta entre a maturidade sexual e o desenvolvimento morfotípico, essa pesquisa tem como objetivo uma análise histológica do aparelho reprodutor masculino nos

diferentes morfotipos do camarão *Macrobrachium amazonicum*, bem como a verificação da maturação gonadal e ganho de peso através da análise dos Índices Gonadossomático (IGS) e Hepatossomático (IHS).

MATERIAL E MÉTODOS

Para a presente investigação realizou-se arrasto com rede de malha de 6 mm, para a captura dos 40 machos de camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum*. Estes animais constituíam a segunda geração de animais provenientes do Pará que se encontravam nos viveiros do Setor de Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP – CAUNESP. Os animais foram selecionados, em grupos de 10 espécimes de acordo com cada um dos quatro morfotipos: Translucent Claw (TC), Cinnamon Claw (CC), Green Claw *linha* (CG') e Green Claw (GC), descritos por MORAES-RIODADES (2002).

- ***Determinação dos Índices Gonadossomático (IGS) e Hepatossomático (IHS)***

Os animais foram mortos por choque térmico, realizaram-se as pesagens iniciais do corpo dos animais coletados. Posteriormente, procedeu-se a dissecação dos animais com a finalidade da retirada do testículo e do hepatopâncreas de cada espécime. Foi realizada então, a pesagem individual de cada órgão retirado para avaliação da porcentagem destes em relação ao peso total do animal estabelecendo, portanto, o IGS e o IHS segundo a equação a seguir:

$$\text{IGS ou IHS (\%)} = \frac{\text{Peso órgão}}{\text{Peso total}} \times 100$$

O delineamento experimental foi inteiramente casualizados com 10 réplicas (machos) por morfotipo. A partir dos resultados, realizou-se Análise de Variância (GLM) e teste de Tukey a 5% ($P < 0,05$). Para a conformidade dos resultados utilizou-se o programa SAS (1995).

- **Análise das características estruturais dos testículos nos diferentes morfotipos:**

Todos os órgãos reprodutores coletados foram fixados em formol tamponado a 10% para posterior inclusão em historesina (Reichert-Jung, Alemanha). Em seguida, realizou-se a microtomia do material para obtenção de secções de $2\mu\text{m}$, que posteriormente foi corados com Hematoxilina/Eosina para análise das características estruturais dos testículos nos diferentes morfotipos. A análise e a fotodocumentação foi realizada em fotomicroscópio Olympus B Max-50.

RESULTADOS

- **Determinação dos Índices Gonadossomáticos (IGS) e Hepatossomático (IHS)**

O camarão de água doce *M. amazonicum* apresenta diferenciação morfológica acompanhada de crescimento corpóreo (Fig. 1). Verifica-se que há diferença significativa ($p < 0,05$) do tamanho corpóreo entre os morfotipos TC, CC, GC' e GC ($3,49\text{g} \pm 0,4$, $5,47\text{g} \pm 0,6$, $7,66\text{g} \pm 0,57$ e $8,60\text{g} \pm 0,33$, respectivamente).

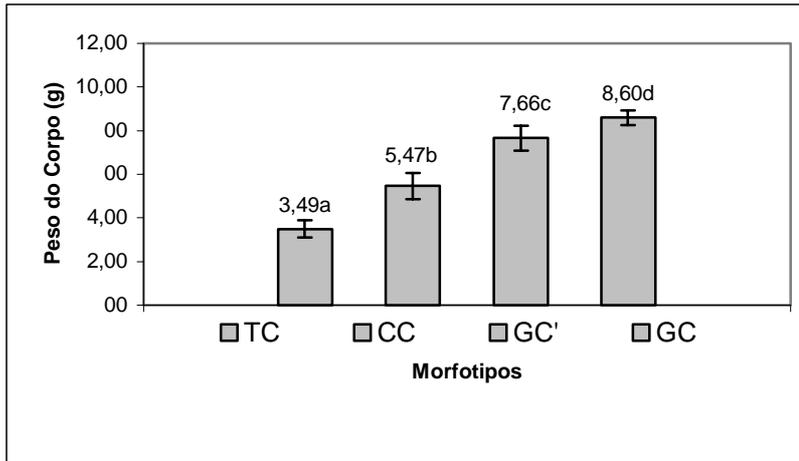


Figura 1: Peso do Corpo (em gramas) dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum*. TC = Translucent Claw, CC = Cinnamon Claw, GC' = Green Claw *Linha*, GC = Green Claw.

A análise dos índices gonadossomático (IGS) de animais dos morfotipos TC, CC, GC' e GC, mostra diferença significativa ($p < 0,05$) apenas entre os morfotipos CC e GC', não apresentando diferença significativa entre os demais morfotipos (Fig.2). Observa-se ainda, que o morfotipo CC apresenta, em relação aos demais morfotipos, o menor IGS devido ao aumento significativo ($p < 0,05$) do peso do corpo (Fig.2), e ainda um crescimento do sistema reprodutor, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) no peso deste sistema em relação ao morfotipo TC. Cabe ressaltar que o morfotipo CC apresenta ainda diferença significativa no peso do sistema reprodutor em relação aos morfotipos GC' e GC.

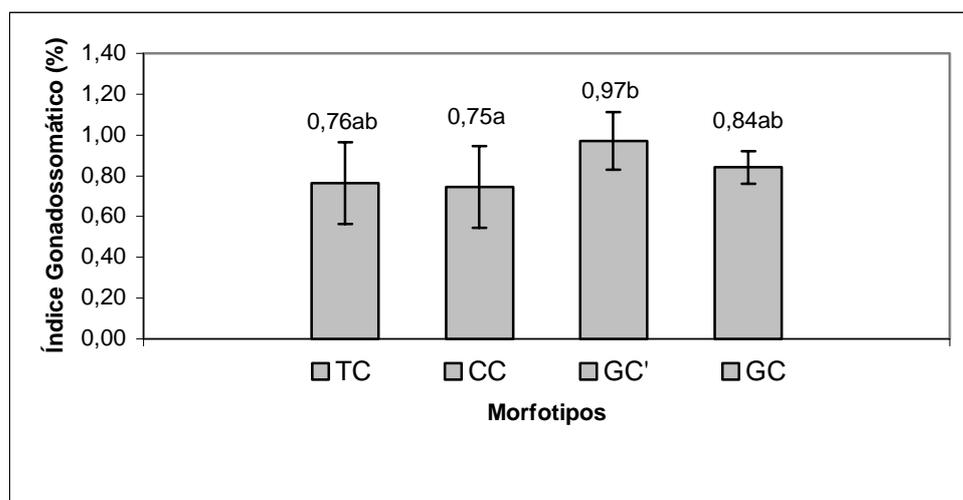


Figura 2: Índice Gonadossomático (IGS) dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum*. TC = Translucent Claw, CC = Cinnamon Claw, GC' = Green Claw *Linha*, GC = Green Claw.

A análise do índice hepatossomático (IHS) de machos dos morfotipos TC, CC, GC' e GC, não apresenta diferença significativa entre os morfotipos GC' e GC. Porém apresenta diferença significativa ($p < 0,05$) entre os morfotipos TC e CC (Fig.3). Ressalta-se que existe diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de IHS entre o grupo formado pelos morfotipos GC' e GC e os morfotipos TC e CC (Fig.3).

Observa-se ainda, que o morfotipo CC apresenta o IHS significativamente maior ($p < 0,05$), devido ao aumento significativo ($p < 0,05$) do peso do hepatopâncreas, em relação aos morfotipos TC, GC' e GC (Fig.3).

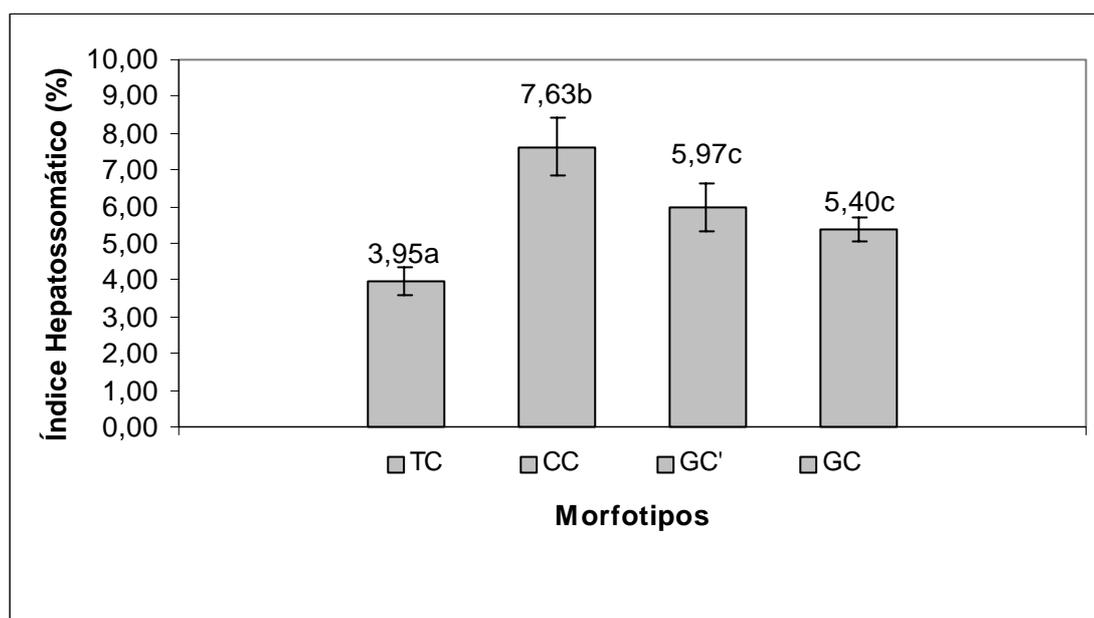


Figura 3: Índice Hepatossomático (IHS), dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum*. TC = Translucent Claw, CC = Cinnamon Claw, GC' = Green Claw Linha, GC = Green Claw.

Os valores de IGS e IHS exibem relação inversa entre os morfotipos TC, CC e GC'. Essa relação não é evidenciada para o morfotipo GC devido ao crescimento significativo ($p < 0,05$) dos

quelípodos, o que aumenta significativamente o peso do corpo, e devido ao sistema reprodutor não apresentar crescimento significativo ($p < 0,05$) em relação ao morfotipo GC'.

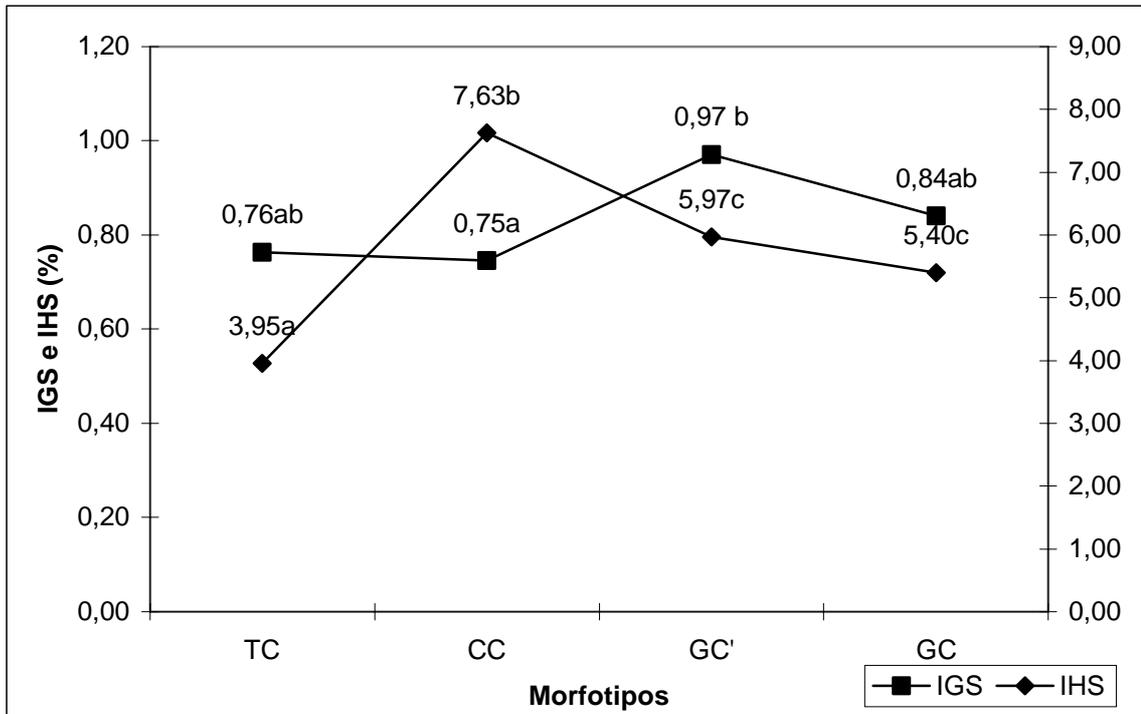


Figura 4: Comparação entre Índice Gonadossomático (%) e Índice Hepatossomático (%) dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum*. TC = Translucent Claw, CC = Cinnamon Claw, GC' = Green Claw Linha, GC = Green Claw.

- **Análise da Estrutura Testicular**

O aparelho reprodutor masculino de *M. amazonicum* mostra-se composto por um par de testículos e de ductos deferentes que se abrem para o exterior através de orifícios genitais que se situam nas coxas do quinto par de pereiópodos.

Os testículos de *M. amazonicum* são pares, simétricos e alongados. Encontram-se unidos nas regiões, cefálica e caudal. São translúcidos,

com a superfície dorsal provida de cromatóforos, sendo que dois terços anteriores situam-se sobre o hepatopâncreas e o terço posterior sob o coração.

O testículo de *M. amazonicum* apresenta maturação das células germinativas do centro do órgão para a periferia. Assim encontra-se células maduras no centro testicular e células em maturação e maduras na extremidade testicular (Fig.1).

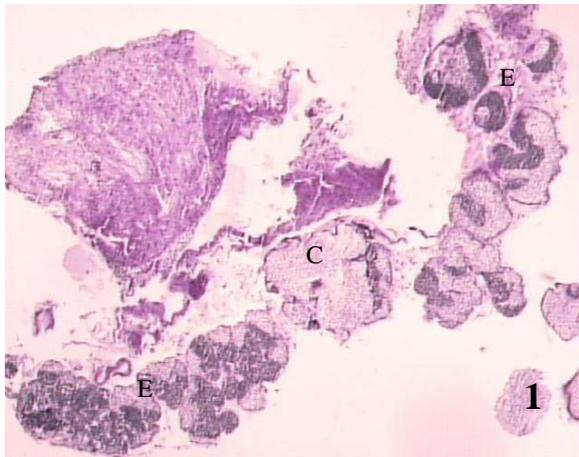


Figura 1: Testículos de *M. amazonicum* evidenciando parte central (C), e extremidade (E). H/E.10X.

Microscopicamente os testículos estão revestidos externamente por uma cápsula de tecido conjuntivo frouxo. A partir deste tecido conjuntivo partem septos para o interior deste órgão formando as lojas testiculares (Fig. 2). No interior das lojas testiculares evidenciou-se as células da linhagem germinativa, sendo este o local aonde o processo de espermatogênese se desenvolve (Fig.2). As lojas testiculares apresentam duas regiões, sendo uma disposta na periferia e a outra voltada para o centro do órgão, e a maturação celular se inicia na periferia e se estende para o centro (Fig. 3). Nas paredes das lojas testiculares evidenciou-se fibroblastos que são células constituintes do tecido conjuntivo e que promovem sustentação (Fig.2).

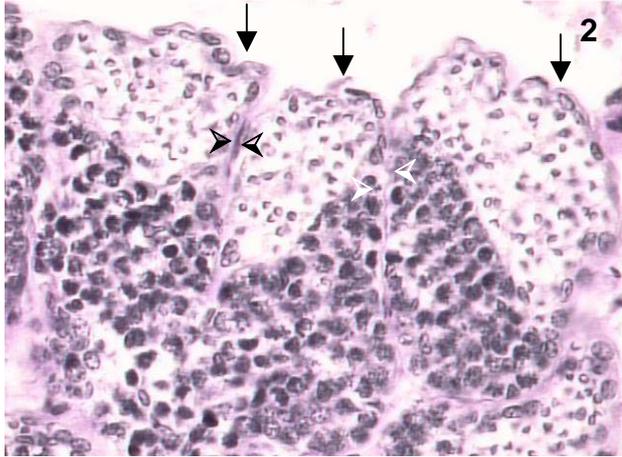


Figura 2: Testículos de *M. amazonicum* evidenciando tecido conjuntivo frouxo (→) de onde partem septos (➤) para formar as

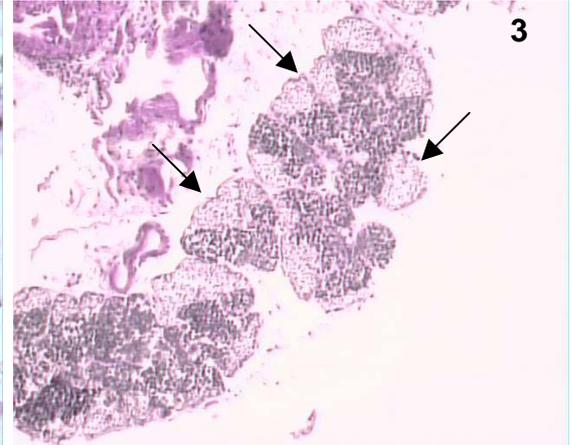


Figura 3: Testículos de *M. amazonicum* evidenciando a maturação celular no interior das

Dentre os morfotipos descritos para *M. amazonicum* (TC, CC, GC' e GC) não evidencia-se diferenças morfológicas testiculares entre os morfotipos GC' (Fig.4) e GC (Fig. 5). Com relação à maturação celular, observa-se que ambos os morfotipos GC' e GC apresentam células maduras na região periférica e células em maturação no centro do órgão. Porém evidenciam-se diferenças na maturação testicular entre os morfotipos TC, CC e GC (Fig 6 a, b e c).

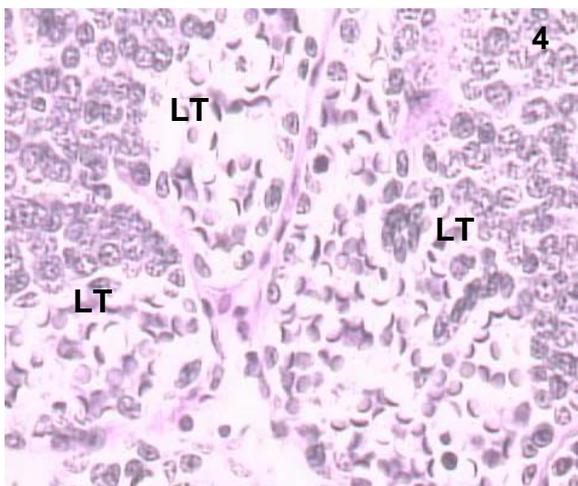


Fig.4: Testículo de *M. amazonicum* evidenciando morfotipo GC'. Nota-se as lojas testiculares (LT) com células da linhagem germinativa. H/E. 200X.

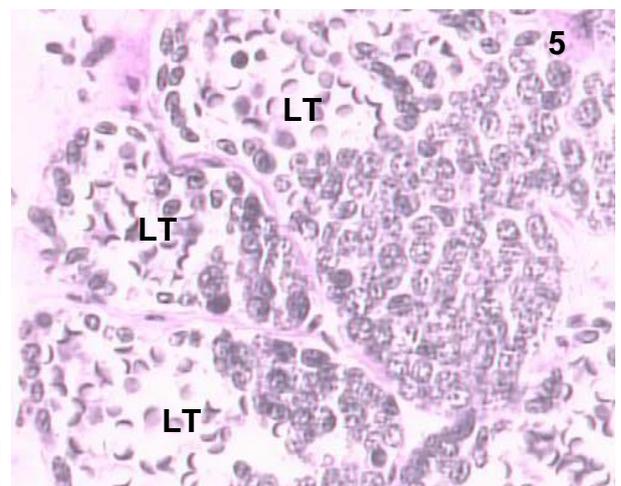


Fig.5: Testículo de *M. amazonicum* evidenciando morfotipo GC. Nota-se as lojas testiculares (LT) com células da linhagem germinativa. H/E. 200X.

As extremidades testiculares apresentam diferenças na maturação celular dos morfotipos, uma vez que os espécimes dos morfotipos TC e GC possuem tanto espermatídes e células maduras ou espermatozóides, como células em maturação, ou seja, espermatogônias e espermatócitos. Já os espécimes do morfotipo CC apresentam apenas células em maturação nas lojas testiculares (Fig 6a, b e c). Na região média testicular dos espécimes dos morfotipos TC, CC e GC observam-se grande quantidade de espermatídes e espermatozóides e poucas espermatogônias e espermatócitos. Destaca-se que as características descritas acima para o morfotipo GC são encontradas também no morfotipo GC'.

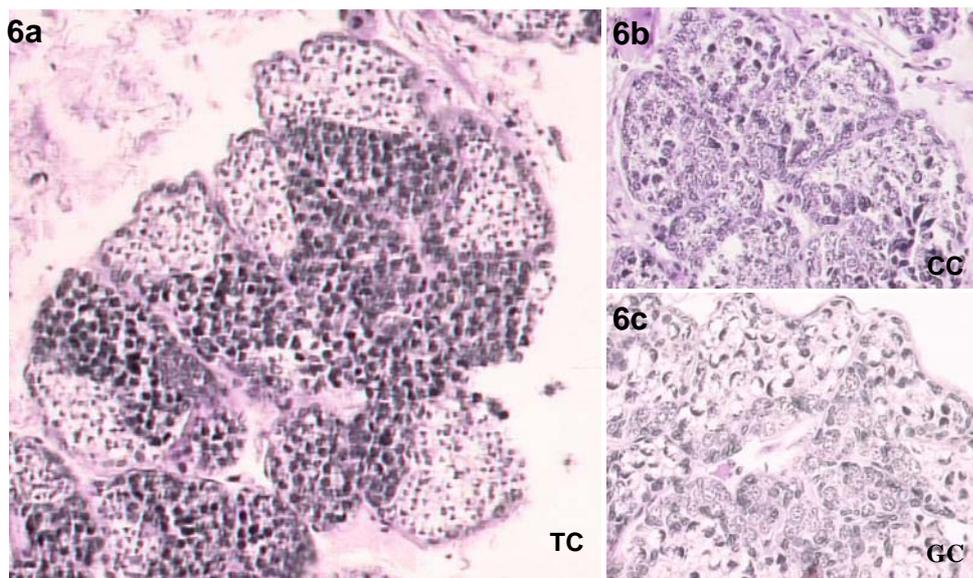


Fig.6: Testículo de *M. amazonicum* evidenciando as extremidades testiculares dos diferentes morfotipos TC, CC e GC. H/E. 50X

Todos os machos dos morfotipos TC, CC e GC apresentam atividade contínua da espermatogênese, inclusive da espermiogênese, com conseqüente produção de espermatozóides. Portanto não apresentam estágios distinguíveis na diferenciação testicular, uma vez

que todos os morfotipos apresentam todas as fases de maturação das células germinativas, inclusive espermatozóides.

As células da linhagem germinativa que são encontradas nos testículos dos diferentes morfotipos são: espermatogônias primárias e secundárias, espermatócitos primários e secundários, espermátides e espermatozóides.

As espermatogônias primárias são células que apresentam núcleo alongado, com cromatina em grumos aderidos à região da carioteca, além da presença de um nucléolo. O citoplasma é pouco visível, uma vez que esta célula é ocupada quase na sua totalidade pelo núcleo. Este tipo celular ocorre ao longo das paredes das lojas testiculares, embora não apresente divisão celular (Fig 7).

Essas células descritas anteriormente, quando entram em divisão originam as espermatogônias secundárias. Estas, por sua vez apresentam núcleo grande e esférico, nucléolo evidente, com cromatina constituída de filamentos e grumos aderidos à região da carioteca. O citoplasma ainda é pouco evidente (Fig. 8).

As espermatogônias secundárias dividem-se mitoticamente dando origem aos espermatócitos primários. Os espermatócitos primários apresentam citoplasma ainda pouco distinto. Seu núcleo é esférico e volumoso, com a cromatina mais condensada que no tipo celular anteriormente descrito. Essa cromatina se distribui em grumos grosseiros podendo estar aderidos ou não à região da carioteca. O nucléolo não é evidente. As espermatogônias secundárias são muito freqüentes nas lojas testiculares e estão em constante divisão (Fig. 8).

Os espermatócitos primários sofrem a primeira divisão meiótica e dão origem aos espermatócitos secundários. Essas células apresentam núcleo em formato de meia lua, e com a cromatina condensada em grumos grosseiros. O nucléolo continua não evidente (Fig.8).

Os espermatócitos secundários sofrem a segunda divisão da meiose, formando as espermatídes. Estas células estão geralmente situadas na porção central das lojas testiculares. Seu núcleo apresenta cromatina condensada em grandes grumos e início da polarização no formato de "U", constituindo o aspecto de uma taça, onde se inicia a formação de uma provável peça intermediária e cauda do espermatozóide (Fig 7).

As espermatídes sofrem o processo de espermiogênese que se constitui na compactação nuclear sem divisão celular, originando os espermatozóides. Os espermatozóides são células que ocupam o centro das lojas testiculares. São células pequenas e imóveis, e apresentam a cabeça no formato de taça com a cromatina condensada em formato de "V", provável peça intermediária curta e a cauda em forma de espinho (Fig 7).



Fig.7: Testículo de *M. amazonicum* evidenciando espermatogônias primárias (→), espermatíde (→) e espermatozóides (➤). H/E.500X.

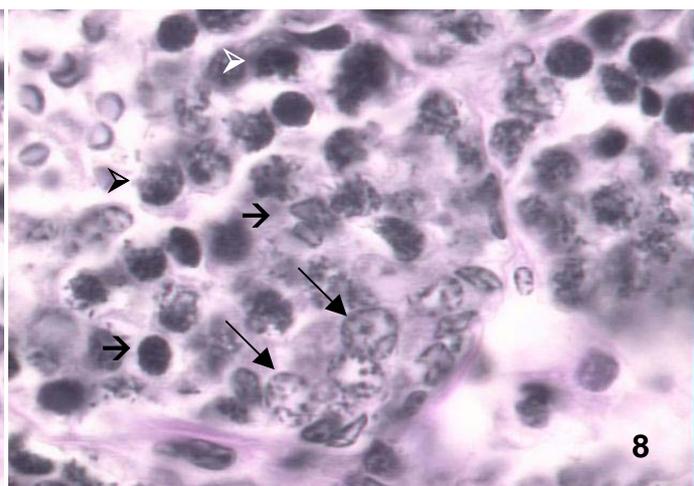


Fig. 8: Testículo de *M. amazonicum* evidenciando espermatogônias secundárias (→), espermatócitos primários (→) e espermatocitos secundários (➤). H/E.500X.

DISCUSSÃO

O camarão de água doce *M. amazonicum* apresenta diferenciação morfológica acompanhada de crescimento corpóreo. Esta característica também foi observada para a espécie exótica cultivada no Brasil, *M. rosenbergii* (SURESHKUMAR & KURUP, 1999).

As relações entre o peso das gônadas, o peso corpóreo, e o Índice Gonadossomático (IGS); e entre o peso do hepatopâncreas e o peso corpóreo, o Índice Hepatossomático (IHS), evidenciam o crescimento relativo do sistema reprodutor e do hepatopâncreas, respectivamente. Esses dados correlacionados podem indicar a mobilização de energia do hepatopâncreas para o crescimento gonadal (DAHLL & MORIATY, 1983; RAJESH & QURESHI, 1994).

Os valores de IGS entre os morfotipos TC e CC de *M. amazonicum* não apresentam diferença significativa, apesar do crescimento do corpo ser significativamente maior para o morfotipo CC, e o crescimento do sistema reprodutor também se mostrar significativo em relação ao morfotipo TC. Este fato indica que o crescimento do sistema reprodutor do morfotipo CC acompanha o crescimento do corpo. O mesmo não é observado para nos morfotipos OC de *M. rosenbergii*, os quais apresentam o menor IGS, devido ao aumento na taxa de crescimento (RA'ANAN, 1982), e conseqüente redução do peso relativo do sistema reprodutor (SAGI & RA'ANAN, 1988), apresentando IGS diferente significativamente do morfotipo SM, correspondente ao morfotipo TC para *M. amazonicum*.

Ainda para o morfotipo CC encontra-se o IHS significativamente maior, indicando reserva de nutrientes no hepatopâncreas. Essa reserva de energia acontece devido a possível desvio de demanda energética do crescimento do sistema reprodutivo. Essa reserva no morfotipo CC ocorre devido ao crescimento que este morfotipo irá sofrer para a transformação no morfotipo GC', o qual apresenta crescimento corpóreo e do sistema reprodutor significativo em comparação ao morfotipo CC ($p < 0,05$). Em crustáceos observa-se que o peso relativo do hepatopâncreas, o qual desempenha uma função importante na assimilação de nutrientes (DHALL & MORIATY, 1984), provavelmente represente a provisão de reserva de energia utilizada para o crescimento e metabolismo. Para *M. rosenbergii* o tamanho relativo do hepatopâncreas está intensamente correlacionado com o estágio morfológico de desenvolvimento e o gasto de energia relativa no crescimento e atividade sexual (KURIS et al., 1987; SAGI & RA'ANAN, 1988; SURESHKUMAR & KURUP, 1999). No presente estudo, o menor IHS foi observado em machos TC de *M. amazonicum*, o que concorda com o retardo no crescimento corpóreo sugerido por COHEN et al. (1981), SAGI & RA'ANAN (1988) e SURESHKUMAR & KURUP (1999) para o morfotipo SM de *M. rosenbergii*.

Os morfotipos GC' e GC não apresentam diferença significativa nos pesos do sistema reprodutor e do hepatopâncreas, assim como no IGS e no IHS. Este fato indica que os machos GC' e GC podem constituir fases diferentes de desenvolvimento de um mesmo morfotipo, diferente do postulado por MORAES-RIODADES (2002) que distingue quatro estágios de desenvolvimento morfológico em machos adultos em *M. amazonicum* de acordo com a morfologia externa. Esses machos GC' e GC apenas apresentam diferença significativa no peso do corpo devido

ao crescimento significativo dos quelípodos em GC (MORAES-RIODADES, 2002; PAPA & FRANCESCHINI-VICENTINI, 2003).

MORAES-RIODADES (2002) afirma que estudos da morfologia interna das gônadas e hepatopâncreas, e comportamento social e reprodutivo poderiam auxiliar no esclarecimento definitivo da categorização no número de morfotipos existentes para *M. amazonicum*. No presente trabalho avaliou-se as características estruturais dos testículos desta espécie, permanecendo ainda obscuro o comportamento social e reprodutivo em *M. amazonicum*. Estudos na estrutura do hepatopâncreas está atualmente sendo desenvolvidos.

A análise microscópica dos testículos evidencia características estruturais semelhantes para todos os morfotipos de *M. amazonicum* descritos por MORAES-RIODADES (2002). Destaca-se que dentre os morfotipos descritos para *M. amazonicum* não evidenciamos diferenças na espermatogênese. Todos os morfotipos TC, CC, GC' e GC apresentam em seus testículos todas as células da linhagem germinativa e evidencia-se atividade contínua da espermatogênese, inclusive da espermiogênese, com conseqüente produção de espermatozóides, sem apresentar estágios definidos para a maturação das gônadas. Isso pode indicar que todos os morfotipos são capazes fisiologicamente de realizar a fecundação de oócitos. De acordo com as características estruturais dos testículos são identificados apenas três morfotipos – TC, CC GC, uma vez que os morfotipos GC' e GC apresentam as mesmas características testiculares, além de apresentar os mesmos pesos do testículo e do hepatopâncreas.

De acordo com a análise da estrutura testicular dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum*, observa-se que o testículo apresenta

duas regiões distintas: o centro testicular e as extremidades proximal e distal do testículo. Estas regiões apresentam diferenças na sua estrutura microscópica quando se observam os testículos dos diferentes morfotipos propostos neste trabalho (TC, CC e GC). Considerando que a espécie exótica *M. rosenbergii* também apresenta três morfotipos (SM, OC e BC), propõem-se uma comparação da estrutura testicular entre os morfotipos correspondentes destas duas espécies de *Macrobrachium*. Com relação aos morfotipos de *M. amazonicum*, os testículos dos machos TC, CC e GC apresentam células maduras ou espermatozóides, indicando capacidade fisiológica para fecundação. No entanto este padrão testicular não é encontrado em *M. rosenbergii*, onde apenas os morfotipos SM e BC apresentam produção espermatozóides pelos testículos (SAGI & RA'ANAN, 1988, SAGI et al., 1988).

Estruturalmente consideram-se os testículos dos morfotipos TC, CC e GC de *M. amazonicum* diferentes, devido à distribuição das células germinativas encontradas nas lojas testiculares. Os três morfotipos propostos apresentam o centro testicular repleto de espermatídes e espermatozóides, enquanto que as extremidades testiculares diferenciam-se nos três morfotipos. Os testículos dos morfotipos TC e GC apresentam em suas extremidades células germinativas maduras, ou seja, espermatozóides, e células germinativas em maturação, ou seja, espermatogônias, espermatócitos e espermatídes. Já o morfotipo CC apresenta em suas extremidades testiculares apenas espermatogônias e espermatócitos.

Desta forma observa-se que existe produção de espermatozóides em todos os morfotipos de *M. amazonicum*. Esse padrão difere dos morfotipos de *M. rosenbergii* onde apenas os machos SM apresentam células germinativas e produzem espermatozóides. Já o morfotipo OC

apenas apresenta células germinativas, mas não produz espermatozóides. Os machos do morfotipo BC de *M. rosenbergii* apresentam apenas espermatozóides no testículo, portanto desempenham a função de estocagem de espermatozóides, não apresentando reserva de células para a produção de novos espermatozóides (SAGI & RA'ANAN, 1988, SAGI et al., 1988). Nota-se ainda que este morfotipo BC apresenta uma zona espermatogênica virtual com a conseqüente paralisação do processo de espermatogênese (SAGI et al, 1988). Em *M. amazonicum* no morfotipo GC, correspondente ao BC anteriormente citado para *M. rosenbergii*, não existe paralisação da espermatogênese, uma vez que podem ser visualizadas células germinativas, especialmente as espermatogônias, que são as células potencialmente responsáveis pela continuidade do processo de espermatogênese (GRIER, 2000).

Conclui-se que, de acordo com as características estruturais e os Índices Gonadossomático (IGS) e Hepatossomático (IHS), que o camarão de água doce *M. amazonicum* apresenta três padrões testiculares, sendo categorizados em três morfotipos TC, CC e GC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAILEY, C. Aquaculture and basic human needs. **World Aquaculture**, Baton Rouge, v.28, n.3, p.28-31,1997.

CARVALHO, H.A. Morfologia do Aparelho Reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN, 1863) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE). Parte I – Masculino: **Ciência e Cultura**, v.32, n.7, 1980.

COHEN, D.; RA'ANAN, Z.; BRODY, T. Population profile development and morphotypical differentiation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). **J. World Marinec. Soc.** v.12, p.231-243, 1981.

DAHLL, W. & MORIATY, D.J.W. Functional aspects of nutrition and digestion: The midgut. In: BLISS, D.E.; MANTEL L.H. (eds). The biology of Crustacea, Vol. 5: International anatomy and physiological regulation. Academic Press, p. 215-251. 1983.

GRIER, H.J. The germinal Epithelium: Its dual role in establishing male reproductive classes and understanding the basis for Indeterminate egg production in female fishes. **GCFI: Proceedings of the Fifty-Third Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute, Biloxi, Mississipi.**, p.537-552, 2000.

KURIS, A.M.; RA'ANAN, Z.; SAGI, A. COHEN, D. Morphotypic differentiation of male Malaysian giant prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. **J. Crust. Biol.** v.7, n.2, p.219-237, 1987.

MAGALHÃES, C. & WALKER, I. Larval development and ecological distribution of central amazonian palaemonid shrimps (Decapoda Caridea). **Crustaceana**, v.55, n. 3, p. 279-292,1988.

MORAES-RIODADES, P.M.C. Diferenciação Morfotípica em machos de camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE). Dissertação de Mestrado: Universidade Estadual Paulista, Caunesp, pp.56, 2002.

NEW, M. B.. **History and global status of freshwater prawnfarming** In: New, M. B. & Valenti, W. C. (ed.) Freshwater Prawn Culture: The farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Oxford, Blackwell Science. p. 1-11, 2000

NEW,M.B.; D'ABRAMO,L.R.; VALENTI,W.C. & SINGHOLKA,S. Sustainability of Freshwater Prawn Culture In: New,M.B. & Valenti, W. C. (ed.)**Freshwater Prawn Culture: The farming of *Macrobrachium rosenbergii***. Oxford, Blackwell Science .p.429-434, 2000.

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

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R. PEDINI, M. **Situação atual da aqüicultura brasileira e mundial.** In: VALENTI, W. C. 2000.

PAPA, L.P. & FRANCESCHINI – VICENTINI, I.B. Diferenciação Morfotípica de machos do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum*: alterações de hepatopâncreas e no sistema reprodutor. **J. Crust. Biol.**, (submetido), 2003.

RA'ANAN, Z. Ontogeny of social structure in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). **PhD Tesis**, Life Sciences Institute of Jerusalem, Israel, pp.102,1982.

RAJESH, B. & QURESHI, T.A. Annual reproductive cycle of the freshwater prawn, *Macrobrachium dayanum* (Henderson, 1893). v.19, p.131-147. 1994.

SAGI, A. & RA'ANAM Z. Morphotypic differentiation of males of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: changes in the midgut glands and the reproduction system. **Journal of Crustacean Biology.** v.8, n.1, p.43-47, 1988.

SAGI, A.; MILNER, Y.; COHEN, D. Spermatogenesis and sperm storage in the testes of behaviorally distinctive male morphotypes of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). **Biol. Bull.** v. 174, p. 330-336, 1988.

SAS INSTITUTE. The SAS System for Windows, 1995

SURESHKUMAR, S. & KURUP, B.M. Variations in hepatosomatic index and biochemical profiles among the male morphotypes of *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, v.176, p.285-293, 1999.

VALENTI, W.C. A modernização da carcinicultura de água doce. Revista da Associação Brasileira dos Criadores de Camarões, ano III, n1, 2001.

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

VERDI, A. & DELGADO, E. Microestructura del aparato reproductor masculino de *Macrobrachium borellii* (Nobili, 1896) (Crustácea, Caridea, Palaemonidae), **Rev. Bras. Biol.** v. 58, p. 343-348, 1998.

DIFERENCIAÇÃO MORFOTÍPICA DE MACHOS DO CAMARÃO DE ÁGUA DOCE *Macrobrachium amazonicum*: ALTERAÇÕES NO HEPATOPÂNCREAS E NO SISTEMA REPRODUTOR

RESUMO

Machos adultos do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* de uma população com a mesma idade podem ser categorizado em quatro morfotipos, de acordo com características morfológicas externas. Cada morfotipo representa um estágio diferente de desenvolvimento de machos adultos que se inicia em Translucent Claw (TC), passa para Cinnamon Claw (CC), após Green Claw' (GC'), e finalmente para Green Claw (GC). Entretanto com relação às características morfológicas internas dos testículos, pode-se classificar apenas três morfotipos. Para esclarecer em parte essas observações, 40 machos foram selecionados de uma população com a mesma idade dois órgãos internos de cada morfotipo foram pesados e comparados. O crescimento do sistema reprodutor é um indicador da atividade sexual. Essas medidas foram comparadas ao crescimento do hepatopâncreas, sendo que este órgão parece ter correlação com o desenvolvimento somático. Com relação ao crescimento do hepatopâncreas nota-se que existe aumento significativo entre o peso do órgão dos machos do morfotipo TC para o morfotipo CC. No entanto o crescimento do sistema reprodutor aumentou significativamente entre a diferenciação dos machos do morfotipo CC para GC'. O peso do corpo dos indivíduos com morfotipo TC, CC, GC' e GC apresenta diferença significativa entre eles, porém há diferença significativa no peso do corpo entre os morfotipos GC' e GC se deve ao crescimento significativo no comprimento do quelípodo entre os morfotipos citados anteriormente Desta forma concluí-

se que segundo os estudos realizados com os Índices Gonadossomático e Hepatossomático, e os pesos do sistema reprodutor e hepatopâncreas, os machos de *M. amazonicum* apresentam três morfotipos distintos: TC, CC e GC.

Palavras chaves: *Macrobrachium amazonicum*, morfotipos, machos, índices gonadossomático e hepatossomático

ABSTRACT

Adult males of the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* of a population with the same age can be categorized in four morphotypes, according to external morphologic characteristics. Each morphotype represents a different stage in the growth of adult males from Translucent Claw (TC) through Cinnamon Claw (CC), after Green Claw ' (GC') and finally Green Claw (GC). However with internal morphology of the testis, they can be categorized three morphotypes. To clarify in part these observations, 40 male prawns were selected from a single-age population were selected that is maintained at the Aquaculture Center of UNESP. Two internal organs of each morphotype were measured and compared. The growth of the reproductive system was an indicator of the sexual activity. In the same way the growth of the hepatopancreas was suggested to be in correlation with the somatic growth. The growth of hepatopancreas is significantly higher in the CC morphotype in relation to the TC morphotype. However the growth of the reproductive system is significantly higher in GC' morphotype in relation to the CC morphotype. All the males of the morphotypes TC, CC, GC' and GC present significant difference in the weigh of the body, however this difference between GC'

and GC morphotypes is due to the significant growth in the length of claw and not to the growth of the reproductive system and hepatopancreas. Thus, the data show that according to the studies with the Gonadosomatic and Hepatosomatic Indices, and the weights of the reproductive system and the hepatopancreas, demonstrate that males of the freshwater prawn *M. amazonicum* present three distinct morphotypes: TC, CC and GC. Further, the changes in specific ratio between the reproductive system and the hepatopancreas reflect the inverse relationship among growth during the male differentiation pathway from TC through CC to the GC morphotype.

Key-words: *Macrobrachium amazonicum*, morphotypes, males, gonadosomatic e hepatosomatic index

INTRODUÇÃO

Quatro morfotipos de machos compõem a população adulta do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* (MORAES-RIODADES, 2002). A diferenciação destes morfotipos machos foi definida com base na cor, e espinação da quela e características no crescimento de diferentes partes do corpo (cefalotórax, abdômen e quelípodo – ísquio, mero, carpo, própodo e dátilo) (MORAES-RIODADES, 2002).

Os quatros morfotipos machos caracterizados incluem: (1) machos pequenos com quelas translúcidas (TC), (2) machos pequenos e intermediários com quelas de coloração caramelo (CC), (3) machos grandes, com crescimento do corpo acentuado, apresentando quelas de coloração esverdeada (GC'), e (4) machos grandes que representam o

desenvolvimento final morfotípico, com taxa de crescimento reduzido, e mudas não freqüentes, apresentando quela de coloração verde (GC) (MORAES-RIODADES, 2002).

Com relação à espécie exótica cultivada no Brasil, *M. rosenbergii*, vários são os estudos, devido a sua ampla utilização na aquicultura mundial (RA'ANAN, 1982; SAGI, 1984; RA'ANAN & COHEN, 1985; RA'ANAN & SAGI, 1985; SAGI & RA'ANAN, 1988; VALENTI, 1993). A espécie exótica *M. rosenbergii* apresenta três morfotipos machos (COHEN et al., 1981; RA'ANAN, 1982). Esses morfotipos, assim como em *M. amazonicum*, também são definidos com base na cor e espinação da quela, comportamento e características de crescimento (SAGI, 1984; RA'ANAN & COHEN, 1985). KURIS et al. (1987) descreveram critérios alométricos para reconhecer e descrever os morfotipos e sua transição em *M. rosenbergii*.

Os três morfotipos básicos em machos de *M. rosenbergii* são: (1) macho grande e dominante com quela azul (BC) que apresenta territorialidade, atividade sexual e crescimento reduzido com mudas não freqüentes, (2) macho subdominante com quela alaranjada (OC) não apresentando territorialidade e incompetência sexual, e (3) macho pequeno com quela transparente (SM) que não apresenta territorialidade e são sexualmente competentes e portanto, fazem uso de estratégia de "cópula sorrateira" (TELECKEY, 1984; SAGI, 1984; RA'ANAN & SAGI 1985). Os estágios intermediários entre os morfotipos de *M. rosenbergii* foram distinguidos entre o macho SM e OC sendo denominado de WOC (quela de coloração clara), e os que estão entre o macho OC e BC são denominado SOC (quela com transição de coloração alaranjada para azul) (KURIS et al., 1987).

Considerando os critérios morfotípicos externos e as diferenças de comportamento SAGI & RA'ANAN (1988) estudam a relação entre estes aspectos e o tamanho relativo dos órgãos reprodutores, estocagem de energia e crescimento somático em *M. rosenbergii*.

Desta forma o objetivo deste trabalho é comparar-se o peso relativo do sistema reprodutor e do hepatopâncreas dos diferentes morfotipos estabelecidos pra *M. amazonicum*. O peso relativo do sistema reprodutor representa parte do esforço reprodutivo (HIRSCHFIELD & TINKLE, 1975), enquanto que o peso relativo do hepatopâncreas, representa a assimilação de alimento (DAHLL & MORIATY, 1983) e mobilização de energia durante a muda (SKINNER, 1985) e pigmentação (GHIDALIA, 1985), provavelmente represente o gasto de energia no crescimento somático, mudanças morfológicas e na atividade metabólica geral (SAGI & RA'ANAN, 1988).

MATERIAL E MÉTODOS

Para a presente investigação foi realizado um arrasto com rede de malha de 6 mm, para captura dos 40 machos de camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum*. Estes animais constituem a segunda geração de animais provenientes do Pará que se encontram nos viveiros do Setor de Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP – CAUNESP. Os animais foram selecionados e separados em quatro grupos de acordo com cada um dos quatros morfotipos (Translucent Claw -TC, Cinnamon Claw -CC, Green Claw *linha* -CG' e Green Claw -GC), de acordo com a coloração, espinhação da quela, comprimento do quelípodo e comprimento pós-orbital e peso total do corpo (MORAES-RIODADES, 2002). O peso do corpo do animal foi medido com auxílio de

balança analítica Mettler-Toledo AB204 com precisão de 0,001. Os comprimentos do quelípodo e do corpo total foram medidos com auxílio de paquímetro digital com precisão de 0,01mm. O comprimento do corpo total foi estabelecido como sendo a distância entre extremidade distal do rostro até a extremidade distal do telson. Os quelípodos foram medidos da margem proximal do ísquio até a extremidade distal do própodo.

Dez animais de cada categoria foram selecionados para estudo de acordo com os métodos descritos por MORAES-RIODADES (2002). Cada animal foi dissecado, o hepatopâncreas e o sistema reprodutor foram isolados e pesados com auxílio de balança analítica Mettler-Toledo AB204 com precisão de 0,001.

A análise de variância foi realizada com auxílio do programa SAS (1995), para analisar as diferenças entre as médias do peso do hepatopâncreas e sistema reprodutor em relação ao peso total do corpo dos diferentes morfotipos.

RESULTADOS

- ***Pesos do Hepatopâncreas e Sistema Reprodutor***

A comparação entre o peso do hepatopâncreas e o peso do sistema reprodutor, incluindo testículos, ductos espermáticos, e ampolas, foi calculado para cada morfotipo. A tabela 1 evidencia que os espécimes dos morfotipos TC, GC' e GC apresentam o peso do hepatopâncreas de 4,5 a 6,5 vezes, significativamente maior ($p < 0,05$) que o peso do sistema reprodutor, respectivamente. Já os espécimes do morfotipo CC apresentam essa relação 10 vezes maior significativamente ($p < 0,05$)

(Tabela1). Pode-se ainda, evidenciar que os espécimes dos morfotipos GC' e GC apresentam a mesma relação de peso do hepatopâncreas e do sistema reprodutor (Fig. 1). A fase de morfotipo TC apresenta o peso do hepatopâncreas significativamente menor que o apresentado pelas fases dos morfotipos CC, GC' e GC ($p < 0,05$), sendo que os morfotipos GC' e GC apresentam-se significativamente semelhantes, e o morfotipo CC diferem significativamente dos demais morfotipos ($p < 0,05$) (Tabela1).

Com relação ao peso do sistema reprodutor, os espécimes dos morfotipos TC e CC apresentam pesos com diferença significativa entre estes ($p < 0,05$), e diferem também significativamente do peso apresentado pelos espécimes dos morfotipos GC' e GC ($p < 0,05$). No entanto, os valores obtidos para os pesos do sistema reprodutor dos morfotipos GC' e GC não diferem significativamente ($p < 0,05$) (Tabela1).

- ***Índice Hepatossomático e Gonadossomático***

Uma vez que a razão dos pesos do hepatopâncreas e do sistema reprodutivo (PHep/PRep) apresenta diferença significativa entre os espécimes do morfotipo CC e os demais morfotipos (TC, GC' e GC) (Fig.1), tenta-se avaliar se, esta diferença resulta do crescimento do hepatopâncreas do morfotipo CC ou do crescimento do sistema reprodutivo dos espécimes dos morfotipos TC, GC' e GC.

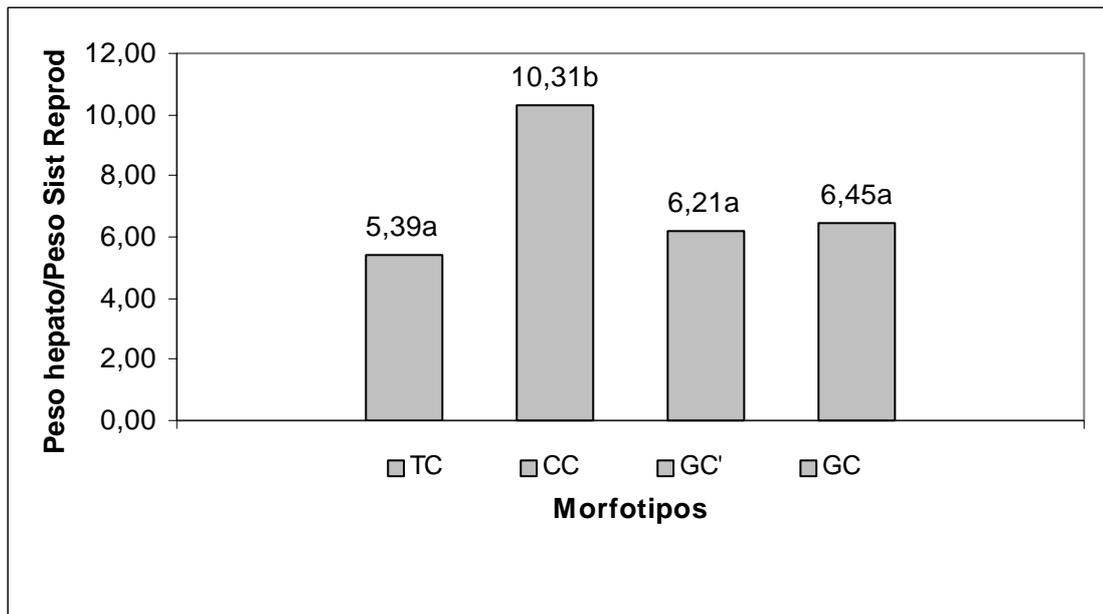


Figura 1: Relação entre os Pesos do Hepatopâncreas (g) e do Sistema Reprodutivo (g) dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum*. Morfotipos TC = Translucent Claw, CC = Cinnamon Claw, GC' = Green Claw *Linha*, GC = Green Claw

Os pesos relativos do hepatopâncreas e do sistema reprodutor foram calculados como porcentagens do peso total do corpo determinando-se o índice hepatossomático (IHS) e gonadossomático (IGS), respectivamente (Fig.2 e 3). Machos CC são caracterizados por aumento significativo do IHS quando comparados aos machos dos morfotipos TC, GC' e GC, ($7,63 \pm 0,80$ versus $3,95 \pm 0,38$, $5,97 \pm 0,64$ e $5,40 \pm 0,33$, respectivamente ($p < 0,05$)). Ao mesmo tempo o peso relativo do sistema reprodutor (IGS) do morfotipo CC não apresenta diferença significativa, quando comparado aos morfotipos TC e GC ($0,75 \pm 0,23$, versus $0,76 \pm 0,22$ e $0,84 \pm 0,08$, respectivamente) ($p < 0,05$); muito embora tenha apresentado diferença significativa do GC' ($0,97 \pm 0,14$, $p < 0,05$). O índice relativo de comparação dos IGS dos morfotipos indica que o sistema reprodutor do morfotipo CC apresenta menor tamanho (69,02%), quando comparado aos morfotipos GC, TC e GC' (75,22%, 78,76% e 100%, respectivamente), considerando o morfotipo GC' como o que apresenta 100% do tamanho total. Desta forma observa-se que a

diferença não significativa dos IGS entre os morfotipos TC e CC se deve ao crescimento significativo do peso do corpo do animal no morfotipo CC (Tabela 1) ($p < 0,05$).

Os parâmetros, peso do sistema reprodutor, peso do hepatopâncreas, IGS e IHS, os machos dos morfotipos GC' e GC não apresentam diferença significativa entre eles ($p < 0,05$).

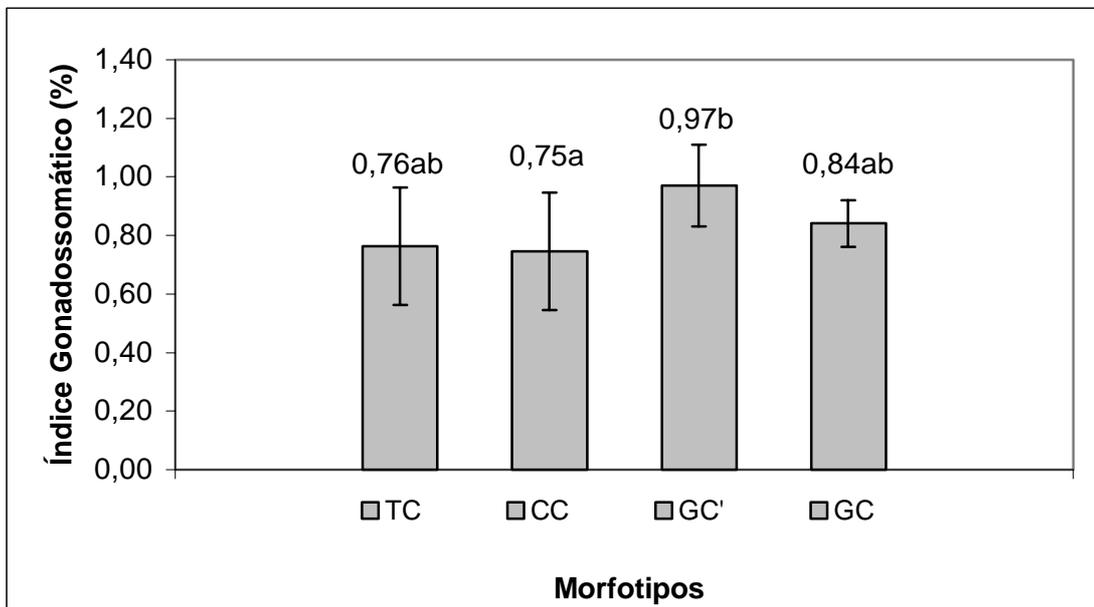


Figura 2: Índice Gonadosomático (%) dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum*. Morfotipos TC = Translucent Claw, CC = Cinnamon Claw, GC' = Green Claw *Linha*, GC = Green Claw.

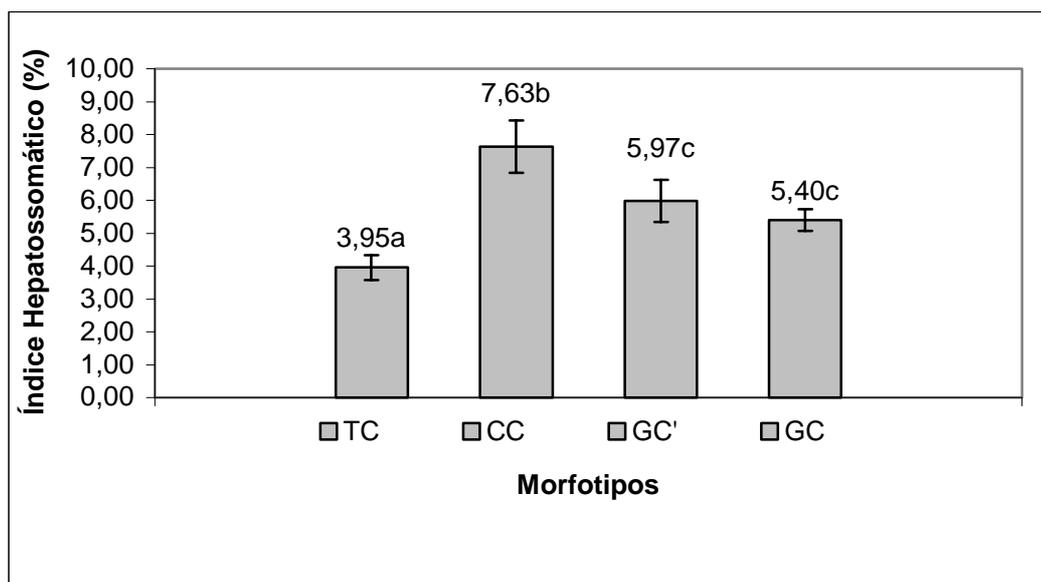


Figura 3: Índice Hepatosomático (%) dos diferentes morfotipos de *M. amazonicum*. Morfotipos TC = Translucent Claw, CC = Cinnamon Claw, GC' = Green Claw *Linha*, GC = Green Claw.

- **Comparação entre os pesos do Hepatopâncreas, do Sistema Reprodutor e do Corpo de *M. amazonicum*.**

Compararam-se os pesos relativos do hepatopâncreas, do sistema reprodutor e do corpo de *M. amazonicum* com morfotipos TC, CC, GC'e GC. Com relação ao crescimento do hepatopâncreas nota-se que existe aumento significativo entre o peso do órgão dos machos do morfotipo TC para o morfotipo CC, ($0,14 \pm 0,02$ e $0,41 \pm 0,02$, respectivamente, $p < 0,05$) (Tabela 1). No entanto o crescimento do sistema reprodutor aumentou significativamente entre a diferenciação dos machos do morfotipo CC para GC', quando o peso passou de $0,04 \pm 0,01$, para $0,07 \pm 0,01$, respectivamente ($p < 0,05$) (Tabela 1).

O peso do corpo dos espécimes com morfotipo TC, CC, GC' e GC apresenta diferença significativa entre eles ($p < 0,05$) ($3,49g \pm 0,43$, $5,47g$

$\pm 0,60$, $7,66\text{g} \pm 0,57$ e $8,60\text{g} \pm 0,33$, respectivamente) (Tabela 1). Apesar de existir diferença significativa no peso do corpo entre os morfotipos GC' e GC (Tabela 1), esta diferença se deve ao crescimento significativo no comprimento do quelípodo entre os morfotipos citados anteriormente ($7,76\text{cm} \pm 0,88$ e $9,63\text{cm} \pm 0,13$, respectivamente) (Tabela. 1).

Tabela 1. Caracterização dos morfotipos de machos de *Macrobrachium amazonicum* *

Morfotipos	Peso do Corpo (g) (\pm SD)	Peso do Testículo (g) (\pm SD)	Peso do Hepatopâncreas (g) (\pm SD)	Comprimento do Corpo (cm) (\pm SD)	Comprimento da Quela (cm) (\pm SD)	Coloração da Quela	Espinação
TC	$3,49\text{a} \pm 0,4$	$0,027\text{a} \pm 0,01$	$0,14\text{a} \pm 0,02$	$7,63\text{a} \pm 0,58$	$3,18\text{a} \pm 0,36$	Translúcida	-
CC	$5,47\text{b} \pm 0,6$	$0,040\text{b} \pm 0,01$	$0,41\text{b} \pm 0,02$	$7,94\text{a} \pm 0,12$	$4,22\text{b} \pm 0,63$	Caramelo	+
GC'	$7,66\text{c} \pm 0,57$	$0,074\text{c} \pm 0,01$	$0,46\text{c} \pm 0,06$	$9,84\text{b} \pm 0,18$	$7,76\text{c} \pm 0,88$	Esverdeada	++
GC	$8,60\text{d} \pm 0,33$	$0,072\text{c} \pm 0,01$	$0,47\text{c} \pm 0,02$	$10,01\text{b} \pm 0,38$	$9,63\text{d} \pm 0,13$	Verde intenso	+++

* TC = Quela translúcida; CC = Quela caramelo; GC' = Quela esverdeada; GC = Quela verde intenso.

DISCUSSÃO

Trabalhos relacionados com a estratégia reprodutiva adotada por machos de *M. amazonicum* não existem na literatura. No entanto, machos de *M. rosenbergii* utilizam duas estratégias reprodutivas, sendo a primeira praticada apenas por espécimes machos dominantes (BC), e a segunda estratégia praticada por espécimes machos pequenos (SM) e considerada alternativa devido a esses morfotipos praticaram a “cópula sorrateira” (TELECKEY, 1984; SAGI, 1984; RA'ANAN & SAGI, 1985).

Um macho juvenil indiferenciado morfotipicamente de *M. amazonicum* se transforma em TC adulto. O morfotipo TC pode permanecer nesta diferenciação ou pode se transformar em CC, que eventualmente se transforma em GC'. Estes últimos podem se transformar no morfotipo dominante GC (MORAES-RIODADES, 2002). Desta forma os machos de *M. amazonicum* apresentam quatro

morfotipos diferenciados por características morfológicas e morfométricas externas (MORAES-RIODADES, 2002). No entanto os machos de *M. rosenbergii* apresentam três morfotipos distintos (RA'ANAN & SAGI, 1985; SAGI et al., 1988). Os machos de *M. amazonicum* que se mantêm no morfotipo TC estabilizam o crescimento corpóreo a semelhança do ocorrido para *M. rosenbergii* nos morfotipos SM (SAGI e RA'ANAN, 1988). No entanto o morfotipo TC apresenta o sistema reprodutor bem desenvolvido, com valores para IGS semelhantes ao morfotipo dominante GC, como descrito para *M. rosenbergii* (SAGI & RA'ANAN, 1988). Esses dados sugerem uma atividade sexual intensa em machos de *M. amazonicum* TC, assim como ocorre nos machos SM de *M. rosenbergii* (SAGI e RA'ANAN, 1988).

Os machos TC de *M. amazonicum* podem se transformar no morfotipo CC, que possuem um sistema reprodutor relativamente pequeno apresentando o menor valor de IGS, quando comparado aos demais morfotipos. Este comportamento coincide com o morfotipo OC de *M. rosenbergii* (SAGI & RA'ANAN, 1988; RA'ANAN & SAGI, 1985).

O morfotipo CC de machos de *M. amazonicum*, apresentam o maior IHS quando comparado aos demais morfotipos, sugerindo que o hepatopâncreas esteja acumulando reserva de nutrientes para provável provisão de energia e mobilização desta para o metabolismo animal, assim como preconizado por DAHLL & MORIATY (1983), e mobilização de energia para o desenvolvimento gonadal, de acordo com o preconizado para o *M. rosenbergii* por SURESHKUMAR & KURUP (1999). Destaca-se ainda que o morfotipo CC de *M. amazonicum* apresenta o crescimento corpóreo para atingir o morfotipo GC', no entanto apresenta o menor IGS indicando que o sistema reprodutor permanece semelhante ao apresentado pelo TC. Desta forma acredita-se

que este morfotipo esteja acumulando energia para o rápido crescimento corpóreo e do sistema reprodutivo para atingir o morfotipo GC'. Em *M. rosenbergii* evidencia-se o maior crescimento na passagem do morfotipo SM para OC (SAGI & RA'ANAN, 1988), diferindo do crescimento apresentado em *M. amazonicum* que se intensifica na passagem do morfotipo CC para GC'.

O morfotipo GC' apresenta características semelhantes ao morfotipo GC por mostrarem os mesmos valores para os pesos do sistema reprodutor e do hepatopâncreas, embora os IHS e IGS apresentem valores diferentes, porém não significativos entre os morfotipos anteriormente citados. A diferença entre os morfotipos GC' e GC para os valores dos IHS e IGS se deve ao fato de haver um crescimento significativo no comprimento do quelípodo apresentado pelo morfotipo GC, aumentando desta forma o peso do corpo. Assim, os morfotipos GC' e GC, diferenciados pelo comprimento, coloração e espinação do quelípodo; não constituem dois morfotipos diferentes quando se considera o crescimento corpóreo, do sistema reprodutor e do hepatopâncreas, discordando em parte do postulado por MORAES-RIODADES (2002), que os considera como morfotipos diferentes. O morfotipo GC' se enquadraria como transição do morfotipo CC para GC, à semelhança do encontrado em *M. rosenbergii* que apresenta espécimes na transição entre SM para OC e de OC para BC (RA'ANAN, 1982; SAGI & RA'ANAN, 1988). A não diferenciação dos morfotipos GC' e GC em machos de *M. amazonicum* é confirmada pela análise estrutural dos testículos, os quais apresentam as mesmas características em ambos os morfotipos GC' e GC (PAPA & FRANCESCHINI-VICENTINI, 2003).

Em vários grupos de crustáceos, existem épocas específicas para que ocorra a reprodução e o crescimento somático (ARMITAGE et al.,

1973; ADIYODI, 1978). Para *Macrobrachium amazonicum* a época reprodutiva não parece estar correlacionada com mudanças sazonais ou ambientais, existindo um antagonismo entre a maturação testicular e a demanda de energia relacionada ao crescimento somático. Os morfotipos TC e GC representam a fase de maturação do sistema reprodutor, enquanto o morfotipo CC representa a fase de demanda de energia para crescimento somático na transformação para o morfotipo GC.

Desta forma concluí-se que segundo os estudos realizados com os Índices Gonadossomático e Hepatossomáticos, e os pesos do sistema reprodutor e hepatopâncreas, os machos de *M. amazonicum* apresentam três morfotipos distintos: TC, CC e GC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIYODI, R.G. Endocrine control of ovarian function in crustaceans. In: GAILLARD, P.J. e BOER, H.H. (eds). Comparative Endocrinology. **Elsevier**. p.25-28, 1978

ARMITAGE, K.B.; BUIKEMA, K.L.; WILLEMS, N.J. The effect of photoperiod on constituents and molting of the crayfish *Orconestes nais* (Faxon.) **Comp. Bioch. Physiol.** v.44A, p.431-456, 1973.

COHEN, D.; RA'ANAN, Z.; BRODY, T. Population profile development and morphotypical differentiation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). **J. World Marinec. Soc.** v.12, p.231-243, 1981.

DAHLL, W. & MORIATY, D.J.W. Functional aspects of nutrition and digestion: The midgut. In: BLISS, D.E.; MANTEL L.H. (eds). The biology of Crustacea, Vol. 5: International anatomy and physiological regulation. Academic Press, p. 215-251. 1983.

GHIDALIA, W. Structural and biological aspects of pigments. In: BLISS, D.E.; MANTEL L.H. (eds). The biology of Crustacea, Vol. 5: International anatomy and physiological regulation. Academic Press, p. 215-251, 1985.

HIRSHFIELD, M.F. & TINKLE, D.W. Natural selection and the evolution of reproductive effort. **Proc. National Acad. Sci.** v.72, p.2227-2231, 1975.

KURIS, A.M.; RA'ANAN, Z.; SAGI, A. COHEN, D. Morphotypic differentiation of male Malaysian giant prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. **J. Crust. Biol.** v.7, n.2, p.219-237, 1987.

MORAES-RIODADES, P.M.C. Diferenciação Morfotípica em machos de camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE). **Dissertação de Mestrado:** Universidade Estadual Paulista, Caunesp, pp.56, 2002.

PAPA, L.P. & FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B. Determinação dos índices gonadosomático e hepatossomático e análise estrutural dos testículos dos diferentes morfotipos de *Macrobrachium amazonicum*, **American J. Morphol.**, (submetido), 2003.

RA'ANAN, Z. & COHEN, D. The ontogeny of social structure in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) IN: WENNER, A. e SCHRAM, F.R. (eds), Crustacean issues 2: Crustacean growth. p.277-314, A.A. Balkema Publishers, 1985.

RA'ANAN, Z. & SAGI, A. Alternative mating strategies in male morphotypes of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). **Biol. Bull.** v.169, p.592-601, 1985

RA'ANAN, Z. Ontogeny of social structure in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). **PhD Thesis**, Life Sciences Institute of Jerusalem, Israel, pp.102,1982.

SAGI, A. & RA'ANAN Z. Morphotypic differentiation of males of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: changes in the midgut glands and the reproduction system. **Journal of Crustacean Biology**. v.8, n.1, p.43-47, 1988.

SAGI, A.; MILNER, Y.; COHEN, D. Spermatogenesis and sperm storage in the testes of behaviorally distinctive male morphotypes of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). **Biol. Bull.** v. 174, p. 330-336, 1988.

SAGI, A. Alternative reproduction strategies in males of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) – **M.Sc thesis**, Life Sciences Institute, Hebrew University of Jerusalem, Israel, pp.250, 1984.

SAS INSTITUTE. The SAS System for Windows, 1995.

SKINNER, D.M. Molting and regeneration. In: BLISS, D.E.; MANTEL L.H. (eds). The biology of Crustacea, Vol. 5: International anatomy and physiological regulation. Academic Press, p. 44-128, 1985.

SURESHKUMAR, S. & KURUP, B.M. Variations in hepatosomatic index and biochemical profiles among the male morphotypes of *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, v.176, p.285-293, 1999.

TELECKEY, J.M. Alternate male reproductive strategies in the Giant Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Pacific Science**. v.38, p. 372-373, 1984.

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

ANÁLISE DOS ÍNDICES GONADOSSOMÁTICO E HEPATOSSOMÁTICO
DE MACHOS DE *Macrobrachium amazonicum* ARRAÇOADOS COM
DIETAS CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE COLESTEROL

RESUMO

O colesterol é um importante esteroide animal sendo precursor de hormônios sexuais. A maioria dos animais pode sintetizar o colesterol através do acetato, mas não os crustáceos. Desta forma, na tentativa de esclarecer a relação direta entre a influência do colesterol no desenvolvimento gonadal, esse trabalho tem como objetivo uma análise dos Índices Gonadossomático e Hepatossomático, e na maturação gonadal do camarão de água doce *M. amazonicum*. Para tanto foram coletados 120 machos adultos do morfotipo TC. Esses animais foram separados em 12 caixas sendo 10 animais em cada. Com o propósito de avaliar o efeito do colesterol nos sistemas reprodutores, hepatopâncreas e a variação do peso do corpo em *M. amazonicum*, quatro grupos (T1 – 0%, T2 – 0,5%, T3 – 1,0%, e T4 – 2,0%) com três repetições cada um, receberam quatro tipos de dietas contendo diferentes concentrações de colesterol, por 50 dias. Os animais foram mortos por choque térmico à medida que atingiram o morfotipo GC e tiveram seus corpos pesados assim como o hepatopâncreas e o sistema reprodutor para posterior determinação dos IGS e IHS. Conclui-se, desta forma que o nível de colesterol adicionado à dieta do tratamento T4, para *M. amazonicum*, não proporciona o crescimento corpóreo e testicular. Apenas está propiciando aumento no peso do hepatopâncreas, o que indica que o animal está acumulando o colesterol como reserva energética neste órgão, e não está mobilizando esta reserva para uma melhora no seu desempenho. Possivelmente esta reserva de colesterol indique início de sobrecarga na função hepática do animal, podendo levar à falência do órgão, o que

comprometeria a vida do animal. Os fatores nutricionais podem ser a razão para o sucesso reprodutivo de machos mantidos sob condições de cativeiro. Já o tratamento T3, com a adição de 1 % de colesterol, mostrou-se como a melhor ração a ser oferecida aos animais adultos de *M. amazonicum* destinados ao cultivo em cativeiro.

Palavras chave: *Macrobrachium amazonicum*, colesterol, machos, morfotipos

ABSTRACT

Cholesterol is an important animal steroid mainly because it is a precursor of sexual hormones. While most of the animals can synthesize cholesterol from acetate, crustaceans are not able to do so. To better understand the effect of cholesterol on crustacean reproduction, this study evaluated the effects of cholesterol on gonad development in the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* by analyses of the gonadosomatic (GSI) and hepatosomatic (HSI) indices and gonad maturation. 120 prawn adult males of TC morphotype were held in 12 boxes with 10 individuals each and fed for 50 days with one of the following diets (3 boxes each): T1 = with no cholesterol at all; T2 = 0.5% cholesterol; T3 = 1.0% cholesterol; and T4 = 2.0% cholesterol. During this period, the prawns were killed by thermal shock as soon as they reached morphotype GC. Immediately after, GSI and HSI were calculated from body, gonad and hepatopancreas weights. Statistical analysis showed that prawns from T1 and T2 presented similar but the lowest mean values for IGS and HSI. The GSI was similarly higher for both T3 and T4; however, HSI was higher in T3 than T2. Considering these results, we conclude that diets with 1% cholesterol provides the best treatment for

cultivation of *M. amazonicum* adults, because it increases gonad development but does not excessively increase hepatopancreas.

Key-words: *Macrobrachium amazonicum*, cholesterol, males, morphotypes

INTRODUÇÃO

O conhecimento do sistema endócrino e da genética em espécies do gênero *Macrobrachium* constitui subsídios para a indução de taxas de crescimento destes animais. A implicação desse conhecimento no comportamento reprodutivo das espécies, por sua vez, pode favorecer a elaboração de técnicas de manejo reprodutivo com aplicação na aquicultura (GOLDBERG & OSHIRO, 2000).

O colesterol é um importante esterol animal que ocorre livre ou quimicamente ligado a ácidos graxos, sendo componente básico de biomembranas, importante para a manutenção da função e estrutura celular (GONG et al., 2000). Trata-se de precursor de numerosos componentes fisiológicos, como hormônios sexuais, hormônios de muda, corticóides adrenais, ácidos biliares e vitamina D (SHEEN, 2000). A maioria dos animais pode sintetizar o colesterol através do acetato, mas não os crustáceos (TESHIMA & KANAZAWA, 1971b; 1979; TESHIMA, 1982). Assim, uma dieta com adição de colesterol deve ser considerada essencial para um bom desenvolvimento e sobrevivência de crustáceos (SHEEN, 2000; GONG, et al., 2000).

O colesterol é o precursor da síntese de hormônios esteróides (KANAZAWA & TESHIMA, 1971) fundamentais no desenvolvimento de características sexuais, mobilização de reservas de nutrientes,

gonadogênese e gametogênese (TESHIMA & KANAZAWA, 1971a; 1971b; VEITH & MALECHA, 1983). Durante a maturação gonadal o colesterol é mobilizado do hepatopâncreas (LAUTIER & LAGANIGUE, 1988) e/ou músculo (TESHIMA et al., 1988), e é transportado para as gônadas. Entretanto a reserva de colesterol pode não ser suficiente. Assim, uma dieta com suplemento de colesterol durante o desenvolvimento gonadal é exigida para que ocorra a gonadogênese e gametogênese (TESHIMA & KANAZAWA, 1971a; 1971b), o que vem sendo observado em vários estudos com juvenis de camarão *Litopenaeus japonicus*, da lagosta americana *Homarus americanus*, crustáceos planctônicos, etc (TESHIMA; 2000).

Várias investigações têm demonstrado a necessidade da dieta com colesterol, e sua porcentagem estimada tem sido reportada na exigência nutricional de crustáceos (SHEEN, 2000). KANAZAWA et al. (1971) observam que quando juvenis de *P. japonicus* alimentados com dieta contendo 0,5% de colesterol obtiveram melhor crescimento. No entanto outros pesquisadores obtiveram melhor crescimento desta espécie com dietas contendo 0,2% (SHUDO et al., 1971) e 2,1% (DESHIMARU e KUROKI, 1974) de adição de colesterol. Ainda utilizando a mesma espécie *P. japonicus*, estudos realizados em laboratórios concluíram que os níveis de colesterol na dieta variam entre 0,5% a 2,0% (TESHIMA et al., 1983; TESHIMA & KANAZAWA, 1986, TESHIMA, 2000).

D'ABRAMO et al. (1984) encontram crescimento satisfatório para juvenis de *Homarus americanus* alimentados com dietas contendo entre 0,19% a 0,59% de colesterol. KEAN et al. (1985) reavaliam que a exigência ótima de colesterol para *H. americanus* é de 0,25% a 0,50% na dieta. D'ABRAMO et al. (1985) observam melhor crescimento para *Pacifastacus leniusculus* com adição de 0,40% de colesterol na dieta.

Estudos realizados com o camarão branco *Panaeus vannamei*, indicam melhor crescimento com o tratamento variando entre 0,23% a 0,42% de colesterol na dieta (DUERR & WALSH, 1996). EMERI (1987) reporta também que a pós-larva de *P. vannamei* exige 0,5% de colesterol na dieta. Para juvenis do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*, uma suplementação de 0,50% a 1,0% de colesterol, numa dieta contendo 0,12% de colesterol, não promove o crescimento significativo (BRIGGS et al., 1988).

Apesar da necessidade do colesterol e da sua importância para o metabolismo reprodutor, nenhum estudo sobre os impactos da deficiência de colesterol na produção de hormônios esteróides tem sido realizado. O aparente benefício da dieta com alimentos frescos, para o período reprodutivo, pode ser parcialmente atribuído pela proporção de colesterol presente nesta dieta (HARRISON, 2000).

Desta forma, na tentativa de esclarecer a relação direta entre a influência do colesterol no desenvolvimento gonadal, esse trabalho tem como objetivo uma análise dos Índices Gonadossomático (IGS) e Hepatossomático (IHS), e na maturação gonadal do camarão de água doce *M. amazonicum*. Essas informações básicas são imperativas para qualquer tentativa do controle do processo reprodutivo em camarões desta espécie brasileira.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um arrasto com rede de malha de 6 mm, para captura dos animais presentes nos viveiros do Setor de Carcinicultura do CAUNESP. Os animais capturados foram selecionados de modo que se obtive um grupo de 120 machos adultos do morfotipo TC – Translucent Claw (MORAES-RIODADES, 2002).

- ***Unidades Experimentais:***

Cada unidade experimental consistiu de uma caixa com capacidade para 1000L, sendo cada uma provida de filtro biológico com capacidade de 10L, aeração e termostatos para a manutenção da temperatura constante. Desta forma, os animais foram mantidos em sistema de circulação de água fechado. Cabe destacar que cada unidade experimental abrigou 10 machos. Cada caixa apresentava o seu material específico para o manejo, evitando-se possíveis contaminações.

Diariamente, foram realizados manejos que consistiram das seguintes etapas: monitoramento e controle da temperatura, fornecimento do alimento, e sifonagem das caixas para eliminação de fezes e sobras de ração, uma vez ao dia (manhã).

O controle da qualidade de água foi realizado semanalmente, por meio de análises do pH (peagômetro digital Micronal B374), oxigênio dissolvido (oxímetro YSI modelo 55) e compostos nitrogenados como amônia (SOLORZANO, 1969) e nitrito (STRICKLAND & PARSONS, 1972) e da alcalinidade.

- **Seleção e Aclimação dos *M. amazonicum*:**

Os animais foram selecionados de modo a obter-se um grupo de machos de tamanho homogêneo. Estes foram acomodados em grupos de 10 animais em cada caixa, passando por um período de 15 dias para aclimação e assimilação da dieta.

- **Grupos Experimentais:**

Com o propósito de avaliar o efeito do colesterol nos sistemas reprodutores, hepatopâncreas e a variação do peso do corpo em *M. amazonicum*, quatro grupos (T1, T2, T3, e T4) com três repetições cada um, receberam quatro tipos de dietas contendo lipídios, proteínas e fibra vegetal, acrescidas de diferentes concentrações de colesterol, por 50 dias.

Os animais foram alimentados uma vez ao dia. O grupo experimental "T1" recebeu dieta alimentar sem adição de colesterol (Tabela 1). O grupo experimental "T2" recebeu dieta alimentar com adição de colesterol na proporção de 0,5% (Tabela 1). O grupo experimental "T3" recebeu dieta alimentar com adição de colesterol na proporção de 1,0% (Tabela 1). O grupo experimental "T4" recebeu dieta alimentar com adição de colesterol na proporção de 2,0% (Tabela1). Os animais foram mortos por choque térmico à medida que atingiram o morfotipo GC, para em seguida realizar-se o procedimento a seguir:

- ***Determinação dos Índices Gonadosomáticos (IGS) e Hepatosomático (IHS)***

Para determinação dos IGS e IHS foram realizadas as pesagens iniciais do corpo dos animais coletados. Posteriormente, procedeu-se à dissecação dos animais com a finalidade da retirada do sistema reprodutor masculino e do hepatopâncreas de cada indivíduo. Foi realizada então, a pesagem individual de cada órgão retirado para avaliação da porcentagem destes em relação ao peso total do animal, estabelecendo, portanto, o IGS e o IHS.

$$\text{IGS (\%)} = \frac{\text{Peso Sistema Reprodutor}}{\text{Peso total}} \times 100$$

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 30 réplicas (machos) por tratamento. A partir dos resultados, foi feita Análise de Variância (GLM) e teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$). Para a conformidade dos resultados utilizou-se o programa SAS (1995).

Tabela 1. Composição percentual e química das rações experimentais de *Macrobrachium amazonicum*.

Alimentos (%)	T1	T2	T3	T4
Albumina	34,40	34,40	34,40	34,40
Amido de milho	39,73	39,23	38,73	37,73
Colesterol	0,0	0,5	1,0	2,0
BHT (antioxidante)	0,02	0,02	0,02	0,02
Calcário	2,10	2,10	2,10	2,10
Celulose	7,70	7,70	7,70	7,70
Fosfato bicálcico	5,30	5,30	5,30	5,30
Gelatina	7,00	7,00	7,00	7,00
Óleo de soja	1,60	1,60	1,60	1,60
Óleo de peixe	1,60	1,60	1,60	1,60
Suplemento Mineral.	0,50	0,50	0,50	0,50
Vitamínico				
Vitamina C	0,05	0,05	0,05	0,05
Nutrientes (%)				
PB	35,00	35,00	35,00	35,00
ED	3200	3200	3200	3200
Colesterol	0,00	0,50	1,0	2,0
Cálcio	2,00	2,00	2,00	2,00
EB	3200	3200	3200	3200
FB	6,00	6,00	6,00	6,00
P	1,00	1,00	1,00	1,00
EE	3,30	3,30	3,30	3,30
PB	35,00	35,00	35,00	35,00
Vit.C (mg/Kg)	170	170	170	170

RESULTADOS

Durante todo o experimento, os parâmetros da qualidade de água apresentaram-se constantes nas unidades experimentais. A temperatura média permaneceu em torno 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.

Os animais foram coletados à medida que atingiam o morfotipo GC. O tratamento T4 (2,0% de colesterol) apresenta diferença

significativa ($p < 0,05$) no número de espécimes que atingem o morfotipo GC, em relação aos tratamentos T1, T2 e T3 (0%, 0,5% e 1,0% de colesterol, respectivamente) (Tabela 1).

- ***Comparação entre os pesos do Hepatopâncreas, do Sistema Reprodutor e do Corpo de *M. amazonicum*.***

A comparação entre o peso do hepatopâncreas e o peso do sistema reprodutor, incluindo testículos, ductos espermáticos, e ampolas, foi realizado para cada um dos quatro tratamentos com diferentes níveis de colesterol T1 (0%), T2 (0,5%), T3 (1,0%) e T4 (2,0%). A tabela 1 evidencia que os machos dos tratamentos T1, T2 e T3 apresentam o peso do hepatopâncreas de 6,4 a 7,6 vezes, significativamente maior ($p < 0,05$) que o peso do sistema reprodutor. Já os machos do tratamento T4 apresentam essa relação 8,75 vezes maior significativamente ($p < 0,05$) (Tabela 2). Ainda pode-se evidenciar que os machos dos tratamentos T1 e T2 apresentam o peso do sistema reprodutor sem diferença significativa ($p < 0,05$), assim como os machos dos tratamentos T3 e T4 não apresentam diferença significativa entre eles ($p < 0,05$). Porém o grupo formado pelos tratamentos T1 e T2 difere significativamente do grupo formado pelos tratamentos T3 e T4 ($p < 0,05$). (Tabela1).

Comparando-se os pesos relativos do hepatopâncreas, do sistema reprodutor de *M. amazonicum* nos machos dos tratamentos T3 e T4, observa-se que existe diferença significativa ($p < 0,05$) no peso do hepatopâncreas entre os machos destes tratamentos ($0,38 \pm 0,04$ e $0,49 \pm 0,05$, respectivamente) (Tabela 1). No entanto o crescimento do sistema reprodutor não difere significativamente ($p < 0,05$) entre os

espécimes nestes mesmos tratamentos, ($0,054 \pm 0,004$ e $0,056 \pm 0,006$, respectivamente) (Tabela 1).

O peso do corpo dos espécimes dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 não apresenta diferença significativa entre eles ($p < 0,05$) ($5,36g \pm 0,43$, $5,72g \pm 0,64$, $6,11g \pm 0,53$ e $6,09g \pm 0,8$ respectivamente) (Fig. 5). Estatisticamente não há diferença significativa ($p < 0,05$) no crescimento do corpo em relação aos tratamentos com diferentes níveis de colesterol, porém o índice relativo de comparação mostra que há crescimento de 7% entre os machos dos tratamentos T1 e T2, 14% entre T1 e T3 e 13,6% entre T1 e T4.

Tabela 1. Caracterização dos machos submetidos diferentes concentrações de colesterol de *Macrobrachium amazonicum* *

Tratamentos	Peso do Corpo (g) (\pm SD)	Peso do Testículo (g) (\pm SD)	Peso do Hepatopâncreas (g) (\pm SD)	Número de machos Colesterol
T1	$5,36 \pm 0,71$	$0,039 \pm 0,008$	$0,25 \pm 0,03$	15
T2	$5,72 \pm 0,64$	$0,038 \pm 0,006$	$0,29 \pm 0,03$	15
T3'	$6,11 \pm 0,53$	$0,054 \pm 0,004$	$0,38 \pm 0,04$	17
T4	$6,09 \pm 0,8$	$0,056 \pm 0,006$	$0,49 \pm 0,05$	23

T1 = 0%; T2 = 0,5%; T3 = 1,0%; T4 = 2,0%.

• **Índice Hepatossomático e Gonadossomático**

Os pesos relativos do hepatopâncreas e do sistema reprodutor foram calculados como porcentagens do peso total do corpo, determinando-se o índice hepatossomático (IHS) e gonadossomático (IGS), respectivamente (Fig. 1 e 2). Para o IHS não encontra-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os machos dos tratamentos T1 e T2 ($4,72 \pm 0,3$ e $5,14 \pm 0,56$, respectivamente). Machos do tratamento T4 ($8,10 \pm 0,69$) são caracterizados por um aumento significativo ($p < 0,05$) do IHS quando comparados aos machos dos tratamentos T3 ($6,19 \pm 0,72$), e do grupo formado por espécimes dos tratamentos T1 e T2. Ainda

observa-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os machos do tratamento T3 e do grupo de machos T1 e T2. Ao mesmo tempo, o peso relativo do sistema reprodutor (IGS) não apresenta diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos T1 e T2, nem entre os tratamentos T3 e T4, muito embora o grupo formado pelos tratamentos T3 e T4 ($0,88 \pm 0,06$ e $0,93 \pm 0,06$, respectivamente, $p < 0,05$) apresentem diferença significativa ($p < 0,05$), quando comparado ao grupo formado pelos tratamentos T1 e T2 ($0,72 \pm 0,08$ e $0,67 \pm 0,08$, respectivamente).

Nos parâmetros, peso do sistema reprodutor e IGS, os espécimes dos tratamentos T3 e T4 não apresentam diferença significativa ($p < 0,05$). Porém os machos destes tratamentos apresentam diferença para o peso do hepatopâncreas e IHS ($p < 0,05$).

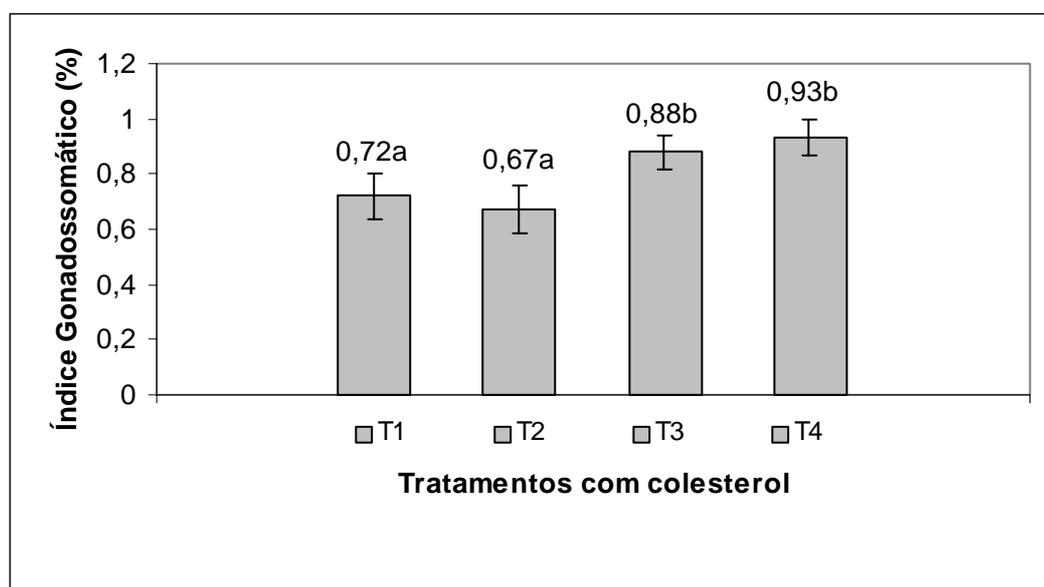


Figura 1: Índice Gonadossomático (IGS) dos machos adultos de *M. amazonicum*, submetidos a diferentes tratamentos com adição de colesterol. Tratamentos: T1 = 0%, T2 = 0,5%, T3 = 1,0%, T4 = 2,0%.

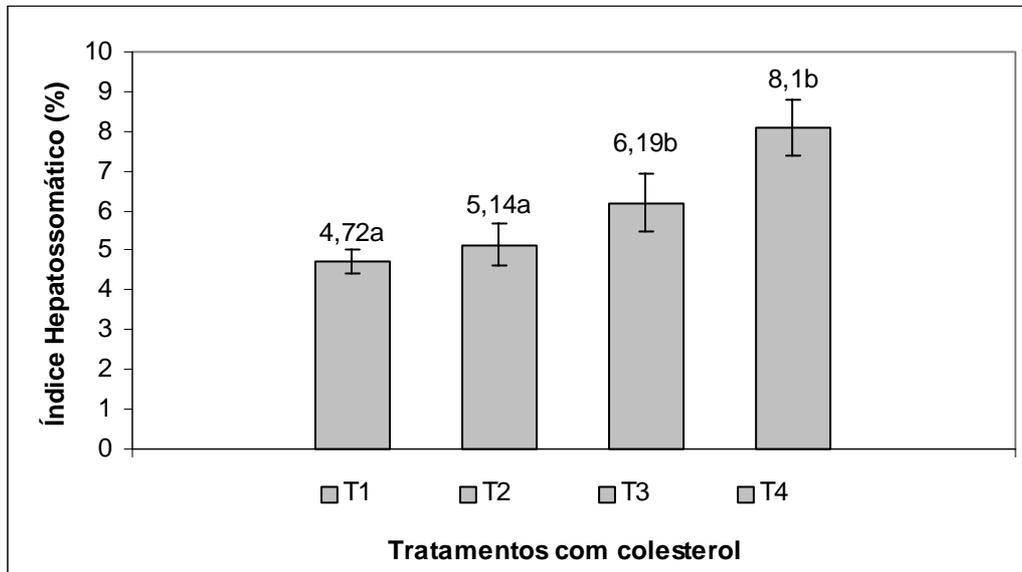


Figura 2: Índice Hepatosomático (%) dos machos adultos de *M. amazonicum*, submetidos a diferentes tratamentos com adição colesterol. Tratamentos: T1 = 0%, T2 = 0,5%, T3 = 1,0%, T4 = 2,0%.

DISCUSSÃO

O colesterol apresenta importância essencial na reprodução, porém nenhuma investigação avaliou aspectos referentes à influência deste composto no desempenho reprodutivo de camarões de água doce (TESHIMA, 2000). No entanto a reprodução é beneficiada em animais alimentados com comida fresca, talvez pelo nível de colesterol que o alimento possua (HARRISON, 2000). No presente estudo avalia-se o crescimento relativo do hepatopâncreas e do sistema reprodutor frente à dieta com adição de diferentes concentrações de colesterol. Os tratamentos que apresentam os menores níveis de colesterol indicam que este elemento é de fato importante para o crescimento do sistema reprodutor e do hepatopâncreas em *M. amazonicum*, uma vez que estes animais apresentam os menores pesos em ambos os parâmetros, quando comparados aos animais alimentados com 1% e 2% de adição de colesterol (T3 e T4, respectivamente).

As dietas dos tratamentos T3 e T4 proporcionam um aumento no peso do sistema reprodutor e no hepatopâncreas de *M. amazonicum*,

porém com relação especificamente ao aparelho reprodutor, a adição de ambos os níveis de colesterol à dieta, não proporciona diferença significativa entre os grupos experimentais. No entanto nota-se que a dieta contendo 2% de colesterol proporciona aumento significativo do peso do hepatopâncreas, quando comparado à dieta com 1% de colesterol. Acresce-se a este fato, que o peso do corpo dos animais submetidos ao tratamento T4 diminui em relação ao peso do corpo dos animais submetidos ao tratamento T3, demonstrando que a dieta contendo 2% de colesterol não promove o crescimento de *M. amazonicum*. Em *M. rosenbergii* BRIGGS et al. (1988) demonstra que a suplementação de 0,5% e 1,0% de colesterol não promove o crescimento corpóreo. No entanto altos níveis de colesterol inibem o crescimento corpóreo em crustáceos, como por exemplo, a adição de 5,0% de colesterol para *Peneaus japonicus* (KANAZAWA et al, 1971), 2,0% para *Homarus americanus* (CASTELL et al., 1975) e 1,45% para *Peneaus leniusculus* (D'ABRAMO et al., 1985).

Conclui-se, desta forma que o nível de colesterol adicionado à dieta do tratamento T4, para *M. amazonicum*, não proporciona o crescimento corpóreo e testicular. Apenas está propiciando aumento no peso do hepatopâncreas, o que indica que o animal está acumulando o colesterol como reserva energética neste órgão, e não está mobilizando esta reserva para uma melhora no seu desempenho. Possivelmente esta reserva de colesterol possa indicar um início de sobrecarga na função hepática do animal, podendo levar à falência do órgão, o que comprometeria a vida do animal e conseqüentemente a produção como um todo. Os fatores nutricionais podem ser a razão para o sucesso reprodutivo de machos mantidos sob condições de cativeiro (ADIYODI, 1978; SAMUEL et al., 1999). Já o tratamento T3, com a adição de 1 % de

colesterol, mostra-se como a melhor ração a ser oferecida aos animais adultos de *M. amazonicum* destinados ao cultivo em cativeiro.

Estudos são necessários para determinar a porcentagem ideal de colesterol para a adição na dieta de *M. amazonicum*, que provavelmente esteja entre os níveis 1% e 2% de colesterol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIYODI, R.G. Endocrine control of ovarian function in crustaceans. In: GAILLARD, P.J. e BOER, H.H. (eds). Comparative Endocrinology. **Elsevier**. p.25-28, 1978.

BRIGGS, M.R.P.; JAUNCEY, K.; BROWN, J.H. The cholesterol and lecithin requirements of juvenile prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) fed semi-purified diets. **Aquaculture**, v. 70, p. 121-129, 1988.

CASTELL, J.D.; MASON, E.G.; COVEY, J.F. Cholesterol requirements of juvenile American lobsters (*Homarus americanus*). **J. Fish. Reserc. Canada**. v. 32, p.1431-1435, 1975.

D'ABRAMO, L.R.; BORDNER, C.E.; CONKLIN, D.E., BAUM, N.A. Sterol requirement of juvenile lobsters, *Homarus* sp. **Aquaculture**. v.42, p.13-25, 1984.

D'ABRAMO, L.R.; WRIGTH, J.S.; WRIGHT, K.H.; BORDNER, C.E.; CONKLIN, D.E. Sterol requirements of cultured juvenile crayfish *Pacifasticus leniusculus*. **Aqualculture**, v.49, p. 245-255, 1985.

DESHIMARU, O. & KUROKI, K. Studies on a purified diet for prawn: II optimum contents of cholesterol and glucosamine in the diet. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.** v.40, p.421-424, 1974.

DUERR, E.O. & WALSH, W.A. Evaluation of cholesterol addition to a soyabean meal-based diet for juvenile Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone), in an outdoor growth trial. **Aquaculture**. v.2, p.111-116, 1996.

EMERY, A.E. The cholesterol and lecithin requirement of the marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. **Ms Thesis**, Department of Wild Life and Fisheries Sciences, Texas A&M University, College Station, TX, USA, 1987.

GOLDBERG, R.S. & OSHIRO, L.M.Y. Eficiência da Eletroejaculação de morfotipos machos do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*. **Rev. Brás. Zootec.** v. 29, n.1, p.1-5, 2000.

GONG, H.; LAWRENCE, A.L.; JIANG, D.H.; CASTILLE, F.L.; GATLIN III, D.M. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei*. I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. **Aquaculture**. v. 190, p.305-324, 2000.

HARRISON, K.E. Broodstock Nutrition and Maturation Diets. In:New, M.B. & Valenti, W. C. (ed.) **Freshwater Prawn Culture: The farming of *Macrobrachium rosenbergii***. Oxford, Blackwell Science .p.390-408, 2000.

KANAZAWA, A. & TESHIMA, S. In vivo conservation of the cholesterol to steroid hormones in the spiny lobsters *Penaeus japonicus*. Bulletin of the Japanese Society of Science Fisheries. v.37, p.891-897, 1971.

KANAZAWA, A.; TANAKA, N.; TESHIMA, S. KASHIWADA, K. Nutritional requirements of prawn: II Requirement for sterol. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.** v. 37, p. 211-215, 1971.

KEAN, J.C.; CASTELL, J.D.; BOGHEN, A.G.; D'ABRAMO, L.R.; CONKLIN, D.E. A re-evaluation of the lecithin and cholesterol requirements of juvenile lobster (*Homarus americanus*) using crab protein based diet. **Aquaculture**, v.47, p.143-149, 1985.

LAUTIER, J. & LAGANIGUE, J.C. Lipid metabolism of the crab *Pachygrapsus mamoratus* during the vitellogenesis. **Biochemical Systematic and Ecology**. v.16, p.203-212, 1988.

MORAES-RIODADES, P.M.C. Diferenciação Morfotípica em machos de camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE). **Dissertação de Mestrado:** Universidade Estadual Paulista, Caunesp, pp.56, 2002.

SAMUEL, J.M.; KANNUPANDI, T.; SOUNDARAPANDIAN, P. Nutricional effects on male reproductive performance in the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* (H. Milne Edward) **Aquaculture**. v.172, p.327-333, 1999.

SAS INSTITUTE. The SAS System for Windows, 1995.

SHEEN, S.S. Dietary cholesterol requirement of juvenile mud crab *Scylla serrata*. **Aquaculture**. v. 189, p.277-285, 2000.

SHUDO, K.; NAKAMURA, K.; ISHIKAWA, S.; KITABAYASHI, K. Studies on the growth promoting effects of both squid liver oil and cholesterol. **Bull. Tokai Reg. Fish Res. Lab.** v. 65, p. 129-137, 1971.

SOLORZANO, L. Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypoclorite method. **Limnology and Oceanography**, v.14, p.799-810, 1969.

STRICKLAND, J.D.H. & PARSONS, T.R. **A practical handbook of seawater analysis**. Fisheries Researt board of Canada. Ottawa, Canada, 1972.

TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. Bioconversion of progesterone by the ovaries crab *Portunus trituberculatus*. **Comp. Biochem. Physiol.** v.17 p. 152-157,1971b.

TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. Biosynthesis of esterol in the lobster *Panulirus japonica*, the prawn *Peneaus japonicus* and the crab *Portunus trituberculates*. **Comparative Biochemistry and Phisiology**. v.38B, p.597-602, 1971a.

TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. Lipid transport mechanism in the prawn. **Bull. Jap. Soc. Scin.** v.45, p.1341-1346, 1979.

TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. Nutritive value of sterol for juvenile of *Peneaus japonicus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v.42, p.535-679, 1986.

TESHIMA, S. KANAZAWA, A. SASADA, H. Nutritionla value of dietary cholesterol and others sterol to larval prawn, *Peneaus japonicus* Bate. **Aquaculture**, v.31, p.159-167, 1983.

TESHIMA, S. KANAZAWA, S.; KOSHIO, S. HORINOUCHE, K. Lipid metabolism in destalked prawn *Peneaus japonicus* Induced maturation and accumulation of lipids in the ovaries. **Bull. Jap. Soc. Scic. Fish.** v.45, 1115-1122, 1988.

TESHIMA, S. Lipid *In*: YONE, Y. (ed) Fish nutricion and diets. **Suisangaku Series n. 54**, Tokyo, Japan, p.20-30, 1985.

TESHIMA, S. Phospholipids and Sterol. *In*: New, M.B. & Valenti, W. C. (ed.) **Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii**. Oxford, Blackwell Science .p.429-434, 2000.

TESHIMA, S. Sterol metabolism. **Memoirs of the Faculty of Fishieries**, Kagoshima University, v. 21, p. 69-147, 1972.

TESHIMA, S. Sterol metabolism. *In*: PRUDER, G.D.; LANGDON, C.; CONKLIN, D. (eds), **Proc. Inter. Conf. Aquacult. Nut.**, Luisiana State University. p. 205-216, 1982.

VEITH, W.J. & MALECHA, S.R. Histochemical study of the distribution of lipids 3α e 3β -hydroxysteroid dehydrogenase in the androgenic gland of the cultured prawn *macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Crustacea, Decapoda). **South African Journal of Science**. v.79, p.83-85, 1983.

CONCLUSÕES GERAIS

Conclui-se que:

- De acordo com as características estruturais dos testículos, e os Índices Gonadossomático (IGS) e Hepatossomático (IHS), o camarão de água doce *M. amazonicum* apresenta três padrões testiculares, sendo categorizados em três morfotipos TC, CC e GC. Estudos do comportamento social e reprodutivo são necessários para um melhor conhecimento desta espécie e conseqüente manejo na aquicultura em escala comercial.
- O tratamento com a adição de 1 % de colesterol se mostra como a melhor ração a ser oferecida aos machos adultos de *M. amazonicum* destinados ao cultivo em cativeiro para a reprodução.
- A adição de 2,0% de colesterol proporciona a inibição do crescimento corpóreo e não proporciona o crescimento testicular. Apenas há o crescimento do hepatopâncreas, o que possivelmente possa indicar um início de sobrecarga na função hepática do animal, podendo levar à falência do órgão, o que comprometeria a vida do animal e conseqüentemente a produção como um todo.