

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**“DESENVOLVIMENTO CELULAR DO  
EPITÉLIO GERMINATIVO FEMININO E  
RENOVAÇÃO DAS CÉLULAS-TRONCO  
DURANTE O CICLO REPRODUTIVO DE  
*MACROBRACHIUM JELSKII* (DECAPODA:  
PALAEMONIDAE)”**

**Régis Augusto Silva Gouveia**

Jaboticabal – São Paulo

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**“DESENVOLVIMENTO CELULAR DO  
EPITÉLIO GERMINATIVO FEMININO E  
RENOVAÇÃO DAS CÉLULAS-TRONCO  
DURANTE O CICLO REPRODUTIVO DE  
*MACROBRACHIUM JELSKII* (DECAPODA:  
PALAEMONIDAE)”**

**Régis Augusto Silva Gouveia**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Talita Sarah Mazzoni**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

**Jaboticabal – São Paulo**

**2023**

G719d Gouveia, Régis Augusto Silva  
Desenvolvimento celular do epitélio germinativo feminino e  
renovação das células-tronco durante o ciclo reprodutivo de  
Macrobrachium jelskii (Decapoda: Palaemonidae) / Régis Augusto  
Silva Gouveia. -- Jaboticabal, 2023  
iii, 77 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro  
de Aquicultura, 2023

Orientadora: Talita Sarah Mazzoni

Banca examinadora: Arno Juliano Butzge, Giovana Souza Branco

Bibliografia

1. Decapoda (Crustacea). 2. Macrobrachium. 3. Ovários. 4.  
Folículo ovariano. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.03

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Desenvolvimento celular do epitélio germinativo feminino e renovação das células-tronco durante o ciclo reprodutivo de *Macrobrachium jelskii* (Decapoda: Palaemonidae)

**AUTOR: RÉGIS AUGUSTO SILVA GOUVEIA**  
**ORIENTADORA: TALITA SARAH MAZZONI**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. TALITA SARAH MAZZONI (Participação Virtual)  
Depto de Biologia Celular e do Desenvolvimento / Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Documento assinado digitalmente



GIOVANA SOUZA BRANCO

Data: 15/02/2024 14:18:25-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós-Doutoranda GIOVANA SOUZA BRANCO (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia, UNESP, Ilha Solteira-SP



Pós-Doutorando ARNO JULIANO BUTZGE (Participação Virtual)  
Laboratório de Genética / Centro de Aquicultura da Unesp, Caunesp, Jaboticabal-SP

Jaboticabal, 18 de dezembro de 2023

# SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA</b> .....	<b>1</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>2</b>
<b>APOIO FINANCEIRO</b> .....	<b>3</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>4</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>6</b>
1.1. Os Decapoda, a família Palaemonidae e o gênero <i>Macrobrachium</i> .....	6
1.2. Aspectos da Biologia Reprodutiva .....	7
1.3. Estrutura Ovariana, Epitélio Germinativo e o Ciclo Reprodutivo .....	8
1.4. O Modelo Biológico .....	9
1.5. Justificativa .....	11
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
2.1. Objetivos Gerais .....	13
2.2. Objetivos Específicos.....	13
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>21</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>22</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>23</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>24</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
2.1. Os Animais.....	26
2.2. Microscopia de Luz .....	26
2.2.1. Método de Reticulina .....	26
2.2.2. Investigação da Proliferação Celular através da Imunohistoquímica do PCNA (antígeno nuclear de proliferação celular) .....	27
<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b>28</b>
3.1. Estrutura do sistema reprodutor feminino .....	28
3.2. Estrutura gonadal.....	28
3.3. Epitélio germinativo.....	30
3.4. Foliculogênese, início da meiose e desenvolvimento oocitário .....	33
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	<b>40</b>
4.1. Ninhos germinativos e a foliculogênese.....	40
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>45</b>

<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>51</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>52</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>53</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>54</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>56</b>
2.1. Área de estudo e amostragem.....	56
2.2. Os espécimes .....	56
2.3. Análise Histológica.....	56
<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b>60</b>
3.1. Estrutura do sistema reprodutor feminino .....	60
3.2. Fases reprodutivas.....	62
3.3. Estrutura Populacional das Fêmeas e Período Reprodutivo.....	65
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	<b>68</b>
4.1. Fases reprodutivas.....	68
4.2. Estrutura Populacional das Fêmeas e Período Reprodutivo.....	69
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>71</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>72</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	<b>76</b>

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha família e meus amigos que me incentivaram e me apoiaram em todos os momentos.

*“Ser cientista é ser ingênuo. Estamos tão concentrados na nossa busca pela verdade que deixamos de considerar quão poucos realmente querem que a encontremos. Mas está sempre lá, quer a vejamos ou não, quer queiramos ou não.”*

(Chernobyl – HBO Série)

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço aos meus pais, meu irmão e minha namorada pela constante força e apoio durante esses anos. Cada um foi essencial para o meu sucesso. Agradeço também aos meus amigos de longa data e aos que fiz nessa jornada, pelas conversas, conselhos e por não me deixarem sozinho.

Sou grato à UNESP e ao CAUNESP pela oportunidade e toda a experiência que tive trabalhando ao longo do meu período de mestrado, e agradecimentos à UNIFAL-MG e a todos os colaboradores e colegas por terem possibilitado a realização da minha pesquisa.

Também desejo agradecer ao Professor Rafael Henrique Nóbrega pela chance de iniciar como seu aluno neste programa de pós-graduação, e principalmente, manifesto meu agradecimento à Professora Dra. Talita Sarah Mazzoni, pela orientação e pela oportunidade de colaboração ao longo desses anos.

Agradeço também, por fim, à CAPES pelo auxílio e bolsa durante os anos do mestrado.

## **APOIO FINANCEIRO**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

O desenvolvimento inicial das células germinativas femininas nos diferentes animais pode ocorrer dentro de cistos germinativos, formados a partir de uma única oogônia associada à célula epitelial, entretanto não está claro em quais grupos a foliculogênese ocorre de forma cística. Assim, na intenção de entender a foliculogênese nos Decápodes, descreveu-se, à microscopia fotônica, a formação dos folículos ovarianos, o desenvolvimento dos oócitos, a determinação de fases reprodutivas e o ciclo reprodutivo de *Macrobrachium jelskii*. O ovário de *M. jelskii* apresenta lóbulos ovarianos nos quais ocorre desenvolvimento oocitário a partir de uma zona proliferativa, em que estão as oogônias indiferenciadas e diferenciadas, e oócitos profásicos iniciais, organizados em ninhos, delimitados por células epiteliais. Durante as divisões celulares, as oogônias e oócitos segreram-se por completo, não havendo formação de cisto germinativo. Ao entrar em diplóteno, o oócito abandona a zona proliferativa e segue para a zona de crescimento se desenvolvendo no lóbulo ovariano. As células epiteliais diferenciam-se em foliculares, sintetizam uma membrana basal, delimitando o lóbulo ovariano e envolvendo cada oócito. Assim, formam-se os primeiros folículos ovarianos. Os oócitos seguem seu desenvolvimento, incorporando vitelo, até atingir sua maturação oocitária. A partir das alterações deste epitélio germinativo, traçou-se o ciclo reprodutivo da população de *M. Jelskii* no sul de MG, que é moldado de acordo com as condições do habitat. Em conclusão, a foliculogênese é um processo bastante conservado entre animais aquáticos e o conhecimento do período reprodutivo da espécie permite seu manejo seguro, garantindo a preservação da biota existente num determinado habitat.

**Palavras-chave:** Decapoda, *Macrobrachium*, folículo ovariano, aquicultura.

## ABSTRACT

Early development of female germline cells in different animals can occur within germline cysts, formed from a single oogonia associated with the epithelial cell. However it is not clear in which groups the folliculogenesis is cystic. Thus, in an attempt to understand the folliculogenesis in Decapods, the formation of ovarian follicles, the development of oocytes, the determination of reproductive phases and the reproductive cycle of *Macrobrachium jelskii* were described using light microscopy. The ovary of *M. jelskii* presents ovarian lobules in which the oocyte development occurs from a proliferative zone, in which there are undifferentiated and differentiated oogonia, and early prophase oocytes, organized in nests, delimited by epithelial cells. During cell division, the oogonia and oocytes are completely segregated and there is not germline cysts formation. The diplotene oocyte leaves the proliferative zone and migrates to the growth zone, developing within the ovarian lobule. Epithelial cells differentiate into follicle cells and they synthesize a basement membrane, delimiting the ovarian lobule and surrounding each oocyte. Thus, the first ovarian follicles are formed. The oocytes continue their development, incorporating yolk, until they reach oocyte maturation. Based on the changes in this germinal epithelium, the reproductive cycle of the *M. Jelskii* population in southern MG was traced, which is shaped according to habitat conditions. In conclusion, folliculogenesis is a very conserved process among aquatic animals and knowledge of the species' reproductive period allows its safe management, guaranteeing the preservation of the biota existing in a specific habitat.

**Keywords:** Decapod, *Macrobrachium*, ovarian follicle, aquiculture.

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

## 1.1. Os Decapoda, a família Palaemonidae e o gênero *Macrobrachium*

Os crustáceos, pertencentes ao subfilo Crustacea, formam um grupo bastante diversificado, sendo este um dos maiores grupos dentro do Filo Arthropoda. Comumente conhecidos pelos caranguejos, lagostins, lagostas, camarões e tatuzinhos de jardim, os Crustacea apresentam atualmente mais de 70.000 espécies descritas, sendo a ordem Decapoda a mais diversificada, abrangendo em torno de 15.000 espécies (De Grave e Fransen, 2011). Dentre estas, encontram-se as lagostas, camarões e caranguejos, sendo, a maioria destas espécies, de grande interesse econômico (Ray et al., 2021).

Os Decapoda apresentam duas subordens, sendo estas a Dendrobranchiata, que incluem os camarões marinhos, e a Pleocyemata, representada por camarões, lagostas, lagostins, caranguejos, siris e ermitões (Martin e Devis, 2001). Uma de suas infraordens, a infraordem Caridea, é representada por camarões que apresentam grande diversidade de habitats, sendo encontrados desde regiões tropicais até regiões polares, seja em águas marinhas, dulcícolas ou salobras (Fransen e De Grave, 2015; Fukuda, 2015). Dentre estes, os camarões carídeos, que habitam águas dulcícolas, são representados pelas famílias Atyidae e Palaemonidae (Mantelatto et al., 2016).

A família Palaemonidae, com cerca de 980 espécies (De Grave e Fransen, 2011), constitui a maior família de camarões (Anger, 2013), os quais são capazes de habitar oceanos, estuários e rios de regiões tropicais e subtropicais (Fransen e De Grave, 2015; Mantelatto et al., 2016). Tal plasticidade fisiológica, fenotípica e ecológica (Anger, 2013; Bauer, 2023) se deve ao fato de seus ancestrais marinhos terem invadido e colonizado ambientes dulciaquícolas, o que possibilitou diferentes especiações (Ashelby et al., 2012), notavelmente dentro do gênero *Macrobrachium*, que tiveram grande sucesso na colonização de ambientes estuarinos e dulcícolas (Pileggi e Mantelatto, 2010; Anger, 2013).

Os representantes do gênero *Macrobrachium*, ao conquistarem gradativamente o ambiente de água doce, passaram a apresentar, como

consequência do processo, redução no tamanho corporal; perda de dimorfismo sexual; redução do número e aumento do tamanho dos ovos; redução de estágios larvais, com eclosão de larva e/ou juvenil maior; e independência de água salobra e/ou marinha (Jalihal et al., 1993). Com uma distribuição ampla em regiões tropicais e subtropicais, este gênero abrange uma vasta diversidade geográfica e compreende 246 espécies identificadas, das quais 19 delas podem ser encontradas no Brasil (De Grave e Fransen, 2011; Maciel et al., 2011; Pileggi e Mantelatto, 2012; De Grave e Ashelby, 2013; Dos Santos et al., 2013; Vera-Silva et al., 2016; Rocha e Barbosa, 2017).

Muitas espécies de camarões de água doce do gênero *Macrobrachium* são objeto tanto da exploração comercial, como da pesca artesanal, apresentando grande interesse econômico e científico (Fransozo et al., 2004). Nas últimas décadas a produção anual total de camarões de água doce desse gênero aumentou para quase 444.000 toneladas (New e Nair, 2012). Entretanto, a exploração indiscriminada dos estoques naturais, pode causar a diminuição e, até mesmo, a extinção desses organismos. Além disso, os sistemas naturais, sendo intensamente modificados pela ação humana, podem também acarretar a diminuição desses estoques naturais (Fukuda, 2015), uma vez que interferem direta ou indiretamente na reprodução das espécies.

## **1.2. Aspectos da Biologia Reprodutiva**

A maioria dos Crustacea são animais dioicos (Bauer, 2023), com indivíduos de uma população expressando apenas um sexo durante toda sua vida. No entanto, tendo em conta o grande número de espécies com padrões ambientais ou epigenéticos de determinação do sexo, vários sistemas sexuais ocorrem em diferentes táxons (Subramoniam, 2017a), havendo extensa variação em suas estratégias reprodutivas, determinando condições gonocóricas ou hermafroditas (Ombretta et al., 2005; Subramoniam, 2017a; Bauer, 2023).

A fisiologia da reprodução dos crustáceos é muito influenciada pelo seu crescimento somático, o qual é estabelecido por mudas periódicas nos adultos. Como resultado, há uma ciclicidade alternada de reprodução feminina e muda em diversas espécies (Subramoniam, 2017b), fazendo com que sua reprodução varie

entre contínua ou periódica. Da mesma forma, os Decápodes dulcícolas podem apresentar reprodução cíclica ou contínua, sendo que, frequentemente, o período reprodutivo varia significativamente de acordo com os fatores abióticos, como fotoperíodo, períodos de chuva e temperatura (Pinheiro e Hebling, 1998), levando à modificações nos tecidos ovarianos e testiculares. Somado a isso, a determinação dos períodos de maturação das gônadas, juntamente com a frequência e a época na qual ocorre a oviposição, caracteriza o ciclo reprodutivo da espécie, fornecendo dados essenciais para o entendimento da biologia desses animais (Silva, 2010; Freire et al., 2012).

### **1.3. Estrutura Ovariana, Epitélio Germinativo e o Ciclo Reprodutivo**

O sistema reprodutor das fêmeas dos Decápodes é formado por um par de ovários de onde partem os ovidutos, que se abrem nos gonóporos localizados na base do terceiro par de pereiópodos (Kroll et al., 1992). Os ovários das fêmeas do gênero *Macrobrachium*, assim como os de outros camarões, estão localizados na região dorsal do cefalotórax do animal, podendo ser observados macroscopicamente de acordo com a maturação ovariana (Huang et al., 2010).

Os ovários dos camarões são formados por células germinativas e células somáticas, que se organizam formando os folículos ovarianos (Carvalho, 1981; Wilder et al., 2010). Na porção central do ovário, inúmeras oogônias proliferam e diferenciam-se em oócitos pré-vitelogênicos. Estes, iniciam o processo de vitelogênese, enquanto migram para a região mais periférica da gônada. Durante a maturação ovariana, ocorre deposição de grânulos de vitelo e gotículas de lipídeos no ooplasma do ovócito, resultando no aumento da estrutura folicular (Wilder et al., 2010) e consequente variações morfológicas no tecido ovariano (Lee e Chang, 1997). Assim, o acompanhamento do desenvolvimento das células germinativas é uma parte essencial para o entendimento do ciclo reprodutivo desses crustáceos (Chaves e Magalhães, 1993).

Durante o desenvolvimento oocitário, os oócitos são comumente classificados em oócitos pré-vitelogênicos, oócitos em vitelogênese inicial, oócitos em vitelogênese avançada e oócitos maduros (O'Donovan et al., 1984; Chaves e

Magalhaes, 1993; Chang e Shih, 1995; Ventura et al., 2019). Esses quatro estágios de desenvolvimento oocitário apresentam características morfológicas distintas que levam à classificação de diferentes estágios gonadais. Assim, durante o ciclo reprodutivo dos crustáceos, os ovários são classificados em diferentes fases reprodutivas, levando em conta os diferentes estágios de maturação oocitária, iniciando com a maturação dos ovários e culminando na desova e na reorganização ovariana (Chang e Shih, 1995). Esses estágios reprodutivos das fêmeas, em suas diferentes adaptações, são geralmente classificados de acordo com a análise das características das gônadas em relação ao tipo, tamanho e frequência de células germinativas, sendo classificadas as fases como Imatura, em Maturação, Gônadas Maduras e fase de Pós-Ovulação (Revathi et al., 2012; Rocha e Barbosa, 2017; Ventura et al., 2019).

Essas similaridades do processo reprodutivo ocorrem em várias espécies do gênero *Macrobrachium*, mesmo em diferentes ambientes ocupados por uma mesma espécie (Martins et al., 2007), porém variando o período das épocas reprodutivas, além do tamanho dos espécimes sexualmente reprodutivos que também varia. De maneira geral, os Paleomonídeos costumam exibir um ciclo reprodutivo anual, embora variações temporais e na duração das estações reprodutivas possam acontecer devido, principalmente, às flutuações de temperatura (Booolootian et al., 1959; Ammar et al., 2001). Isso destaca a necessidade de classificação precisa das fases reprodutivas usando dados microscópicos, além da anatomia macroscópica da gônada.

#### **1.4. O Modelo Biológico**

*Macrobrachium jelskii* (Miers, 1778), popularmente conhecido como “camarão fantasma” ou “camarão sossego” é uma espécie de camarão de água doce, endêmica da América do Sul (Latini et al., 2016). Embora seu local de origem seja a Bacia do rio Amazonas, bacia do rio Orinoco e rio Paraguai (Latini et al., 2016), hoje é encontrada em todas as grandes bacias brasileiras (Pileggi e Mantelatto, 2010), sendo considerada uma espécie invasora, que foi, a princípio, introduzida intencionalmente na planície inundável do rio Paraná, pela Companhia Energética de São Paulo, como parte do programa de repovoamento de suas

represas (Latini et al., 2016). Entretanto, por apresentar característica de ambiente de água doce, seu estabelecimento no ambiente natural foi favorecido, resultando em populações bem estabelecidas em diversas localidades de São Paulo e Paraná (Latini et al., 2016). Tal espécie é típica de ambiente de represa, sendo bastante consumida por populações ribeirinhas, além de apresentar um papel crucial na cadeia trófica em ambientes límnicos (Cirilo et al., 2011; Soares et al., 2015), geralmente encontrada em áreas rasas com pouca vegetação marginal e associada às raízes de plantas aquáticas (De Melo, 2003).

*M. jelskii* é caracterizado por seu tamanho reduzido, baixa capacidade reprodutiva e desenvolvimento larval acelerado, o que contribui para sua adaptação em ambientes de água doce (Nery et al., 2015; Rocha et al., 2016; Taddei et al., 2017; Bandeira et al., 2022). Apresenta a característica de concluir seu ciclo de vida em ambientes de água doce, sem depender fisiologicamente de água salobra (Rocha e Barbosa, 2017), se distinguindo de outras espécies do gênero. Esses ambientes específicos oferecem recursos alimentares e proteção para fêmeas ovígeras e o desenvolvimento larval desta espécie (Montoya, 2003).

Em síntese, *M. jelskii* apresenta a seguinte classificação zoológica (Latini et al., 2016):

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Crustacea

Classe: Malacostraca

Ordem: Decapoda

Família: Palaemonidae

Gênero: *Macrobrachium*

Espécie: *M. jelskii*

## 1.5 Justificativa

Pesquisas sobre a biologia e ecologia de *Macrobrachium jelskii* são bastante limitadas (Soares et al., 2015). Embora alguns estudos tenham fornecido informações valiosas sobre a biologia desta espécie (Barros-Alves et al., 2012; Mossolin et al., 2013; Soares et al., 2015), estes trabalhos concentram-se especialmente na ecologia do animal, com ênfase na biologia populacional, razão sexual, período reprodutivo e fecundidade. Raros são os estudos que mostram a histologia gonadal, especialmente no que se refere às características estruturais das células germinativas. Ainda assim, estes trabalhos não detalham as células germinativas iniciais, como oogônias e oócitos profásicos, visto que a maioria das técnicas histológicas são feitas em parafina, dificultando a identificação.

As análises histológicas permitem uma correta observação do ciclo reprodutivo da espécie, bem como o detalhamento estrutural das células germinativas, dados cruciais para o entendimento de sua biologia reprodutiva. Esses conhecimentos favorecem a compreensão da ecologia e conservação não só da espécie no ambiente, mas também contribui para a gestão adequada dos estoques naturais e a implementação de medidas de preservação, uma vez que determina os limites mínimos de tamanho para a captura e fornece suporte para as estratégias de gestão pesqueira da espécie (Freire et al., 2012), especialmente diante do aumento na exploração comercial desses camarões de água doce.

A determinação correta do período reprodutivo, a partir de análises histológicas, também pode ser utilizada como ferramenta para avaliação dos estoques naturais e estabelecimento de períodos de defeso, em que tal espécie, estando em período reprodutivo e/ou de crescimento, apresenta alta vulnerabilidade, podendo apresentar desequilíbrio na população, caso sofra ações predatórias ou mesmo ambientais.

Somado a isso, a espécie *M. jelskii* é considerada rara no estado de Minas Gerais (Silva, 2010; Soares et al., 2015). Embora tenha sido encontrada em abundância na Represa de Três Marias e no Rio São Francisco (Soares et al., 2015); na região noroeste do estado (Barros-Alves et al., 2012); e nos tributários do Rio Grande e de sua bacia hidrográfica, na região de Planura na mesorregião do Triângulo Mineiro (Silva, 2010), até o presente momento, não há registros

científicos da presença da espécie no sul de Minas Gerais, tampouco descrições do ciclo reprodutivo de qualquer gênero de *Macrobrachium* nesta região ou dados histológicos de suas gônadas. Entretanto, a população ribeirinha da região, como pescadores e moradores que vivem às margens da represa relatam frequentemente a presença de camarões *M. jelskii* durante todo o ano aderidos à região submersa de balsas, tablados e barcos parados dentro d'água.

Assim, considerando a ausência de informações a respeito de sua biologia reprodutiva no sul de Minas Gerais, tomou-se como modelo biológico o camarão de água doce *M. jelskii*, na intenção de compreender seu ciclo reprodutivo na região sul mineira, bem como descrever detalhadamente os aspectos histológicos das células germinativas no ovário desta espécie.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivos Gerais

Com o objetivo contribuir para um maior entendimento sobre a biologia reprodutiva dos Decápodes, especialmente do gênero *Macrobrachium*, este trabalho teve por objetivo descrever a organização gonadal e a dinâmica celular do epitélio germinativo feminino durante seu ciclo reprodutivo, utilizando histologia de alta resolução para análise detalhada das células germinativas em fêmeas de *Macrobrachium jelskii*.

### 2.2. Objetivos Específicos

1) Descrever a formação dos folículos ovarianos e o desenvolvimento dos oócitos em *M. jelskii*, para o entendimento do processo inicial da foliculogênese e a possível formação de cistos germinativos;

2) Traçar, comparativamente, um paralelo sobre a origem e desenvolvimento das células germinativas femininas entre os demais grupos de invertebrados e/ou vertebrados;

3) Descrever o ciclo reprodutivo e a biologia populacional de *M. Jelskii*, propondo uma nova classificação de fases reprodutivas de acordo com a dinâmica do epitélio germinativo;

4) Determinar a frequência relativa de fêmeas ovígeras e o período reprodutivo mais propício ao longo do ano, verificando se a reprodução é sazonal ou numa microrregião do sul de Minas Gerais.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ammar, D., Müller, Y. M. R., Nazari, E. M. (2001). Biologia reprodutiva de *Macrobrachium olfersii* (Wiegman) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) coletados na Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Revista brasileira de Zoologia*, 18, 529-537.
- Anger, K. (2013). Neotropical *Macrobrachium* (Caridea: Palaemonidae): on the biology, origin, and radiation of freshwater-invading shrimp. *Journal of Crustacean Biology*, 33(2), 151-183.
- Ashelby, C. W., Page, T. J., De Grave, S., Hughes, J. M., Johnson, M. L. (2012). Regional scale speciation reveals multiple invasions of freshwater in Palaemoninae (Decapoda). *Zoologica Scripta*, 41(3), 293-306.
- Bandeira, L. D. C. P., Melo, D. S., Gemaque, T. C., Costa, D. P., Miranda-Filho, K. C. (2022). Salinity tolerance and water ionic balance in *Macrobrachium jelskii* post-larvae. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1988276/v1>
- Barros-Alves, S. D. P., Almeida, A. C., Fransozo, V., Alves, D. F. R., Silva, J. C. D., Cobo, V. J. (2012). Population biology of shrimp *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1778) (Decapoda, Palaemonoidea) at the Grande River at northwest of the state of Minas Gerais, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 24, 266-275.
- Bauer, R. T. (2023). *Shrimps: Their Diversity, Intriguing Adaptations and Varied Lifestyles* (Vol. 42). Springer Nature.
- Carvalho, H. D. (1981). Morfologia do Aparelho Reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836)(Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) Parte II: Feminino. *Trabalhos Oceanográficos da UFPE*, 16, 249-264.

Chang, C. F., SHIH, T. W. (1995). Reproductive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate reproduction & development*, 27(1), 11-20.

Chaves, P. D. T. D. C., Magalhães, C. (1993). O desenvolvimento ovocitário em *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae), camarão dulcícola da região amazônica. *Acta amazônica*, 23, 17-23.

Cirilo, A. T. O., Santos, M. C., Nunes, M. L. (2011). Caracterização física e nutricional do camarão "saborica" (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877) e de produtos derivados. *Scientia Plena*, 7(7).

De Grave, S., Fransen, C. H. J. M. (2011). *Carideorum catalogus: the recent species of the dendrobranchiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda)* (p. 195). Leiden: NCB Naturalis.

De Grave, S., Ashelby, C. W. (2013). A re-appraisal of the systematic status of selected genera in Palaemoninae (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Zootaxa*, 3734(3), 331-344.

De Grave, S., Fransen, C. H., Page, T. J. (2015). Let's be pals again: major systematic changes in Palaemonidae (Crustacea: Decapoda). *PeerJ*, 3, e1167.

De Melo, G. A. S. (2003). *Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil*. Edições Loyola.

Dos Santos, A., Hayd, L., Anger, K. (2013). A new species of *Macrobrachium* Spence Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae), *M. pantanalense*, from the Pantanal, Brazil. *Zootaxa*, 3700(4), 534-546.

Freire, J. L., Marques, C. B., Silva, B. B. (2012). Estrutura populacional e biologia reprodutiva do camarão-da-amazônia *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda: Palaemonidae) em um estuário da região nordeste do Pará, Brasil. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 16(2), 65-76.

Fransen, C. H., De Grave, S. A. M. M. Y. (2016). Evolution and radiation of shrimp-like decapods: an overview. *Decapod crustacean phylogenetics*, 257-272.

Fransozo, A., Rodrigues, F. D., Freire, F. A. M., Costa, R. C. (2004). Reproductive biology of the freshwater prawn *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897) (Decapoda: Caridea: Palaemonidae) in the Botucatu region, São Paulo, Brazil. *Nauplius*, 12(2), 119-126.

Fukuda, B. (2015). *Composição dos carídeos e biologia populacional de macrobrachium heterochirus (Decapoda; palaemonidae), no rio Mandira, Vale do Ribeira, Estado de São Paulo* (Doctoral dissertation, Instituto de Pesca).

Huang, K. H., Wu, J. P., Wang, S. Y., Huang, D. J., Chen, H. C. (2010). Ovarian development in the freshwater prawn *Macrobrachium asperulum* (Decapoda: Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology*, 30(4), 615-623.

Jalihal, D. R., Sankolli, K. N., Shenoy, S. (1993). Evolution of larval developmental patterns and the process of freshwaterization in the prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*, 65(3), 365-376.

Kroll, R. M., Hawkins, W. E., Overstreet, R. M. (1992). Reproductive components. U: Microscopic Anatomy of Invertebrates: Decapod Crustacea Vol. 10.

Latini, A. O., Resende, D. C., Pombo, V. B., Coradin, L. (Eds.). (2016). *Espécies exóticas invasoras de águas continentais no Brasil*. Ministério do Meio Ambiente.

Lee, F. Y., Chang, C. F. (1997). The concentrations of vitellogenin (vitellin) and protein in hemolymph, ovary and hepatopancreas in different ovarian stages of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 117(4), 433-439.

Maciel, C. R., Quadros, M. L., Abrunhosa, F., Bastos, S., Schneider, H., Sampaio, I. (2011). Occurrence of the Indo-Pacific freshwater prawn *Macrobrachium equidens* Dana 1852 (Decapoda, Palaemonidae) on the coast of Brazilian Amazonia, with notes on its reproductive biology. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 83, 533-544.

Mantelatto, F. L., Pileggi, L. G., Magalhães, C., Carvalho, F. L., Rocha, S. S. D., Mossolin, E. C., Rossi, N., Bueno, S. L. (2016). Avaliação dos camarões palemonídeos (Decapoda: Palaemonidae). *Livro Vermelho dos crustáceos do Brasil: avaliação 2010-2014*. Porto Alegre, RS: Sociedade Brasileira de Carcinologia – SBC, cap. 20, p. 252-267.

Martin, J. W., Davis, G. E. (2001). *An updated classification of the recent Crustacea* (Vol. 39, p. 129). Los Angeles: Natural History Museum of Los Angeles County.

Martins, J., Ribeiro, K., Rangel-Figueiredo, T., Coimbra, J. (2007). Reproductive cycle, ovarian development, and vertebrate-type steroids profile in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Crustacean Biology*, 27(2), 220-228.

Montoya, J. V. (2003). Freshwater shrimps of the genus *Macrobrachium* associated with roots of *Eichhornia crassipes* (Water Hyacinth) in the Orinoco Delta (Venezuela). *Caribbean Journal of Science*, 39(1), 155-159.

Mossolin, E. C., Peiró, D. F., Rossingnoli, M. O., Rajab, L. P., Mantelatto, F. L. M. (2013). Population and reproductive features of the freshwater shrimp *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) from São Paulo State, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 35(3), 429-436.

New, M. B., Nair, C. M. (2012). Global scale of freshwater prawn farming. *Aquaculture Research*, 43(7), 960-969.

Nery, M. F. G., Pinheiro, A. P., Silva, D. S., Duarte, A. R. R., de Lucena, I. C. (2015). Fecundity of the shrimp *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) in the southern portion of the state of Ceará, Brazil. *Scientia Plena*, 11(1).

O'Donovan, P., Abraham, M., Cohen, D. (1984). The ovarian cycle during the intermoult in ovigerous *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 36(4), 347-358.

Pileggi, L. G., Mantelatto, F. L. (2010). Molecular phylogeny of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae), with emphasis on the relationships among selected American species. *Invertebrate Systematics*, 24(2), 194-208.

Pinheiro, M. A. A., Hebling, N. J., Valenti, W. C. (1998). Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões. Brasília: IBAMA, p. 21-46.

Ray, S., Mondal, P., Paul, A. K., Iqbal, S., Atique, U., Islam, M. S., ... Begum, S. (2021). Role of shrimp farming in socio-economic elevation and professional satisfaction in coastal communities. *Aquaculture Reports*, 20, 100708.

Revathi, P., Iyapparaj, P., Munuswamy, N., Krishnan, M. (2012). Vitellogenesis during the ovarian development in freshwater female prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Int. J. of Aquatic Science*, 3(2), 13-27.

Rocha, C. P., de Souza, A. S., Maciel, M., Maciel, C. R., Abrunhosa, F. A. (2016). Development and functional morphology of the mouthparts and foregut in larvae and post-larvae of *Macrobrachium jelskii* (Decapoda: Palaemonidae). *Arthropod Structure & Development*, 45(3), 242-252.

Rocha, S. S. D., Barbosa, R. D. J. (2017). Population biology of *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877)(Decapoda, Palaemonidae) from an artificial pond in Bahia, Brazil. *Nauplius*, 25.

Silva, J. C. D. (2010). Biologia e ecologia dos camarões de água doce *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) e *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1778) (Crustacea: Caridea: Palaemonoidea) no Rio Grande, região de Planura. MG. Tese de Doutorado – UNESP, Botucatu-SP.

Soares, M. R. D. S., Oshiro, L. M., Toledo, J. C. (2015). Biologia reprodutiva de *Macrobrachium jelskii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) no Rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 105, 307-315.

Subramoniam, T. (2017a). Sexual Systems. *Sexual Biology and Reproduction in Crustaceans*, 57–103. Academic Press.

Subramoniam, T. (2017b). Reproductive Cycle and Environmental Control. *Sexual Biology and Reproduction in Crustaceans*, 175–185. Academic Press.

Taddei, F. G., Reis, S. D. S., David, F. S., Silva, T. E. D., Fransozo, V., Fransozo, A. (2017). Population structure, mortality, and recruitment of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)(Caridea: Palaemonidae) in the eastern Amazon region, Brazil. *The Journal of Crustacean Biology*, 37(2), 131-141.

Ventura, E., Winick-Silva, A., Shinozaki-Mendes, R. A. (2019). Ovarian development and spawning of *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda). *Iheringia. Série Zoologia*, 109, e2019026.

Vera-Silva, A. L., Carvalho, F. L., Mantelatto, F. L. (2016). Distribution and genetic differentiation of *Macrobrachium jelskii* (Natantia: Palaemonidae) in Brazil reveal evidence of non-natural introduction and cryptic allopatric speciation. *Journal of Crustacean Biology*, 36(3), 373-383.

Wilder, M. N. (2010). Reproductive mechanisms in Crustacea focusing on selected prawn species: vitellogenin structure, processing and synthetic control. *Aqua-BioScience Monographs*, 3, 73-110.

## CAPÍTULO 1

### **ATIVIDADE DO EPITÉLIO GERMINATIVO FEMININO NO CAMARÃO DE ÁGUA DOCE *MACROBRACHIUM JELSKII* (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE): FOLICULOGÊNESE E DESENVOLVIMENTO OOCITÁRIO**

*As citações e referências deste capítulo foram formatadas de acordo com as normas do periódico Journal of Morphology. (Online ISSN: 1097-4687).*

## RESUMO

O desenvolvimento inicial das células germinativas femininas, tanto em vertebrados, como em alguns invertebrados, pode ocorrer dentro de cistos germinativos, formados a partir de uma única célula germinativa primordial em associação à célula somática. No entanto, em artrópodos, exceto insetos, as informações sobre a foliculogênese são limitadas. Na intenção de entender o processo inicial da foliculogênese nos Decápodes, descreveu-se, à microscopia de luz, a formação dos folículos ovarianos e o desenvolvimento dos oócitos no camarão de água doce *Macrobrachium jelskii*. Nestes animais, o ovário apresenta lóbulos onde os oócitos se desenvolvem a partir de uma zona proliferativa. Esta porção é constituída por oogônias indiferenciadas e diferenciadas, bem como oócitos profásicos iniciais. Estas células organizam-se em ninhos, delimitados por células epiteliais, que futuramente se diferenciarão em células foliculares. Durante as divisões celulares de oogônias ou oócitos, não há a formação de cisto germinativo. Após a entrada do oócito em diplóteno, este abandona a zona proliferativa e segue para a zona de crescimento, na qual desenvolver-se-á ao longo do lóbulo ovariano. As células epiteliais se diferenciam em células foliculares e produzem uma membrana basal que envolve e individualiza cada oócito, formando os primeiros folículos ovarianos, que seguirão seu desenvolvimento, incorporando vitelo, até atingir a maturação oocitária. Os resultados obtidos permitiram traçar uma análise comparativa dos processos de foliculogênese entre invertebrados e vertebrados. Assim, exceto pelo fato de não haver formação de cisto, as características morfológicas das células germinativas iniciais e o desenvolvimento oocitário são extremamente semelhantes nos mais diferentes grupos de animais.

**Palavras-chave:** Decapoda, *Macrobrachium*, folículo ovariano, histologia.

## ABSTRACT

The initial development of female germ cells, both in vertebrates and in some invertebrates, may occur inside germline cysts formed from a single primordial germ cell in association with somatic cells. However, in arthropods, except for insects, information regarding oogenesis is limited. In an attempt to understand the early process of oogenesis in Decapods, the formation of ovarian follicles and the development of oocytes in the freshwater shrimp *Macrobrachium jelskii* were described in light microscopy. In these animals, the ovary exhibits lobules where oocytes develop from a proliferative zone. This portion is composed of undifferentiated and differentiated oogonia, as well as early prophase oocytes. These cells organize into germ nests delimited by epithelial cells, which will later differentiate into follicle cells. During the cell divisions of oogonia or oocytes, there is no formation of germline cysts. After the oocyte enters into diplotene, it leaves the proliferative zone and progresses to the growth zone, where it will develop along the ovarian lobule. Epithelial cells differentiate into follicle cells and produce a basement membrane that surrounds and individualizes each oocyte, forming the first ovarian follicles, which will undergo further development, incorporating yolk, until reaching oocyte maturation. The obtained results allowed for a comparative analysis of oogenesis processes between invertebrates and vertebrates. Thus, except for the absence of germline cyst formation, the morphological characteristics of early germ cells and oocyte development are remarkably similar among different animal groups.

**Keywords:** Decapod, *Macrobrachium*, ovarian follicle, histology.

## 1. INTRODUÇÃO

Estudos sobre a foliculogênese têm mostrado que o desenvolvimento inicial das células germinativas femininas, tanto em vertebrados, como em alguns invertebrados podem muitas vezes ocorrer dentro de cistos germinativos (ver Pepling et al., 1999; Pepling, 2006; Quagio-Grassiotto et al., 2011 para revisão). Cistos germinativos são formados a partir de uma única célula germinativa inicial que está envolta por uma célula somática suporte. A célula germinativa, dentro do cisto, irá sofrer divisões mitóticas, porém sua citocinese é incompleta, resultando em um desenvolvimento sincrônico das células-filhas, que permanecem conectadas entre si por pontes intercelulares (Pepling, 2006) e seguem para a entrada em meiose, originando oócitos profásicos iniciais, igualmente conectados entre si (Quagio-Grassiotto et al., 2011).

Nos mamíferos, o início da foliculogênese ocorre apenas no período fetal (Johnson et al., 2004). Entretanto, em outros vertebrados como nos peixes, oogônias e folículos ovarianos são continuamente produzidos durante toda a sua vida reprodutiva (Tyler e Sumpter, 1998). Nesses animais, a folículogênese inicial ocorre de forma cística, a partir da associação entre um oogônia e uma célula somática (conhecida como célula pré-folicular) tanto em gônadas de animais adultos (Quagio-Grassiotto et al., 2011), como nas gônadas em diferenciação de indivíduos juvenis (Mazzoni et al., 2010).

Animais aquáticos como peixes, anfíbios e alguns invertebrados, apresentam um processo de foliculogênese e oogênese bastante semelhante. Entretanto, entre os invertebrados, especialmente os artrópodos, não está claro para todos os grupos se a foliculogênese ocorre de forma cística. Sabe-se que em insetos ocorre a formação de cistos, porém as informações nos demais grupos de artrópodos são ainda bastante escassas. Neste sentido, a fim de obter um maior entendimento sobre a biologia reprodutiva de crustáceos, especialmente dos Decápodes, foi descrito aqui a formação dos folículos ovarianos e o desenvolvimento dos oócitos em *Macrobrachium jelskii*, na intenção de entender o processo inicial da foliculogênese e a possível formação de cistos germinativos.

O gênero *Macrobrachium*, pertencente a família Palaemonidae - uma das mais representativas no mundo - possui cerca de 980 espécies (De Grave e

Franses, 2011). Os representantes deste gênero conquistaram gradativamente o ambiente de água doce, e como consequência do processo passaram a apresentar redução no tamanho corporal, perda de dimorfismo sexual, redução do número e aumento do tamanho dos ovos, redução de estágios larvais, com eclosão de larva e/ou juvenil maior, apresentando independência de água salobra e/ou marinha (Jalihal et al., 1993).

Assim, representando os *Macrobranchium*, a espécie *Macrobrachium jelskii*, conhecida popularmente como “camarão fantasma” ou “camarão sossego”, foi eleita como modelo biológico neste trabalho por apresentar uma vasta distribuição geográfica (Mello, 2003), sendo uma espécie de camarão de água doce endêmica da América do Sul, encontrada em todas as grandes bacias brasileiras (Pileggi et al., 2013), sendo uma espécie típica de ambiente de represa (Taddei, 2006). *M. jelskii* apresenta interesse econômico na aquariofilia (Ottoni et al., 2011), sendo usado em aquários como espécie ornamental, e também como isca em pescas e/ou alimentação de peixes carnívoros. A espécie é consumida também por populações ribeirinhas, além de apresentar um papel crucial na cadeia trófica em ambientes límnicos (Cirilo et al., 2011; Soares et al., 2015).

Apesar da biologia reprodutiva de Decápodes, especialmente do gênero *Macrobranchium* ter sido exaustivamente estudada nas últimas décadas, essas informações concentram-se na fecundidade da espécie, dinâmica populacional, maturidade sexual (Oshiro e Toledo, 2015; Rocha e Barbosa, 2017), deixando de lado o entendimento do processo de foliculogênese, tão importante para a compreensão da biologia reprodutiva dos Decápodes. Adicionalmente, os dados obtidos aqui para Decápodes são discutidos comparativamente entre os demais grupos de vertebrados e/ou invertebrados, traçando um paralelo sobre a origem e desenvolvimento das células germinativas femininas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Os Animais

Fêmeas adultas de *Macrobrachium jelskii*, com tamanho variando entre 2,2 e 3,9 cm foram coletadas mensalmente entre julho e novembro de 2017, na represa de Furnas, município de Alfenas, MG (21°20'14.5" S - 45°59'9.791" O), totalizando 75 animais.

As coletas foram realizadas junto à vegetação marginal parcialmente submersa, com o auxílio de peneiras com malha de 2 mm. Os espécimes coletados foram transferidos para o Laboratório de Ictiologia Experimental da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) e anestesiados por choque término com água e gelo. As gônadas foram dissecadas através de secção da carapaça e transferidas para diferentes soluções fixadoras, específicas para cada metodologia.

### 2.2. Microscopia de Luz

Para a microscopia de luz, as amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 4% em tampão Sorensen (0,1M a pH 7,2) por pelo menos 24 horas. Após fixação, as amostras foram fotografadas e o material foi desidratado em uma série crescente de álcool etanol (70% por 4 horas; 95% por 4 horas), infiltrados e incluídos em historesina (metacrilato glicol) – Leica historesin. Os cortes histológicos com 3µm de espessura, obtidos em micrótomo equipado com navalhas de vidro receberam diferentes colorações. As colorações Hematoxilina Férrica/Eosina (HE); Azul de Toluidina-Bórax (AT); Ácido Periódico de Schiff (PAS); e Ácido Periódico de Schiff + Hematoxilina Férrica + Metanil Yellow (MY) (Quintero-Hunter et al., 1991) foram utilizadas para análises histológicas, bem como para detecção de substâncias de diferentes composições químicas.

#### 2.2.1. Método de Reticulina

A reticulina ou fibra reticular é um tipo de fibra colágena composta de colágeno tipo III (Strum et al., 2007). Essas fibras, juntas com a lâmina basal, formam a membrana basal, na qual o epitélio encontra-se apoiado (Alberts et al.,

2008). As fibras reticulares são argirófilas, apresentando alta afinidade por sais de prata. Dessa forma, o Método de Reticulina (Vidal, 1988), que envolve impregnação por prata, foi empregado para a localização da membrana basal ao longo das etapas da foliculogênese, conforme proposto por Mazzoni e colaboradores (2010).

### **2.2.2. Investigação da Proliferação Celular através da Imunohistoquímica do PCNA (antígeno nuclear de proliferação celular)**

As gônadas de *Macrobrachium jelskii* foram fixadas em formaldeído 10% tamponado, por 12h e, posteriormente, mantidas em etanol 70%. As amostras foram desidratadas em etanol, clareadas em xilol, embebidas em parafina e seccionadas com 5µm de espessura. O material foi desparafinado com xilol e hidratado com tampão TBS (tris + tampão fosfato, 5mM, pH 7.6). Foi realizado um bloqueio da peroxidase endógena com 3% de peróxido de hidrogênio/tampão fosfato TBS por 15 minutos. A recuperação antigênica foi realizada em microondas, com tampão citrato (0,01M; pH 6,0) durante 5 minutos em potência máxima por três vezes. Após a recuperação antigênica, os cortes foram lavados em tampão TBS e o bloqueio inespecífico realizado com soro bloqueador (5% de leite Mólico desnatado, em tampão TBS) por 15 minutos. O material foi incubado com o anticorpo primário monoclonal (1:300) (Novacastra – NCL-PCNA) por 1 hora e meia a temperatura ambiente (em câmara úmida). As lâminas foram lavadas, incubadas com anticorpo secundário biotilado diluído, por 30 minutos, lavadas novamente e incubadas com o reagente Super ABC (complexo avidina-biotina) por 30 minutos. O material foi revelado com DAB (3',3'-diaminobenzidina, dissolvido em TBS) e 0,03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e contrastado com hematoxilina de Harris. Como controle negativo, em algumas lâminas, o anticorpo primário foi omitido ou substituído por TBS.

A documentação do material em microscopia de luz foi realizada a partir de um microscópio Biotika acoplado a um software de captura digital para microscopia (AmScope FMA050).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Estrutura do sistema reprodutor feminino

O sistema reprodutor feminino de *Macrobrachium jelskii* apresenta simetria bilateral, sendo formado por um par de ovários e seus oviductos associados (Fig. 1A,B). Os ovários apresentam um aspecto bilobado por se fusionarem parcialmente na porção cranial. Localizam-se dorsalmente ao hepatopâncreas, próximo à região do cefalotórax.

Os oviductos estão localizados dorsoventralmente na porção posteromediana do cefalotórax. Eles surgem lateralmente no meio dos ovários (Fig. 1B) e se dobram ventralmente, ligando os ovários à abertura dos gonóporos, na base das coxas do terceiro par de pereópodes. Os oviductos são constituídos por um epitélio cúbico simples de células epiteliais (Fig. 1C), que estão apoiadas em uma membrana basal (Fig. 1C-inset).

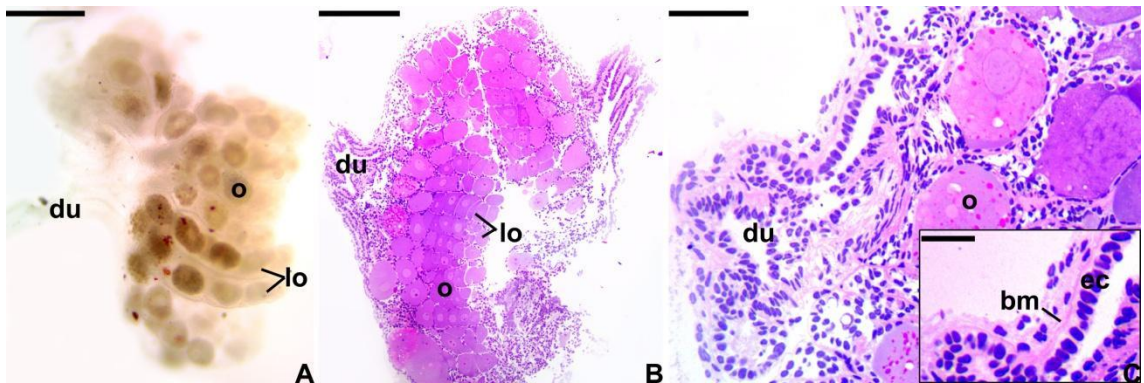


Fig. 1: A) Ovário de *M. jelskii*, mostrando os lóbulos ovarianos com oócitos se desenvolvendo. B) Corte histológico longitudinal dos ovários, mostrando os oviductos. C) Detalhe de B, mostrando a porção distal do lóbulo, que contém o oviducto. C-inset) Epitélio colunar do oviducto, apoiado sobre uma membrana basal. Ducto (du), oócito (o), lóbulo ovariano (lo), membrana basal (bm), células epiteliais (ec). Coloração: HE (B); PAS (C, C-inset). Barra: 100µm (A, B), 20µm (C), 10µm (C-inset).

#### 3.2. Estrutura gonadal

O ovário de *Macrobrachium jelskii* é circundado por uma cápsula de tecido conjuntivo, constituído por fibroblastos e fibras colágenas que se estendem para o interior do ovário, formando trabéculas e dividindo-o em lóbulos (Fig. 2A,B). Assim, os oócitos, no interior da gônada, formam cordões paralelos, dispostos perpendicularmente ao eixo longitudinal do ovário (Fig. 2A,B).

Limitando externamente estes cordões de oócitos, há fileiras de células somáticas, oriundas do epitélio germinativo (Fig. 2A,B). As trabéculas de tecido conjuntivo conectadas à parede do ovário estão situadas entre os cordões de oócitos, formando um tecido intersticial ou estroma ovariano. Na região proximal dos cordões, observam-se, organizados na zona proliferativa, as oogônias e oócitos profásicos iniciais (Fig. 2A,B). À medida que os oócitos se desenvolvem, deslocam-se gradualmente para a porção distal dos cordões. Na porção distal dos ovários, observam-se os oviductos (Fig. 2C,D). Conforme os oócitos atingem seu crescimento secundário, durante a vitelogênese, a estrutura cordonal é perdida nos ovários maduros (Fig. 2C,D).

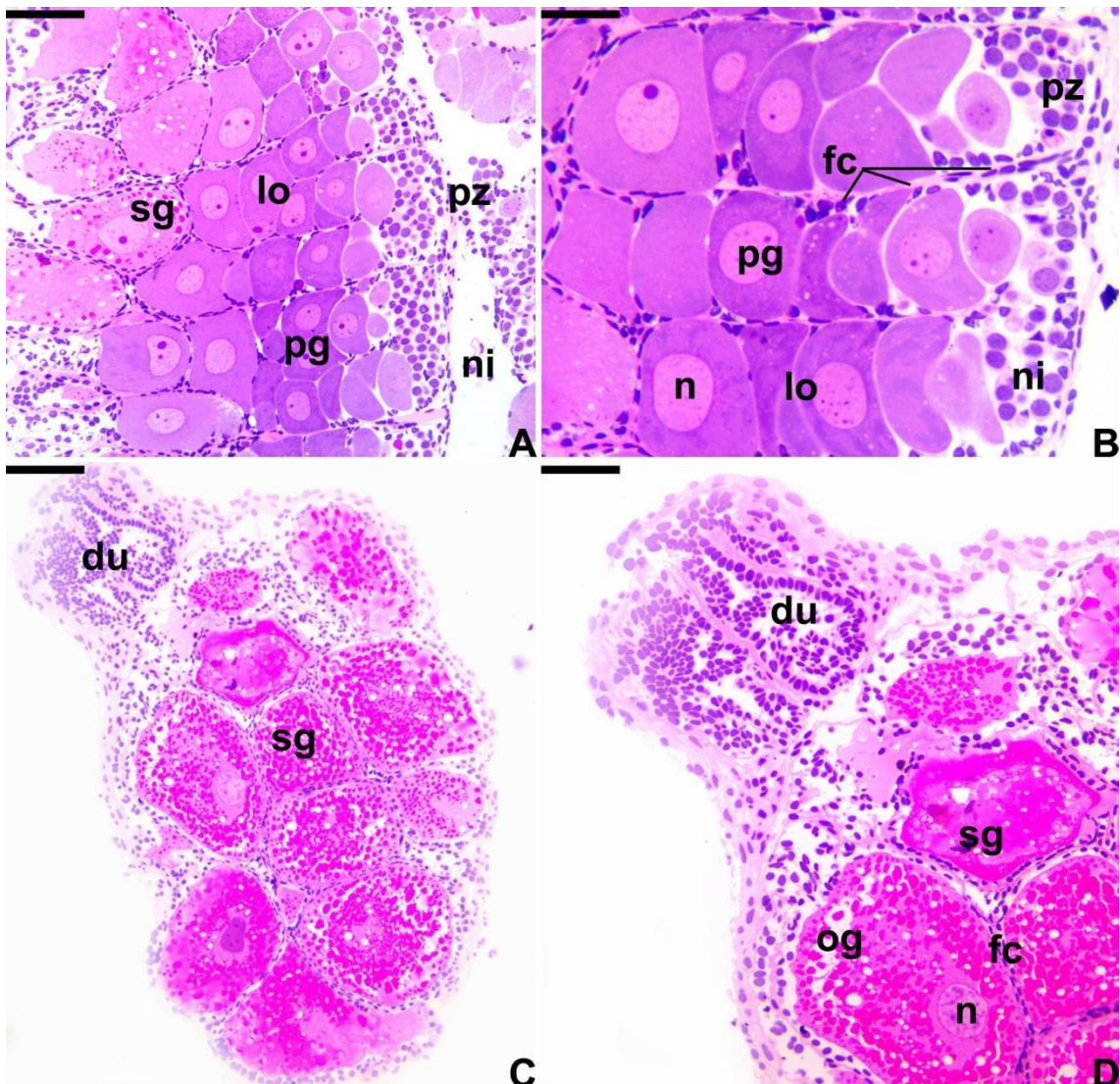


Fig. 2: Corte histológico longitudinal dos ovários de *M. jelskii*. A-B) Ovário em desenvolvimento, mostrando os lóbulos ovarianos. C-D) Ovário maduro, preenchido por oócitos maduros. Zona proliferativa (pz), lóbulo (lo), ninho germinativo (ni), oócito em crescimento primário (pg), oócito em crescimento secundário (sg), células foliculares (fc), núcleo (n), ducto (du), gotícula de lipídeo (og). Coloração: HE. Barra: 50µm (A), 20µm (B), 70µm (C), 30µm (D).

### 3.3. Epitélio germinativo

Os lóbulos ovarianos são limitados por um epitélio germinativo, constituído por células somáticas e células germinativas, em diferentes etapas de desenvolvimento (Fig. 3).

As células germinativas precursoras, conhecidas como oogônias, encontram-se imersas na região medular do ovário, porção correspondente à região proximal do lóbulo ovariano, conhecida como zona proliferativa (Fig. 3A). Além das oogônias, esta porção é ocupada por oócitos profásicos iniciais. Todo esse conjunto celular, formando a zona proliferativa, é limitado por células epiteliais, as quais estão presentes no limite de cada lóbulo (Fig. 3A, 4A). Dessa forma, as células epiteliais circundam um conjunto de oogônias e oócitos profásicos, que se dispõem aleatoriamente entre si (Fig. 3A). Periféricamente, as células epiteliais circundantes isolam todo o conjunto de células germinativas, formando um ninho germinativo (Fig. 3A, 4A). Gradualmente, as células epiteliais iniciam a formação de uma membrana basal que circunda todo o ninho germinativo (Fig. 4B).

Na zona proliferativa, dentro de cada ninho delimitado por uma membrana basal (Fig. 4B), foram observadas oogônias indiferenciadas (Fig. 3B,C) e oogônias diferenciadas (Fig. 3D,E).

As oogônias indiferenciadas encontram-se em menor quantidade. Apresentam núcleo não granular, com nucléolo bem evidente. Seu citoplasma é eosinófilo e apresentam grânulos eosinofílicos próximo ao núcleo. Esses grânulos protéicos são denominados de nùages (Fig. 3B,C).

Já as oogônias diferenciadas estão presentes em maior quantidade. Estas células são facilmente confundidas com os oócitos profásicos iniciais, porém podem ser distinguidas pelo seu pequeno tamanho. As oogônias diferenciadas apresentam citoplasma evidente, núcleo esférico, com diferentes padrões de granulação da cromatina (presença de eucromatina e heterocromatina), e nucléolo, muitas vezes, evidente, além de frequentemente, encontrarem-se em divisões mitóticas (Fig. 3D,E).

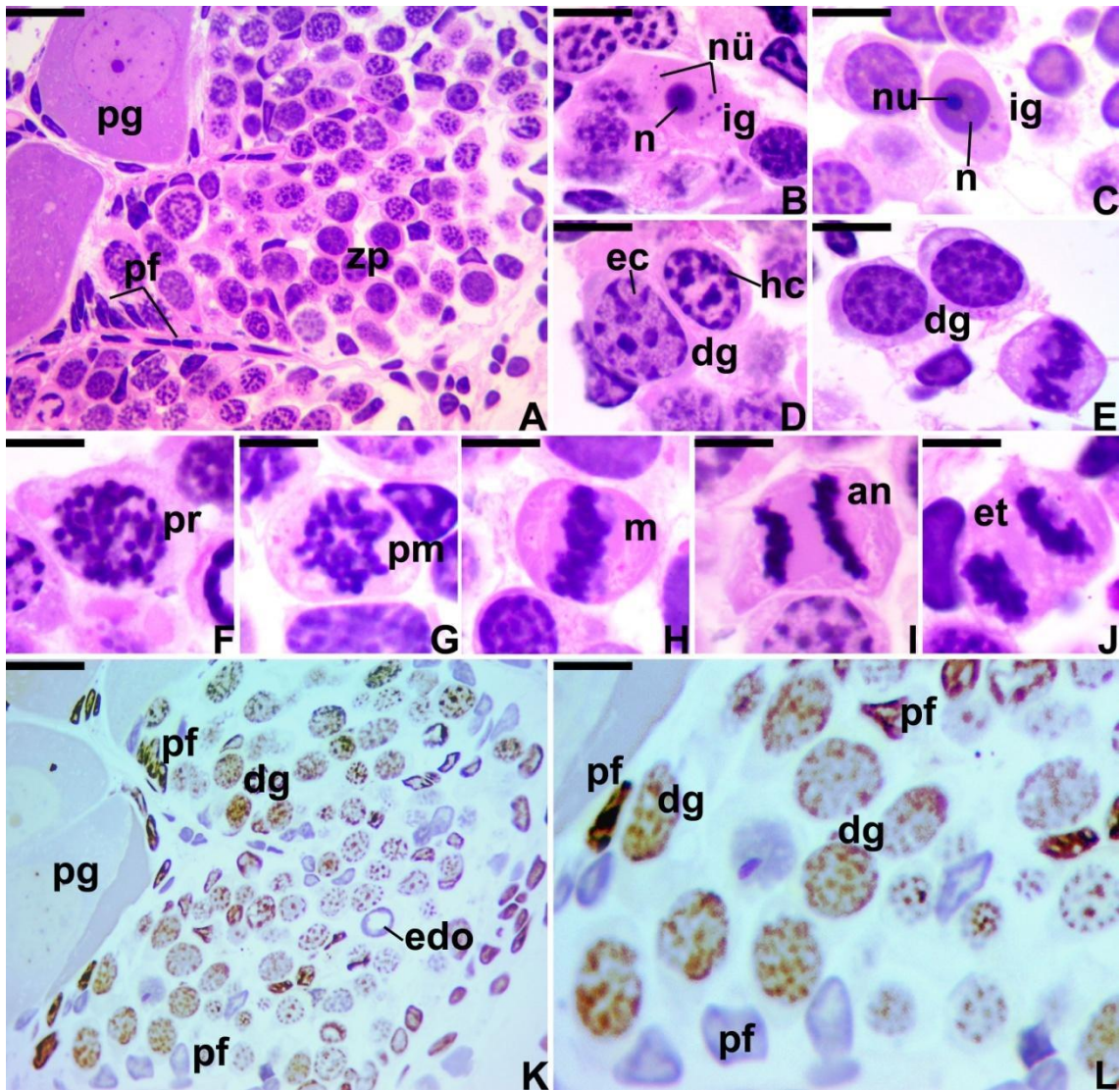


Fig. 3: A) Corte histológico dos ovários de *M. jelskii* mostrando a zona proliferativa. B-C) Oogônia indiferenciada. D-E) Oogônia diferenciada. F) Oogônia em prófase. G) Oogônia em prometáfase. H) Oogônia em metáfase. I) Oogônia em final de anáfase. J) Oogônia em início de telófase. K-L) Imunohistoquímica para detecção de células em proliferação celular, por PCNA. Notar a proliferação de oogônias e células foliculares. Oócito em crescimento primário (pg), célula pré-folicular (pf), zona proliferativa (zp), nüage (nü), núcleo (n), oogônia indiferenciada (ig), nucléolo (nu), eucromatina (ec), heterocromatina (hc), oogônia diferenciada (dg), oogônia em prófase (pr), prometáfase (pm), metáfase (m), anáfase (na), início de telófase (et), oócito diplotênico inicial (edo). Coloração: HE (A-J); Hematoxilina (K-L). Barra: 30µm (A, K), 10µm (B-J, L).

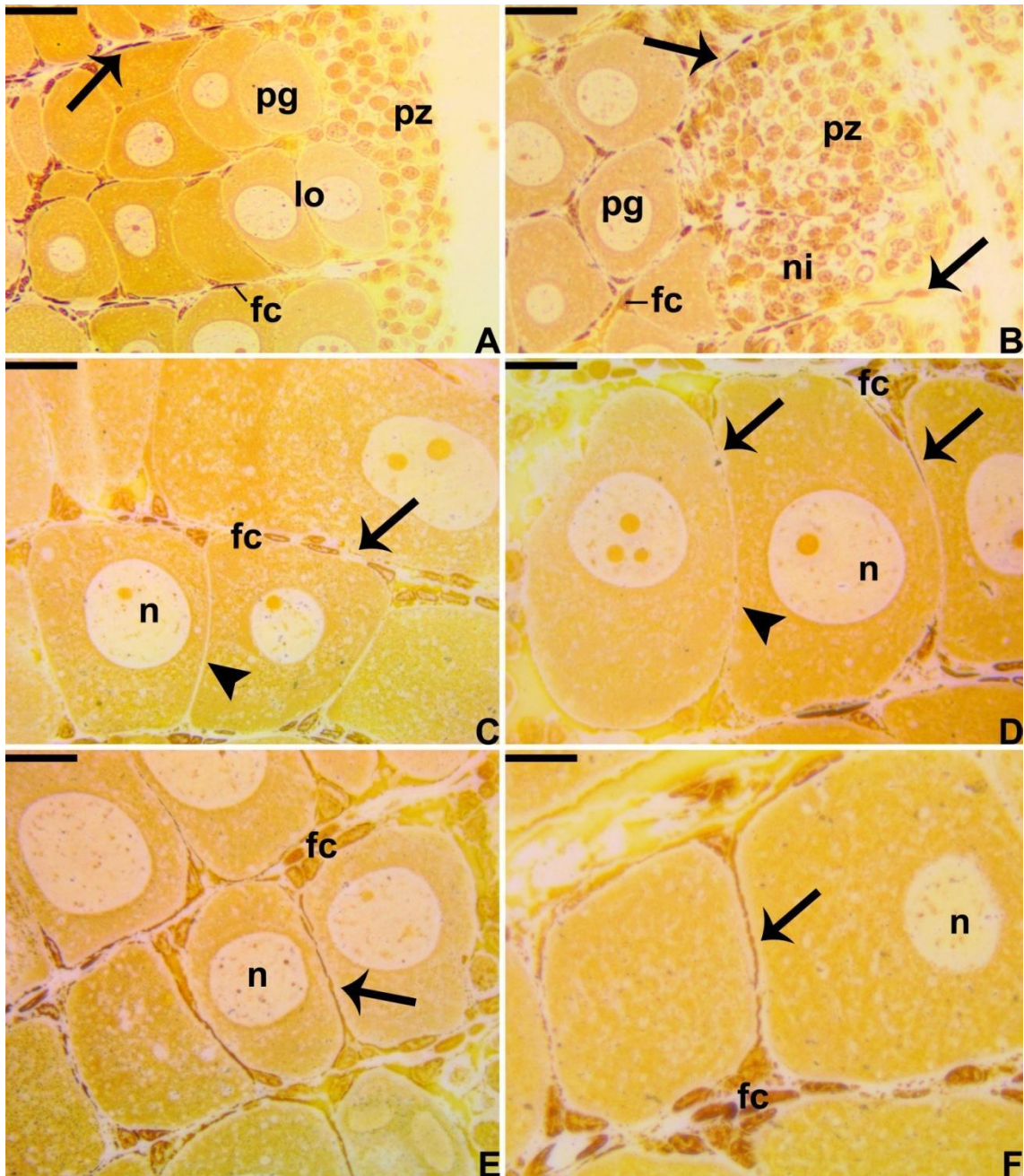


Fig. 4. Corte histológico dos ovários de *M. jelskii* mostrando a formação a membrana basal. A-B) Membrana basal delimitando os lóbulos ovarianos e ninhos germinativos. C) Membrana basal somente no limite dos lóbulos e ausente ao redor dos folículos ovarianos (cabeça de seta). D) Início da síntese de membrana basal ao redor de cada folículo. E-F) Membrana basal sintetizada completamente ao redor de cada folículo ovariano. Membrana basal (seta), oócito em crescimento primário (pg), zona proliferativa (pz), lóbulo (lo), célula folicular (fc), ninho (ni), núcleo (n), Coloração: Método de Reticulina. Barra: 50 $\mu$ m (A), 30 $\mu$ m (B), 20 $\mu$ m (C, E), 10 $\mu$ m (D, F).

### **3.4. Foliculogênese, início da meiose e desenvolvimento oocitário**

Na zona proliferativa, as oogônias indiferenciadas dividem-se por mitose, formando novas oogônias. Oogônias em divisão mitótica foram facilmente observadas por suas figuras de mitose (Fig. 3F-J). As oogônias diferenciadas em proliferação celular, mas que não apresentavam figuras mitóticas, foram também detectadas através de imunohistoquímica para PCNA (Fig. 3K,L). Quando recrutadas para formar novos gametas, as oogônias diferenciadas entram em meiose e dão origem aos oócitos profásicos iniciais.

Durante as sucessivas divisões celulares, no interior dos ninhos germinativos, na zona proliferativa, a citocinese das células gaméticas é finalizada completamente, não havendo formação de cistos germinativos de oogônias e/ou oócitos, podendo ser observado o limite celular dessas células germinativas (Fig. 5A).

Assim, imersos na zona proliferativa (Fig. 5A), observam-se oogônias indiferenciadas, oogônias diferenciadas e oócitos iniciais em diferentes estágios de desenvolvimento profásico.

Os oócitos profásicos iniciais, assim como as oogônias, são arredondados, porém apresentam um tamanho relativamente maior. Seu núcleo apresenta cromatina em distintas formas de organização de acordo com a etapa da prófase em que se encontram, porém, seus citoplasmas não os diferem, mantendo-se sempre ligeiramente acidófilo e escasso (Fig. 5A).

O oócito leptotênico apresenta inicialmente um núcleo mais basófilo do que as oogônias, nucléolo não evidente e ausência de nãge no citoplasma (Fig. 5B). Com a progressão da prófase, ocorre perda gradual da basofilia nuclear do oócito e aumento da compactação da cromatina. Assim, o oócito zigotênico apresenta maior condensação cromossômica, dando um aspecto granular ao núcleo (Fig. 5C). Os complexos sinaptonêmicos começam a ser formados permitindo o pareamento dos cromossomos homólogos. Em paquíteno, os complexos sinaptonêmicos estão totalmente formados e no núcleo do oócito percebe-se um alto grau de compactação da cromatina (Fig. 5D,E). Ao final do paquíteno, os cromossomos migram junto ao envoltório nuclear (Fig. 5F) e, ao entrar em diplóteno, os oócitos

passam a apresentar uma forte basofilia próxima ao envoltório nuclear, pela reorganização dos cromossomos (Fig. 5G).

Próximo à entrada do oócito em diplóteno, as células epiteliais, que bordeiam o ninho germinativo, reorganizam-se e se aproximam dos oócitos diplotênicos, diferenciando-se em células pré-foliculares.

As células pré-foliculares, de formatos variando entre triangulares e cúbicas (Fig. 5H,I), diferenciam-se em células foliculares e envolvem parcial e gradativamente cada oócito diplotênico inicial que se separa da zona proliferativa e migra para a região subjacente, conhecida como zona de crescimento (Fig. 5H-J). As células foliculares, agora pavimentosas, permanecem limitando externamente cada um dos lóbulos ovarianos (Fig. 5J).

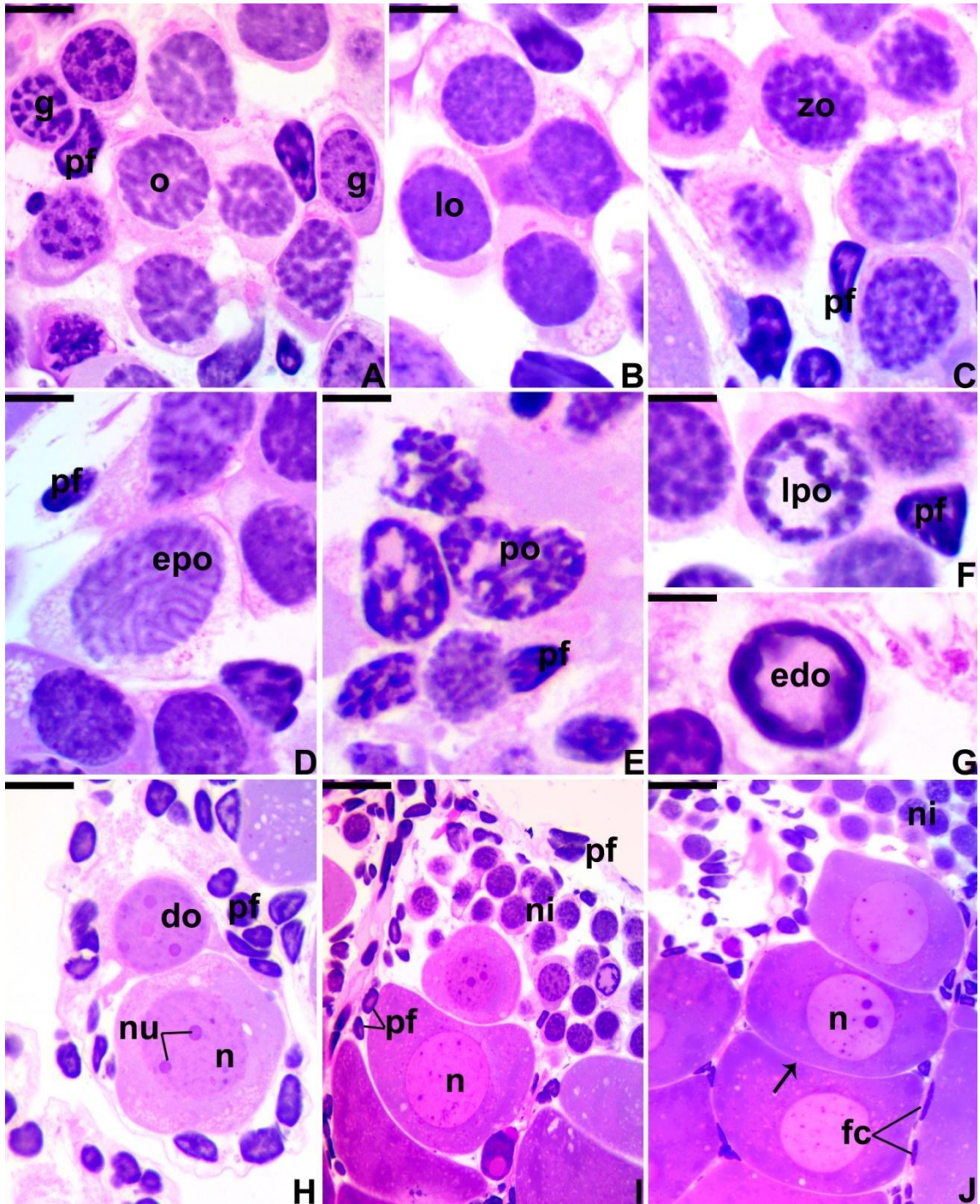


Fig. 5. Corte histológico dos ovários de *M. jelskii* mostrando as fases iniciais de prófase. A) Ninho germinativo. B) Oócito leptotênico. C) Oócito zigotênico. D) Oócito paquitênico inicial. E) Oócito paquitênico. F) Oócito paquitênico tardio. G) Oócito diplotênico inicial. H-I) Oócito diplotênico, saindo da zona proliferativa. I-J) Migração das células foliculares para delimitar os lóbulos ovarianos. Oogônia (g), célula pré-folicular (pf), oócito profásico inicial (o), oócito leptotênico (lo), zigotênico (zo), paquitênico (po), paquitênico inicial (epo), paquitênico tardio (lpo), diplotênico inicial (edo), diplotênico (do), ninho germinativo (ni), núcleo (n), célula folicular (fc), ausência de célula folicular entre os oócitos (seta). Barra: 10 $\mu$ m (A-G), 15 $\mu$ m (H), 20 $\mu$ m (I, J).

Dentro dos lóbulos, os oócitos diplotênicos iniciam seu crescimento e migram pela zona de crescimento em direção à periferia do lóbulo, conforme se desenvolvem (Fig. 6A,B). Durante esse processo conhecido como foliculogênese primária, as células foliculares iniciam a formação da membrana basal, limitando cada um dos lóbulos (Fig. 4C,D).

Com a entrada e permanência do oócito em diplóteno, durante sua migração da zona proliferativa para a zona de crescimento (Fig. 6B), cromossomos plumosos tornam-se visíveis (Fig. 6G). Neste período, o citoplasma dos oócitos diplotênicos aumenta em volume tornando-se gradualmente mais basófilo, dando início ao crescimento primário do oócito (Fig. 6A,B).

Nesta etapa do desenvolvimento oocitário, o oócito apresenta núcleo com número variável de nucléolos, sendo dois ou três maiores e mais centralizados, e outros menores ocupando regiões mais periféricas (Fig. 6A,B). Quando corados com Azul de Toluidina-Bórax, o citoplasma apresenta aspecto gretado, devido ao padrão de distribuição de organelas, que aumentam em quantidade com o crescimento do oócito (Fig. 6C,D).

Ao final do crescimento primário, inicia-se a deposição de gotículas de lipídeos no citoplasma do oócito pré-vitelogênico (Fig. 6E,F). Nesta etapa do desenvolvimento oocitário, ocorre o processo de foliculogênese secundária. As células foliculares pavimentosas da extremidade do lóbulo ovariano migram para o interior do lóbulo, envolvendo cada um dos oócitos pré-vitelogênicos individualmente, dando origem a um folículo ovariano (Fig. 6E,F). Essa camada folicular unicelular, gradativamente começa a síntese da membrana basal ao redor de cada oócito, individualizando-o por completo (Fig. 4D-F, 6F).

O oócito pré-vitelogênico, agora formando um folículo ovariano, segue para seu crescimento secundário, período caracterizado pela vitelogênese. Gradualmente, pequenos grânulos glicoproteicos, PAS positivos (Fig. 6H), e grânulos de vitelo (Fig. 6I) acumulam-se no citoplasma do oócito. O oócito sofre um novo crescimento em seu tamanho e a quantidade de grânulos de vitelo aumenta até preencher totalmente o citoplasma (Fig. 6J-O). Os glóbulos de lipídeos também aumentam em quantidade (Fig. 6J-O). Durante o crescimento secundário do oócito, pequenas vesículas começam a ser formadas no citoplasma, junto à membrana do

oócitos, constituindo os alvéolos corticais. Entre o oócito e as células foliculares, uma camada glicoproteica, a zona pelúcida, é sintetizada e torna-se visível.

Próximo à liberação dos oócitos pelo processo de desova ativa, os oócitos em maturação final encontram-se plenamente desenvolvidos ao final de seu crescimento secundário, tornando-se oócitos maduros. Estes são caracterizados por apresentar grande quantidade de vitelo e núcleo excêntrico, que migra para a periferia citoplasmática (Fig. 6L). Durante a desova, o oócito é liberado do ovário, juntamente com sua zona pelúcida. As células foliculares que o envolvem permanecem no ovário, formando um folículo pós-ovulatório. Os oócitos, que não são liberados, sofrem atresia e são reabsorvidos, sendo chamados de folículos atrésicos.

A perda da organização cordonal em lóbulos ovarianos é facilmente observada em ovários que apresentam grande quantidade de oócitos em crescimento secundário, pelo método de Reticulina, pela formação completa dos folículos ovarianos e, conseqüentemente, de uma membrana basal bastante desenvolvida (Fig. 7).

O oócito liberado do oviducto (Fig. 8) apresenta grânulos de vitelo e gotículas de lipídeos que perdem parcialmente sua individualidade, ou seja, fundem-se formando uma massa única de vitelo (Fig. 8A). Já as gotículas de gordura podem se mostrar maiores, pela fusão parcial, porém não formam uma única gota de gordura (Fig. 8A,B).

Caso ocorra a fecundação, o citoplasma do ovo fecundado permanece com as mesmas características do oócito desovado (Fig. 8B), porém é possível observar o desenvolvimento de embriões em diferentes etapas (Fig. 8).



Fig. 6. Corte histológico dos ovários de *M. jelskii* mostrando crescimento primário e secundário dos oócitos. A) Oócito diplotênico inicial abandonando a zona proliferativa. B) Zona de crescimento. C-D) Citoplasma com aspecto gretado de oócito pré-vitelogênico. E) Folículo ovariano recém-formado. F) Detalhe de E mostrando a membrana basal. G) Detalhe de um núcleo de oócito pré-vitelogênico mostrando os cromossomos plumosos. H) Grânulos de vitelo recém-formados. I) Oócito em vitelogênese inicial. J) Oócito em vitelogênese intermediária. K) Oócito em vitelogênese final, plenamente desenvolvido. L) Oócito maduro, com núcleo migrando. M) Detalhe de L mostrando o envoltório folicular. N) Oócito maduro, repleto de grânulos protéicos e glicoprotéicos. O) Detalhe de O, mostrando o envoltório folicular. Oócito diplotênico inicial (edo), nucléolo (nu), lóbulo (lo), oócito em crescimento primário (pg), célula folicular (fc), núcleo (n), membrana basal (bm), grânulo de vitelo (y), cromossomos plumosos (pc), glóbulo de lipídeo (og). Coloração: HE (A, B, E, G, I-M); AT (C, D), PAS (F, H), MY (N, O). Barra: 10 $\mu$ m (A, D, F, H), 15 $\mu$ m (C), 20 $\mu$ m (E, G, H), 40 $\mu$ m (J), 80 $\mu$ m (K, L, N), 5 $\mu$ m (M, O).

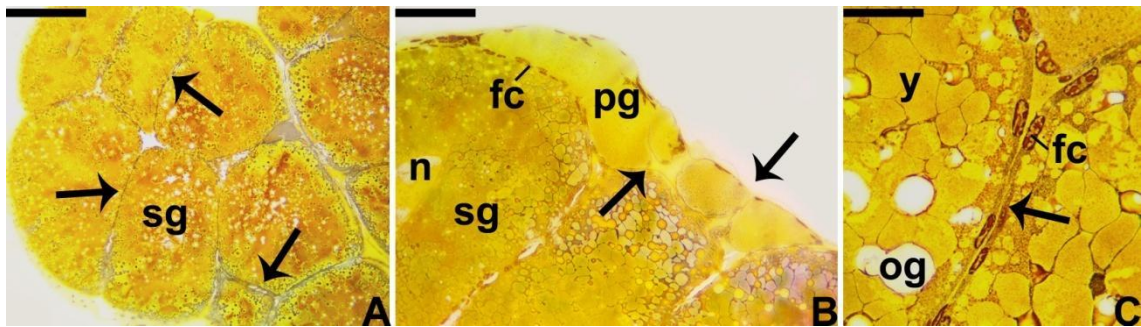


Fig. 7. Corte histológico de ovário maduro de *M. jelskii* mostrando a membrana basal. A) Membrana basal delimitando cada um dos oócitos. B) Membrana basal ao redor dos folículos ovarianos, no epitélio germinativo. C) Detalhe de A, mostrando o envoltório folicular e a membrana basal desenvolvida. Membrana basal (seta), oócito em crescimento primário (pg), oócito em crescimento secundário (sg), célula folicular (fc), grânulo de vitelo (y), glóbulo de lipídeo (og). Coloração: Método de Reticulina. Barra: 100 $\mu$ m (A), 50 $\mu$ m (B), 20 $\mu$ m (C).

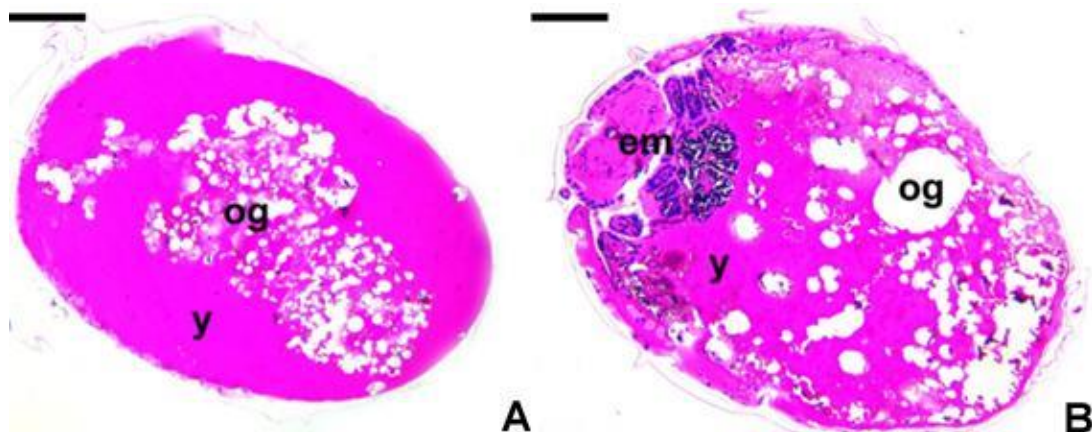


Fig. 8: A-B) Corte histológico de ovo pós-desova (A) e durante o desenvolvimento embrionário (B). Embrião (em), grânulo de vitelo (y), glóbulo de vitelo (og). Coloração: HE. Barra: 80 $\mu$ m (A, B).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Ninhos germinativos e a foliculogênese

Considerando as características histológicas nucleares, dois tipos morfológicos diferenciados de oogônias foram encontrados no epitélio germinativo feminino *Macrobrachium jelskii*. O primeiro tipo é a oogônia indiferenciada. Possivelmente, esta célula comporta-se como uma célula-tronco, que ao se dividir, dá origem a duas células filhas, sendo que uma mantém-se indiferenciada e a outra passa a constituir o segundo tipo de oogônia encontrado – a oogônia diferenciada, que é recrutada para a formação de novos gametas.

A caracterização dos tipos de oogônias presentes no epitélio germinativo dos ovários de *Macrobrachium jelskii*, realizadas neste trabalho, tem por base a descrição existente para células germinativas masculinas em outros animais, como por exemplo em mamíferos (Rooij e Russell, 2000) e em peixes (Schulz et al., 2010), nos quais as gerações espermatogoniais são classificadas com base na morfologia nuclear em tipo-A (indiferenciada) e tipo-B (diferenciada).

Resultados semelhantes foram descritos para gônadas femininas de peixes (Quagio-Grassiotto et al., 2011). Neste trabalho, os autores conseguem identificar pela primeira vez oogônias indiferenciadas do tipo-A e oogônias diferenciadas do tipo-B, sendo a do tipo-A desempenhando um papel de célula-tronco. Com base nestes dados, foi possível estabelecer um paralelo entre as células gaméticas femininas de peixes e de camarões, caracterizando aqui, estes dois tipos de oogônias para *Macrobrachium jelskii* e Decapoda em geral.

A identificação das células germinativas iniciais para Decápodes e sua caracterização em oogônia indiferenciada e oogônia diferenciada, conforme proposto neste trabalho é de suma importância, uma vez que os trabalhos existentes até o momento não caracterizam detalhadamente as oogônias (Yano, 1987; Medina et al., 1996; Mantelatto e Fransozo, 1997; Mossolin e Bueno, 2002; Sharifian et al., 2015; Molleberg et al., 2017). Muitas vezes, estas células são confundidas com oócitos profásicos iniciais, os quais já se encontram em meiose. Além das características morfológicas aqui descritas, a imunohistoquímica para proliferação celular permitiu a correta identificação do tipo celular, já que somente a oogônia prolifera, visto que o oócito já se encontra em meiose.

A caracterização e diferenciação de oogônias e oócitos profásicos iniciais foram imprescindíveis para testar a hipótese inicial do trabalho, ou seja, verificar se as células germinativas iniciais formam cistos germinativos com células somáticas em Decapoda, representado aqui por *Macrobrachium jelskii*. Assim, com base nos dados obtidos, observou-se uma diferença importante entre os Decápodes e outros grupos de animais. Enquanto em insetos (Tworzydło et al., 2010) e vertebrados (Grier et al., 2016), incluindo peixes (Mazzoni et al., 2010; Nakamura et al., 2010; Quagio-Grassiotto et al., 2011), anfíbios (Kloc et al., 2004), répteis (Filosa e Taddei, 1976) e mamíferos (Spradling, 1993; Pepling et al., 2006), as primeiras divisões mitóticas oogoniais e as divisões meióticas profásicas dos oócitos ocorrem no interior de cistos germinativos, os quais são delimitados por células pré-foliculares, apoiadas sobre uma membrana basal, em Decapoda, as oogônias, tampouco os oócitos profásicos iniciais não formam cistos germinativos em associação às células pré-foliculares. Dessa forma, a citocinese é completa, gerando células filhas com ausência de pontes citoplasmáticas, que poderiam interconectá-las, como ocorre nos grupos que apresentam formação de cisto germinativo. Assim, as células resultantes do processo de divisão celular, seja ela mitótica ou meiótica, são independentes, sendo possível observar o limite celular de cada célula-filha. Como consequência, o desenvolvimento entre as células-filha não é sincrônico nos Decápodes, já que não há comunicação intercitoplasmática entre as células, diferente do que é facilmente observado nos peixes (Quagio-Grassiotto et al., 2011; Mazzoni e Quagio-Grassiotto, 2017). Isso resulta na formação de uma zona proliferativa, dividida em ninhos germinativos delimitados por células epiteliais que formam cada lóbulo. Dentro dos ninhos germinativos, é possível observar diferentes tipos celulares, sendo estes oogônias indiferenciadas, oogônias diferenciadas com diferentes graus de compactação nuclear, oogônias em divisão mitótica e oócitos profásicos iniciais, em diferentes estágios da prófase. Apesar das células epiteliais delimitarem o ninho germinativo, e iniciarem a formação de uma membrana basal ao redor de todo o conjunto, as células da linhagem germinativa apresentam-se sempre claramente individualizadas.

Dentre os crustáceos, os branquiópodes (artêmias, branchonetas e pulgas d'água), considerados crustáceos mais basais na classificação filogenética, apresentam formação de cistos germinativos (Jaglarz et al., 2014). Esses

cruscáteos basais juntamente com os Hexapoda (insetos) constituem o clado Pancrustacea ou Tetraconata, que agrupam taxons com características em comum, incluindo a presença de cistos germinativos nas gônadas de seus representantes (Jaglarz et al., 2014). Contudo, a presença de cistos não tem sido relatada para os Decápodes (Jaglarz et al., 2014). Este fato é bastante interessante no aspecto evolutivo, uma vez que muitas outras características dos ovários de animais aquáticos, sejam estes invertebrados (Dei-Tos et al., 2016) ou vertebrados (Jamil et al., 2008; Quagio-Grassiotto et al., 2011), são compartilhadas, como por exemplo, acúmulo de vitelo no oócito, formação de uma monocamada folicular, formação da zona pelúcida, permanência das células foliculares no tecido ovariano após a liberação do gameta constituindo um folículo pós-ovulatório, presença de múltiplos nucléolos e formação de cromossomos plumosos.

Já nos aspectos tangentes à foliculogênese, as diferenças entre os grupos parecem ser mais significativas. Em bivalves, por exemplo, a formação inicial de gametas femininos não é cística (Dei-Tos et al., 2016), embora também exista um ninho germinativo, o qual se assemelha mais com o de peixes do que com o de Decapoda. Nos bivalves, a membrana basal circunda um folículo ovariano, entretanto, este folículo apresenta múltiplos oócitos, oriundos dos ninhos germinativos (Dei-Tos et al., 2016). Porém, da mesma forma que em outros animais aquáticos, as células foliculares organizam-se em monocamadas, como no Decápodo aqui observado.

Em relação à formação dos folículos ovarianos nos Decápodes, especialmente na espécie aqui estudada, os processos de constituição da zona pelúcida, da camada folicular e da membrana basal são idênticos aos encontrados nos peixes, especialmente em gônadas em diferenciação (Mazzoni et al., 2010; Mazzoni e Quagio-Grassiotto, 2017). Em ambos os casos, tanto no presente trabalho, como nos peixes, a membrana basal é sintetizada pelas células foliculares ao redor de um conjunto de oócitos pré-vitelogênicos. Somente em etapas posteriores, as células foliculares irão individualizar os oócitos um a um. Somente após esta etapa de formação do folículo ovariano é que o oócito pré-vitelogênico seguirá para seu crescimento secundário, dando início à vitelogênese. Apesar do presente estudo não ter feito análises ultraestruturais com microscopia eletrônica de transmissão, como já realizado para outros Decápodes (O'Donovan et al., 1984;

Kroll et al., 1992; Kubrakiewicz et al., 2012; Molleberg et al., 2017), os resultados puderam ser facilmente obtidos com o Método de Reticulina, o qual utiliza impregnação por prata.

## 5. CONCLUSÃO

Embora os resultados não tenham corroborado a hipótese inicial, na qual haveria a formação de cistos germinativos no epitélio germinativo feminino dos Decápodes, as fases iniciais do processo de foliculogênese são bastante semelhantes entre os invertebrados e vertebrados. Assim, exceto pelo fato de não haver formação de cisto, as características morfológicas das oogônias e dos oócitos profásicos iniciais são extremamente semelhantes. Outro fato interessante entre os Decápodes e os vertebrados, é a ruptura do cisto germinativo em estágio final de paquíteno e começo de diplóteno, em vertebrados, caracterizando a formação de um folículo ovariano e a entrada do oócito pré-vitelogênico em crescimento primário. Esse evento, observado nos vertebrados, coincide com a saída do oócito diplotênico da zona proliferativa e sua entrada na zona de crescimento, originando os primeiros oócitos pré-vitelogênicos que seguirão seu crescimento primário, nos ovários dos Decápodes. Ou seja, exceto pela formação de cistos, o processo inicial do desenvolvimento oocitário, incluindo a foliculogênese e seus crescimentos primário e secundário, mostra-se profundamente semelhante entre os Decápodes e diferentes grupos de animais aquáticos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, & Walter P. (2008). *Molecular biology of the cell* (5th ed). New York: *Garland Science*.

Brown-Peterson, N. J., Wyanski, D. M., Saborido-Rey, F., Macewicz, B. J., Lowerre-Barbieri, S. K. (2011). A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries*, **3**(1), 52-70.

Carvalho, H. A. (1981). Morfologia do aparelho reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1863) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). Parte II. Feminino. *Trabalhos Oceanográficos da UFPE*, **16**, 249-264.

Carvalho, H. A., & Pereira, M. C. G. (1981). Descrição dos estádios ovarianos de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Palaemonidae) durante o ciclo reprodutivo. *Ciência e cultura*, **33**(10), 1353-1359.

Chang, C. F., & SHIH, T. W. (1995). Reproductive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate reproduction & development*, **27**(1), 11-20.

Cirilo, A. T. O., Santos, M. C., & Nunes, M. L. (2011). Caracterização física e nutricional do camarão "saburica" (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877) e de produtos derivados. *Scientia Plena*, **7**(7).

De Grave, S., & Fransen, C. H. J. M. (2011). Carideorum catalogus: the recent species of the dendrobranchiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda) (p. 195). Leiden: NCB Naturalis.

De Melo, G. A. S. (2003). Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil. Edições Loyola.

Dei-Tos, C., Quagio-Grassiotto, I., & Mazzoni, T. S. (2016). Cellular development of the germinal epithelium during the gametogenic cycle of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae). *Revista de biologia tropical*, 521-536.

Filosa, S., & Taddei, C. (1976). Intercellular bridges in lizard oogenesis. *Cell differentiation*, 5(3), 199-206.

Gomes, M. G., Macha, N., Sawaya, P., & Carvalho, H. A. (1979). Histoquímica dos ovários de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836), nos diferentes estádios de desenvolvimento gonadal. II. Lipídeos Histochemistry of the Ovaries of *Macrobrachium Acanthurus* (WIEGMANN, 1836) in Different Stages of. *Boletim de fisiologia animal*, 3, 23.

Grier, H. J., Uribe, M. C., Lo Nostro, F. L., Mims, S. D., & Parenti, L. R. (2016). Conserved form and function of the germinal epithelium through 500 million years of vertebrate evolution. *Journal of Morphology*, 277(8), 1014-1044.

Jaglarz, M. K., Kubrakiewicz, J., & Bilinski, S. M. (2014). The ovary structure and oogenesis in the basal crustaceans and hexapods. Possible phylogenetic significance. *Arthropod structure & development*, 43(4), 349-360.

Jalihal, D. R., Sankolli, K. N., & Shenoy, S. (1993). Evolution of larval developmental patterns and the process of freshwaterization in the prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*, 65(3), 365-376.

Jamil, A. E., Magre, S., Mazabraud, A., & Penrad-Mobayed, M. (2008). Early aspects of gonadal sex differentiation in *Xenopus tropicalis* with reference to an antero-posterior gradient. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, **309**(3), 127-137.

Johnson, J., Canning, J., Kaneko, T., Pru, J. K., & Tilly, J. L. (2004). Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature*, **428**(6979), 145-150.

Kloc, M., Bilinski, S., Dougherty, M. T., Brey, E. M., & Etkin, L. D. (2004). Formation, architecture and polarity of female germline cyst in *Xenopus*. *Developmental biology*, **266**(1), 43-61.

Krol, R. M., Hawkins, W. E., & Overstreet, R. M. (1992). Reproductive components In: Harrison FW, Humes AG, editors. Microscopic Anatomy of Invertebrates Decapod Crustacea. *Reproductive Components*, 295-343.

Kubrakiewicz, J., Jaglarz, M. K., Iliffe, T. M., Bilinski, S. M., & Koenemann, S. (2012). Ovary structure and early oogenesis in the remipede, *Godzilliognomus frondosus* (Crustacea, Remipedia): phylogenetic implications. *Zoology*, **115**(4), 261-269.

Mazzoni, T. S., Grier, H. J., & Quagio-Grassiotto, I. (2010). Germline cysts and the formation of the germinal epithelium during the female gonadal morphogenesis in *Cyprinus carpio* (Teleostei: Ostariophysi: Cypriniformes). *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, **293**(9), 1581-1606.

Mazzoni, T. S., & Quagio-Grassiotto, I. (2017). Ovary differentiation and activity in teleostei fish. *Theriogenology (Intech)*, 129-156.

Medina, A., Vila, Y., Mourente, G., & Rodríguez, A. (1996). A comparative study of the ovarian development in wild and pond-reared shrimp, *Penaeus kerathurus* (Forskål, 1775). *Aquaculture*, **148**(1), 63-75.

Mollemberg, M., Zara, F. J., & Santana, W. (2017). Morphology and ultrastructure of the adult ovarian cycle in Mithracidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Majoidea). *Helgoland Marine Research*, **71**(1), 1-14.

Mossolin, E. C., & Bueno, S. L. (2002). Reproductive biology of *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae) in São Sebastião, Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, **22**(2), 367-376.

Nakamura, S., Kobayashi, K., Nishimura, T., Higashijima, S. I., & Tanaka, M. (2010). Identification of germline stem cells in the ovary of the teleost medaka. *Science*, **328**(5985), 1561-1563.

O'Donovan, P., Abraham, M., & Cohen, D. (1984). The ovarian cycle during the intermoult in ovigerous *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, **36**(4), 347-358.

Otoni, F., Lezama, A. Q., Triques, M. L., Fragoso-Moura, E. N., Lucas, C. C. T., & Barbosa, F. A. R. (2011). *Australoheros perdi*, new species (Teleostei: Labroidei: Cichlidae) from the lacustrine region of the Doce River Valley, southeastern Brazil, with biological information. *Vertebrate Zoology*, **61**, 137-154.

Pileggi, L. G., Magalhães, C., Bond-Buckup, G., & Mantelatto, F. L. (2013). New records and extension of the known distribution of some freshwater shrimps in Brazil. *Revista mexicana de biodiversidad*, **84**(2), 563-574.

Pepling, M. E. (2006). From primordial germ cell to primordial follicle: mammalian female germ cell development. *Genesis*, **44**(12), 622-632.

Pepling, M. E., De Cuevas, M., & Spradling, A. C. (1999). Germline cysts: a conserved phase of germ cell development?. *Trends in cell biology*, **9**(7), 257-262.

Quagio-Grassiotto, I., Grier, H. J., Mazzoni, T. S., Nóbrega, R. H., & Amorim, J. P. (2011). Activity of the ovarian germinal epithelium on the follicle formation and the oocyte development in the freshwater catfish *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes). *Journal of Morphology*, **272**(11), 1290-1306.

Quintero-Hunter, I., Grier, H., & Muscato, M. (1991). Enhancement of histological detail using metanil yellow as counterstain in periodic acid Schiff's hematoxylin staining of glycol methacrylate tissue sections. *Biotechnic & Histochemistry*, **66**(4), 169-172.

Rooij, D. G., & Russell, L. D. (2000). All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. *Journal of andrology*, **21**(6), 776-798.

Schulz, R. W., de França, L. R., Lareyre, J. J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H., & Miura, T. (2010). Spermatogenesis in fish. *General and comparative endocrinology*, **165**(3), 390-411.

Soares, M. R. D. S., Oshiro, L. M., & Toledo, J. C. (2015). Biologia reprodutiva de *Macrobrachium jelskii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) no Rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, **105**, 307-315.

Spradling, A. C. (1993). Germline cysts: communes that work. *Cell*, **72**(5), 649-651.

Strum, J. M., Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2007). Cell biology and histology. *Hagerstown, MD: Lippincott Williams & Wilkins*, 83.

Taddei, F. G. (2006). Biologia populacional, reprodutiva e crescimento dos camarões Palemonídeos *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) e *Macrobrachium brasiliense* (Heller, 1868) (Crustacea: Caridea) na região nordeste do Estado de São Paulo. Botucatu (SP): *Universidade Estadual Paulista*.

Tworzydło, W., Biliński, S. M., Kočárek, P., & Haas, F. (2010). Ovaries and germline cysts and their evolution in Dermaptera (Insecta). *Arthropod structure & development*, **39**(5), 360-368.

Tyler, C. R., & Sumpter, J. P. (1996). Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in fish biology and fisheries*, **6**, 287-318.

Vidal, B. C. (1988). Histochemical and anisotropical properties characteristics of silver impregnation: the differentiation of reticulin fibers from the other interstitial collagens. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere*, **117**, 485-494.

Yano, I., & Chinzei, Y. (1987). Ovary is the site of vitellogenin synthesis in kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, **86**(2), 213-218.

## CAPÍTULO 2

**DINÂMICA REPRODUTIVA DO CAMARÃO DE ÁGUA DOCE  
*MACROBRACHIUM JELSKII* (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE)  
NO LAGO DE FURNAS, SUL DE MINAS GERAIS, BRASIL**

*Este manuscrito será submetido ao periódico internacional Journal of Crustacean Biology (Online ISSN 1937-240X).*

## RESUMO

Muitas espécies de camarão de água doce do gênero *Macrobrachium* apresentam grande interesse econômico, porém, a exploração indiscriminada dos estoques naturais, pode causar a diminuição e/ou extinção desses organismos. Assim, compreender seu ciclo reprodutivo é imprescindível para sua conservação. Nesse sentido, descrevemos a biologia reprodutiva de *Macrobrachium jelskii* para microregião do sul de Minas Gerais. Com coletas mensais durante 2017, no Lago de Furnas, foram observadas alterações macroscópicas na coloração, tamanho e volume, de acordo com o período de seu ciclo reprodutivo. Histologicamente, foi possível classificar quatro fases reprodutivas ao longo do ano, sendo encontradas fêmeas aptas à reprodução durante todos os meses, embora em número reduzido entre junho e julho. Fêmeas ovígeras também foram observadas durante todo o ano, embora em menor quantidade durante o inverno. As menores fêmeas ovígeras tinham um comprimento total de 2,2cm, representando o tamanho mínimo para fêmeas adultas. Análises histológicas demonstraram atividade reprodutiva mesmo nesses indivíduos menores, enfatizando a importância do conhecimento sobre a biologia reprodutiva da espécie, específica para cada micro-habitat. Assim, diante dos dados obtidos, concluímos que as diferenças encontradas entre este e outros estudos ocorrem principalmente devido às características ambientais de ecossistemas específicos. Os dados obtidos destacam a importância de compreender a biologia reprodutiva específica de *M. jelskii* em seu habitat local, contribuindo para a preservação e conservação dos estoques naturais, fornecendo informações valiosas para estudos futuros, possibilitando investigar as interações e o impacto entre *M. jelskii* e outras espécies de camarão que compartilham o mesmo micro-habitat nas populações locais.

**Palavras-chave:** Decapoda, *Macrobrachium*, reprodução, ciclo sexual.

## ABSTRACT

Many species of freshwater shrimps of the genus *Macrobrachium* have significant economic importance; however, indiscriminate exploitation of natural stocks can lead to a decline and/or extinction of these organisms. Therefore, comprehending their reproductive cycle is indispensable for their conservation. In this context, we describe the reproductive biology of *Macrobrachium jelskii* in the microregion of southern Minas Gerais. Through monthly collections during 2017 at the Furnas Lake, macroscopic changes in color, size, and volume were observed in accordance with the reproductive cycle periods. Histologically, it was possible to classify four reproductive phases throughout the year, with spawning capable females found in all months, although in reduced numbers between June and July. Ovigerous females were also observed throughout the year, although in lower quantities during the winter. The smallest ovigerous females had a total length of 2.2 cm, representing the minimum size for adult females. Histological analyses demonstrated reproductive activity even in these smaller individuals, emphasizing the importance of understanding the species' reproductive biology, specific to each microhabitat. Therefore, based on the obtained data, we conclude that the differences found between this and other studies primarily arise due to the environmental characteristics of specific ecosystems. The obtained data underscore the importance of comprehending the specific reproductive biology of *M. jelskii* in its local habitat, contributing to the preservation and conservation of natural stocks, providing valuable information for future studies, enabling the investigation of interactions and the impact between *M. jelskii* and other freshwater shrimp species sharing the same microhabitat in local populations.

**Keywords:** Decapoda, *Macrobrachium*, reproduction, sexual cycle.

## 1. INTRODUÇÃO

Os Decapoda, pertencente ao subfilo Crustacea, são representados por camarões, lagostas e caranguejos e ocupam diversos ecossistemas, dentre estes ambientes marinhos, salobros ou dulcícolas (De Grave e Fransen, 2011). Dentre as espécies de camarões, os representantes do gênero *Macrobrachium* conquistaram gradativamente o ambiente de água doce, e como consequência do processo, passaram a apresentar redução no tamanho corporal, perda de dimorfismo sexual, redução do número e aumento do tamanho dos ovos, redução de estágios larvais, com eclosão de larva e/ou juvenil maior, apresentando independência de água salobra e/ou marinha (Jalihal et al., 1993).

Muitas espécies de camarões de água doce do gênero *Macrobrachium* são objeto tanto da exploração comercial, como da pesca artesanal, apresentando grande interesse econômico e científico (Fransozo et al., 2004). Nas últimas décadas a produção anual total de camarões de água doce desse gênero aumentou para quase 444.000 toneladas (New e Nair, 2012). Entretanto, a exploração indiscriminada dos estoques naturais, pode causar a diminuição e, até mesmo, a extinção desses organismos. Além disso, os sistemas naturais, sendo intensamente modificados pela ação humana, podem também acarretar a diminuição desses estoques naturais (Fukuda, 2015), uma vez que interferem direta ou indiretamente na reprodução da espécie.

Assim, para compreender o ciclo reprodutivo e a biologia populacional de uma espécie existente no sul de Minas Gerais e com vasta distribuição geográfica (De Melo, 2003), tomou-se como modelo biológico o camarão de água doce *Macrobrachium jelskii*, conhecido popularmente como “camarão fantasma” ou “camarão sossego”. Esse camarão, endêmico da América do Sul, é encontrado em todas as grandes bacias brasileiras (Pileggi e Mantelatto, 2013), sendo uma espécie típica de ambiente de represa.

Embora seja considerada uma espécie invasora em algumas regiões do Brasil, que foi, a princípio, introduzida intencionalmente na planície inundável do rio Paraná, pela Companhia Energética de São Paulo, como parte do programa de repovoamento de suas represas (Latini et al., 2016), *M jelskii* apresenta interesse econômico na aquariofilia, sendo utilizado como espécie ornamental, e também

como isca em pescas e/ou alimentação de peixes carnívoros. A espécie é consumida também por populações ribeirinhas, além de apresentar um papel crucial na cadeia trófica em ambientes límnicos (Soares et al., 2015).

A despeito da espécie ser considerada rara no estado de Minas Gerais (Silva, 2010; Soares et al., 2015), a população ribeirinha de determinadas regiões do sul do estado, como pescadores e moradores que vivem às margens da represa, relatam frequentemente a presença de camarões *M. jelskii* durante todo o ano aderidos à região submersa de balsas, tablados e barcos parados dentro d'água. Entretanto, até o presente momento, não há registros científicos da presença da espécie no sul de Minas Gerais, tampouco descrições do ciclo reprodutivo de qualquer gênero de *Macrobrachium* nesta região. Neste contexto, conhecer sua biologia reprodutiva e populacional é crucial para compreender a estabilidade ecológica da espécie em seu ambiente. A determinação correta do período reprodutivo também pode ser utilizada como ferramenta para avaliação dos estoques naturais e estabelecimento de períodos de defeso, em que tal espécie, estando em período reprodutivo e de crescimento, apresenta alta vulnerabilidade, podendo apresentar desequilíbrio na população, caso sofra ações predatórias ou mesmo ambientais.

Somado a isso, este trabalho fornece dados importantes para estudos futuros, uma vez que permite estabelecer uma relação entre a presença de *M. jelskii* e outras espécies de camarão que ocupam um mesmo micro habitat, possibilitando verificar se a coexistência entre *M. jelskii* e outras espécies de camarão pode ter promovido possíveis mudanças populacionais num mesmo micro habitat, considerando o fato de *M. jelskii* ser uma espécie invasora.

Diante do exposto, as fases do ciclo reprodutivo e o período dos eventos de desova de *M. jelskii* foram o principal alvo deste estudo, com o intuito de se conhecer mais detalhadamente os aspectos reprodutivos da espécie.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Área de estudo e amostragem

Exemplares de *M. jelskii*, foram coletados mensalmente entre janeiro e dezembro de 2017, no Lago de Furnas, município de Alfenas-MG (21°20'14.5", -45°59'9.791"). As coletas foram realizadas mensalmente (entre janeiro e dezembro de 2017, no período de lua cheia, correspondendo aos dias 3 até, no máximo, dia 12 de cada mês, ou seja, entre as duas primeiras semanas de cada mês) em três pontos da região de Alfenas-MG (Fig. 1). Nos Pontos 1 e 2, a coleta foi realizada junto à vegetação marginal parcialmente submersa e no Ponto 3, junto à parte inferior de balsas, tablados e barcos parados, na coluna d'água, próximo à superfície (Fig. 2). As coletas foram feitas pela manhã (entre 7 e 9h), quando as temperaturas do dia ainda se mantinham mais baixas. A temperatura da água e a temperatura atmosférica foram mensuradas utilizando um termômetro digital (Termo-higrometro INCOTERM-7666.02.0.00).

### 2.2. Os espécimes

Os espécimes coletados (Fig. 3), com o auxílio de peneiras com malha de 2mm, foram transferidos em baldes para o Laboratório de Ictiologia Experimental da Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG, crioanestesiados a -20°C por 5 min e sexados, com base nos caracteres sexuais secundários (ausência ou presença do apêndice masculino no endopódito do 2º par de pleópodos). Após a sexagem, as fêmeas foram mensuradas pelo comprimento total (CT: distância entre a extremidade distal do rostro ao télson) com auxílio de um paquímetro, fotografadas e separadas em fêmeas ovígeras e não ovígeras. Foram selecionadas 40 fêmeas por mês (n total = 480), com tamanho superior a 2,2 cm, oriundas somente do Ponto 3. Essas fêmeas foram utilizadas para realizar as análises de frequência relativa do ciclo reprodutivo e das fêmeas ovígeras. As demais fêmeas coletadas nos Pontos 1 e 2, foram utilizadas somente para as análises histológicas, uma vez que a amostragem mensal de fêmeas foi abaixo de 10.

### 2.3. Análise Histológica

As gônadas foram dissecadas através de secção da carapaça e transferidas para solução fixadora de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 4% em tampão Sorensen (0,1M a pH 7,2) por 24h. As amostras foram desidratadas em etanol e

incluídas em historesina Leica. Os cortes histológicos (3 $\mu$ m), obtidos em micrótomo equipado com navalhas de vidro, foram corados com Hematoxilina Férrica/Eosina (HE) para determinação histológica das fases reprodutivas.

O ciclo reprodutivo foi caracterizado de acordo com as características microscópicas do epitélio germinativo das gônadas, seguindo a classificação proposta por Brown-Peterson e colaboradores (2011), na qual as fases reprodutivas são classificadas como: Desenvolvimento, Apto à Desova, Regressão e Regeneração. As características macroscópicas dos ovários também foram descritas e associadas às fases reprodutivas.

As frequências relativas de fêmeas apresentando diferentes estágios de desenvolvimento ovariano foram verificadas mensalmente e o período reprodutivo foi determinado pela presença de fêmeas ovígeras (frequência relativa) ao longo do ano (Pinheiro e Fransozo, 2002), associado ao estágio de desenvolvimento gonadal (fases reprodutivas).

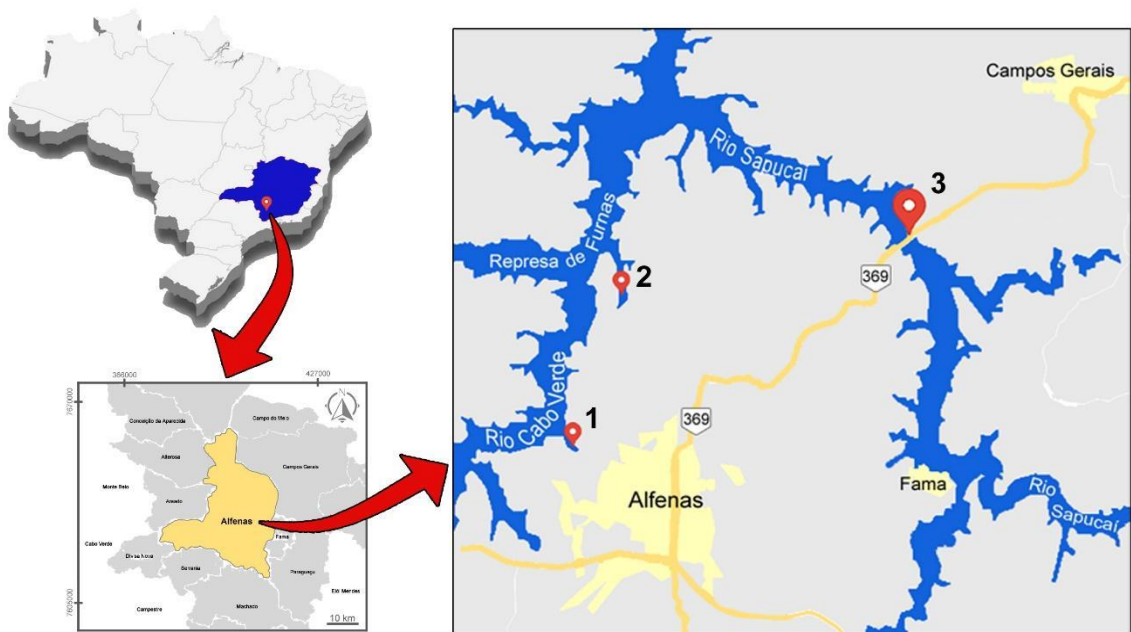


Figura 1. Localização de Alfenas no estado de Minas Gerais e no Brasil. Pontos de coleta do camarão *Macrobrachium jelskii* na represa de Furnas. Ponto 1 e 2: Rio Cabo Verde. Ponto 3: Ponte das Amoras (região limítrofe à Campos Gerais). Fonte: Do autor.



Figura 2. Pontos de coleta do camarão *Macrobrachium jelskii* na represa de Furnas. A) Náutico. B) Porto de Alfenas (Estrada da Harmonia). C) Ponte das Amoras (região limítrofe à Campos Gerais).  
Fonte: Do autor.



Figura 3. Espécimes do camarão de água doce *Macrobrachium jelskii* coletados na Ponte das Amoras (Ponto 3). Fonte: Do autor.

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. Estrutura do sistema reprodutor feminino**

O sistema reprodutor feminino de *M. jelskii* apresenta simetria bilateral, sendo formado por um par de ovários e seus oviductos associados. Os ovários apresentam um aspecto bilobado por se fusionarem parcialmente na porção cranial. Localizam-se dorsalmente ao hepatopâncreas, próximo à região do cefalotórax. Os oviductos estão localizados dorsoventralmente na porção posteromediana do cefalotórax. Eles surgem lateralmente no meio dos ovários e se dobram ventralmente, ligando os ovários à abertura dos gonóporos, na base das coxas do terceiro par de pereópodes.

Os ovários sofrem alterações na coloração, tamanho e volume, de acordo com a fase reprodutiva em que o indivíduo se encontra ao longo de seu ciclo reprodutivo (Fig. 4).

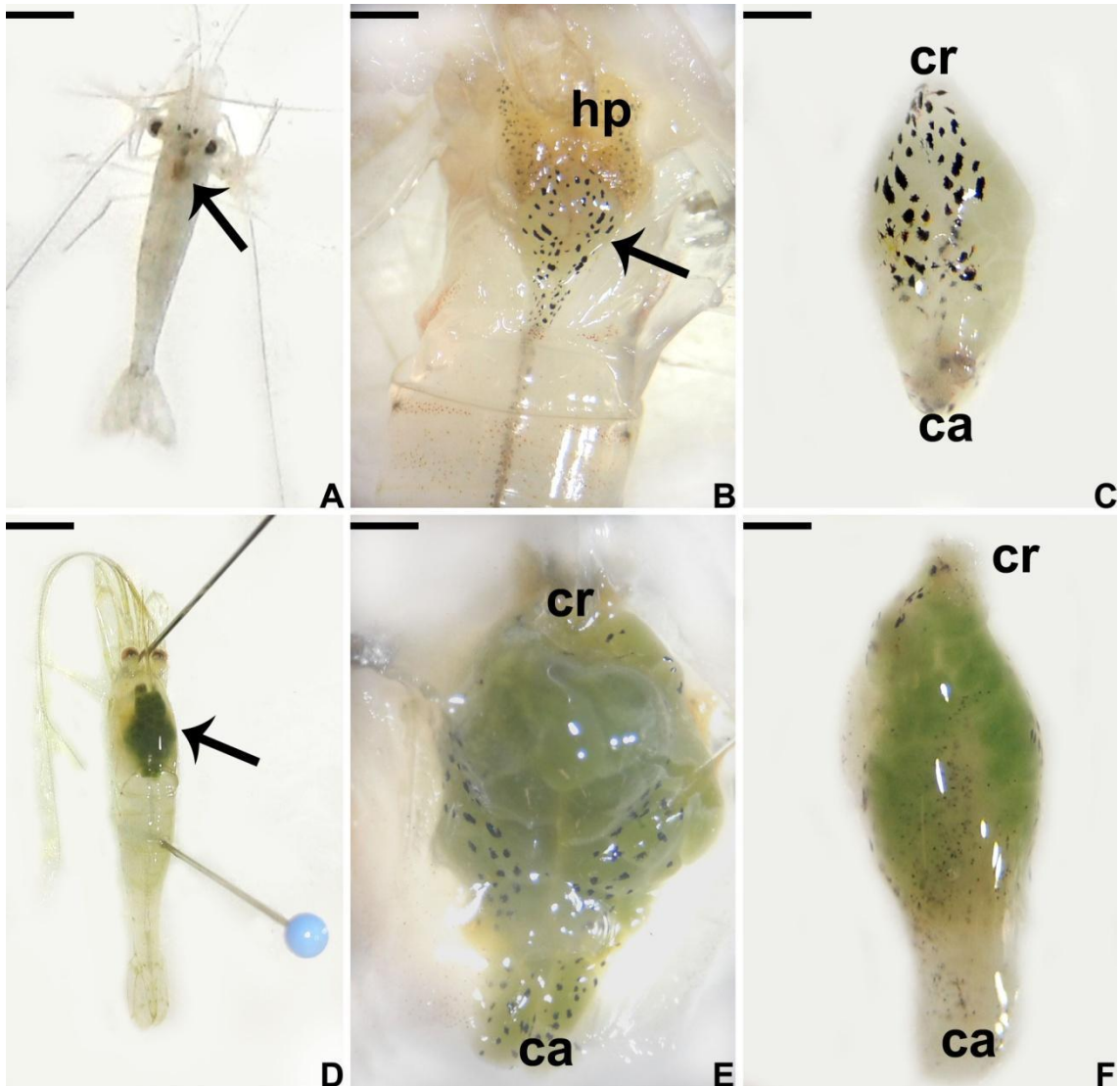


Figura 4. Exemplos de *M. jelskii*. A) Indivíduo adulto sexualmente. B) Gônada em processo de dissecação. C) Ovário em desenvolvimento dissecado. D) indivíduo adulto sexualmente. E) Gônada em processo de dissecação. F) Ovário maduro dissecado. Localização da gônada (seta), hepatopâncreas (hp), porção cranial (cr), porção caudal (ca). Barra: 500 $\mu$ m (A, D), 200 $\mu$ m (B, E, F), 50 (C).

As fêmeas ovígeras (Fig. 5A) apresentam ovos na câmara incubadora, podendo observar-se o desenvolvimento de embriões em diferentes etapas (Fig. 5B-D). Os ovos fecundados incubados pelas fêmeas ficam aderidos aos seus pleópodes até o momento da eclosão, na forma de zoea, que se desenvolverá em um indivíduo juvenil (Fig. 5E).

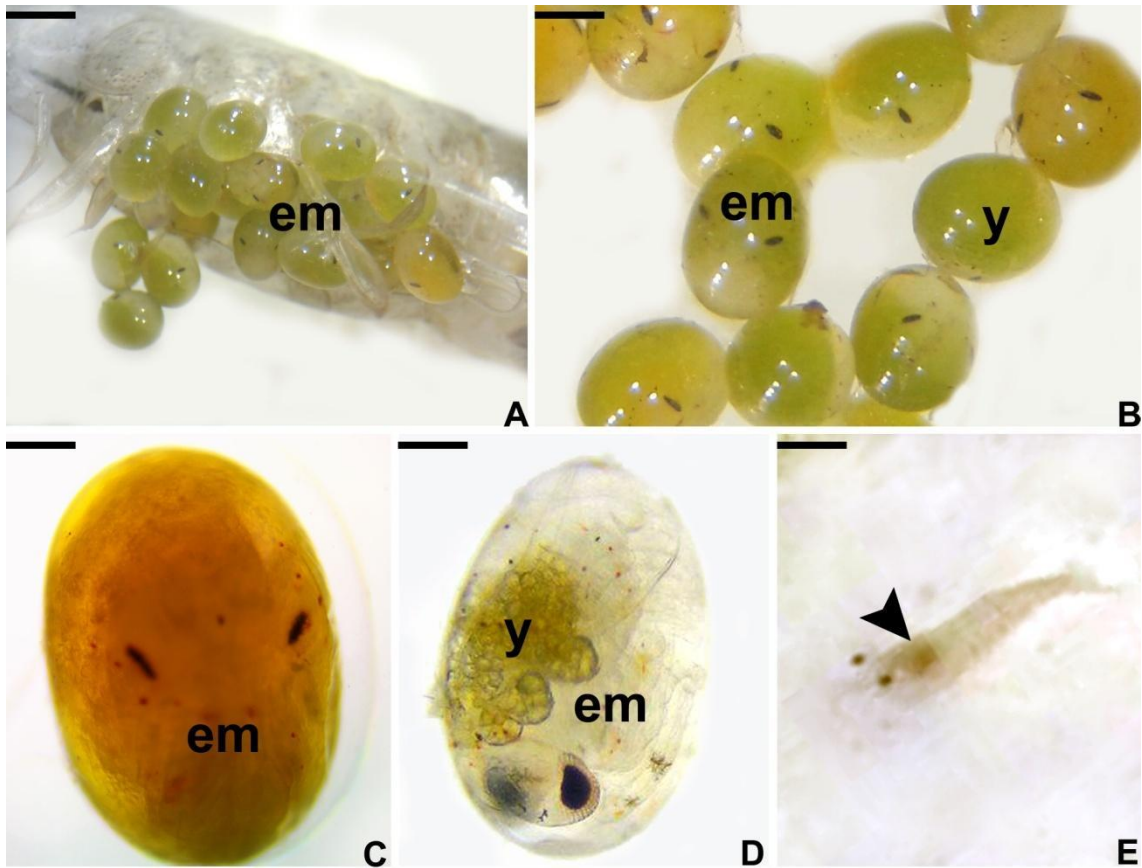


Figura 5. A) Fêmea ovígera de *M. jelskii*, com exposição dos ovos embrionados. B) Ovos embrionados. C-D) Embrião (em) se desenvolvendo no interior do ovo. E) Indivíduo juvenil de *M. jelskii*. Grânulo de vitelo (y), região dorsal, mostrando coloração diferenciada do sistema digestivo (cabeça de seta). Barra: 1mm (A), 500 $\mu$ m (B,E), 200 $\mu$ m (C,D).

### 3.2. Fases reprodutivas

Os ovários de *Macrobrachium jelskii* puderam ser classificados em 4 fases reprodutivas, de acordo com suas características macroscópicas e microscópicas, associadas ao desenvolvimento oocitário. Além das fases reprodutivas, foram observadas gônadas imaturas, iniciando sua entrada no ciclo reprodutivo (primeira maturação sexual) (Fig. 6). Assim, os ovários foram classificados em:

- Imaturo: os ovários são pequenos, incolores e apresentam consistência gelatinosa (Fig. 6A). Não são visíveis por transparência através da carapaça. Nesta fase, observa-se a zona proliferativa bem desenvolvida na região central das gônadas, correspondente à porção proximal do lóbulo ovariano (Fig. 6B). A atividade mitótica das oogônias é alta, quando comparado às outras fases. Os oócitos prófásicos iniciais encontram-se em grande quantidade. Já os oócitos pré-

vitelogênicos estão presentes em quantidade moderada no restante do lóbulo, por toda zona de crescimento (Fig. 6B-D).

- Desenvolvimento: os ovários apresentam coloração esbranquiçada, quando vistos a olho nu. Apesar de haver um aumento no tamanho e volume do ovário, sua visualização por transparência através da carapaça ainda é difícil. É possível observar pequenos oócitos, com o auxílio de uma lupa (Fig. 6E). Nesta fase reprodutiva, os oócitos pré-vitelogênicos estão em maior quantidade que na fase anterior. Na porção proximal do lóbulo ovariano, a zona proliferativa apresenta grande quantidade de oogônias e oócitos profásicos iniciais. A zona de crescimento apresenta oócitos pré-vitelogênicos com diferentes tamanhos. Na porção distal do lóbulo, é possível visualizar os primeiros oócitos vitelogênicos, em crescimento secundário (Fig. 6F-H).

- Apto a desova: a olho nu, os ovários apresentam coloração esverdeada e com oócitos facilmente visualizados (Fig. 6I). A cápsula ovariana de tecido conjuntivo é bastante delgada, rompendo-se facilmente. Nesta etapa é possível visualizar o ovário por transparência através da carapaça. Oócitos vitelogênicos são frequentemente observados ao longo de toda a gônada. Os lóbulos ovarianos perdem sua organização e a zona proliferativa torna-se bastante reduzida pela compressão sofrida por ação dos oócitos maduros, sendo encontrada em regiões dispersas do epitélio germinativo (Fig 6J-L).

- Regressão: os ovários são menores, apresentam consistência gelatinosa e podem ter oócitos remanescentes em atresia (Fig. 6M). Nos lóbulos ovarianos, a zona proliferativa inicia sua reorganização em ninhos germinativos. É possível observar oócitos diplotênicos iniciando seu crescimento primário. As células foliculares estão em grande quantidade e se reorganizando para reconstituir o epitélio germinativo. Os folículos pós-ovulatórios podem ser encontrados com frequência (Fig. 6N-P).

- Regeneração: os ovários ainda são flácidos e com aspecto gelatinoso. Apresentam maior quantidade de cromatóforos do que o ovário imaturo (Fig. 6Q). Os lóbulos ovarianos já se encontram organizados novamente. Oócitos pré-vitelogênicos aumentam gradativamente na zona de crescimento. As oogônias e oócitos profásicos se encontram em grande quantidade na zona proliferativa.

Folículos atrésicos podem ainda ser encontrados na porção distal do lóbulo, assim como folículos pós-ovulatórios (Fig. 6R-T).

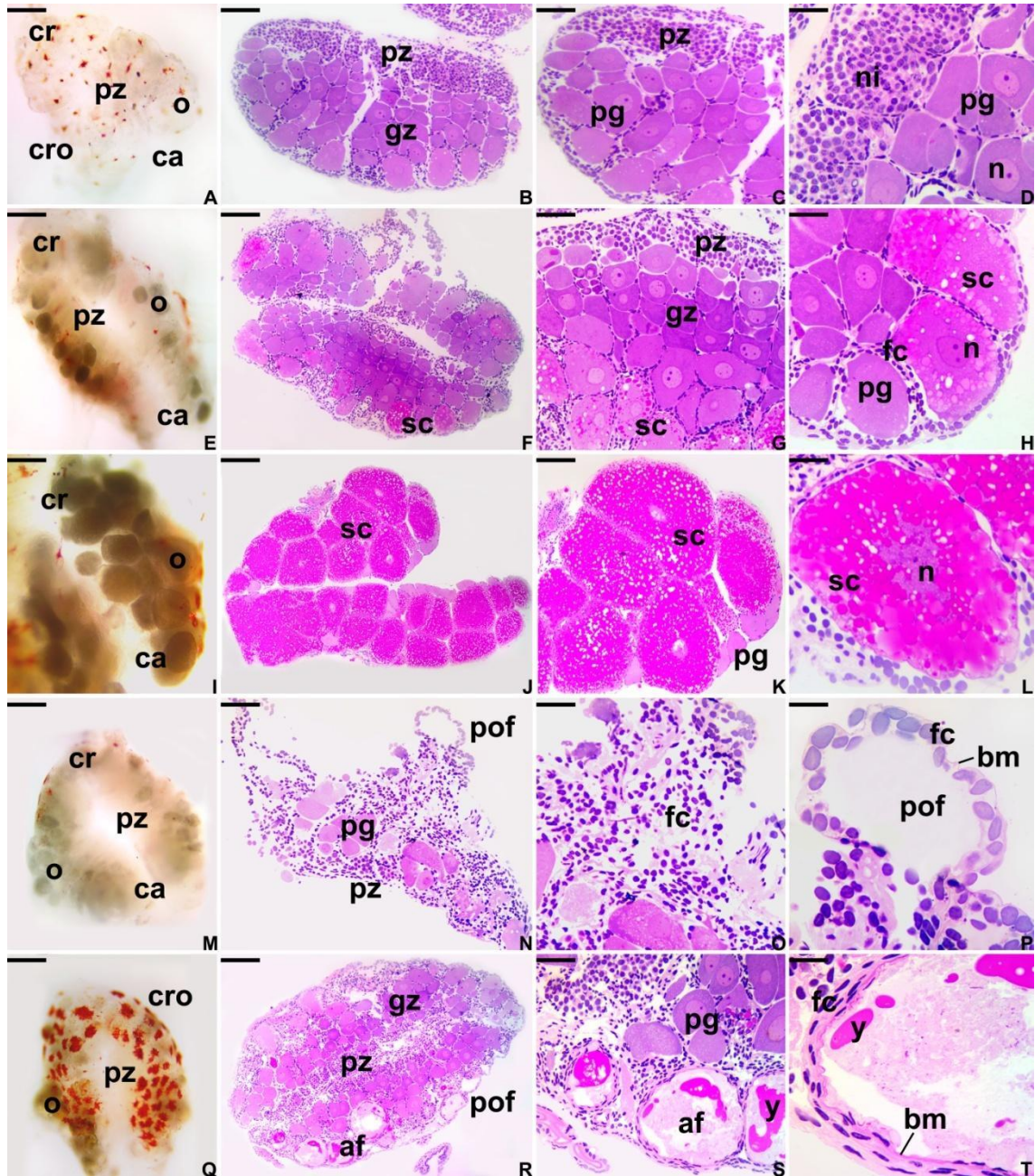


Figura 6. Estágio ovariano imaturo e fases reprodutivas de *M. jelskii*. A-D) Ovário imaturo. Oócitos exclusivamente pré-vitelogênicos e a zona proliferativa bem desenvolvida. E-H) Ovário em desenvolvimento. Presença de gotículas de lipídeos e início da deposição de grânulos de vitelo no ooplasma. I-L) Ovário apto à desova. Predominância de oócitos com vitelogênese final. Ausência da zona proliferativa e lóbulos não definidos. M-P) Ovário em regressão. Presença de folículos pós-ovulatórios, reorganização da zona proliferativa e poucos oócitos em crescimento primário. Q-T) Ovário em regeneração. Estabelecimento da zona proliferativa e dos lóbulos. Presença de folículos atrésicos e pós-ovulatórios. Porção cranial (cr), porção caudal (ca), cromatóforos (cro), oócito (o), zona proliferativa (pz), zona de crescimento (gz), oócito em crescimento primário (pg), ninho (ni), núcleo (n), oócito em crescimento secundário (sg), célula folicular (fc), folículo pós-ovulatório (pof), membrana basal (bm), folículo atrésico (af), grânulo de vitelo (y). Barra: 200µm (A, B, E, F, I, J, M, N, Q, R); 50µm (C, G, K, O, S); 20µm (D, H, L, P, T).

### 3.3. Estrutura Populacional das Fêmeas e Período Reprodutivo

Dentre os espécimes coletados, aquelas fêmeas com comprimento total menor do que 2,0 cm apresentavam ovários imaturos e não foram consideradas para determinação do período reprodutivo. Assim, somente animais maiores do que 2,2 cm foram considerados sexualmente maduros, uma vez que algumas fêmeas eram, inclusive, ovígeras, embora com poucos ovos. O maior espécime feminino coletado ao longo do ano apresentava 3,9 cm.

As fêmeas não ovígeras estiveram presentes durante todas as estações do ano, com maior número durante o outono e inverno, correspondendo à 75% e 75,84% dos animais coletados, respectivamente (Fig. 7). Já as fêmeas ovígeras estiveram em maior frequência nas estações mais quentes, sendo estas, primavera (50,84%) e verão (45%) (Fig. 7).

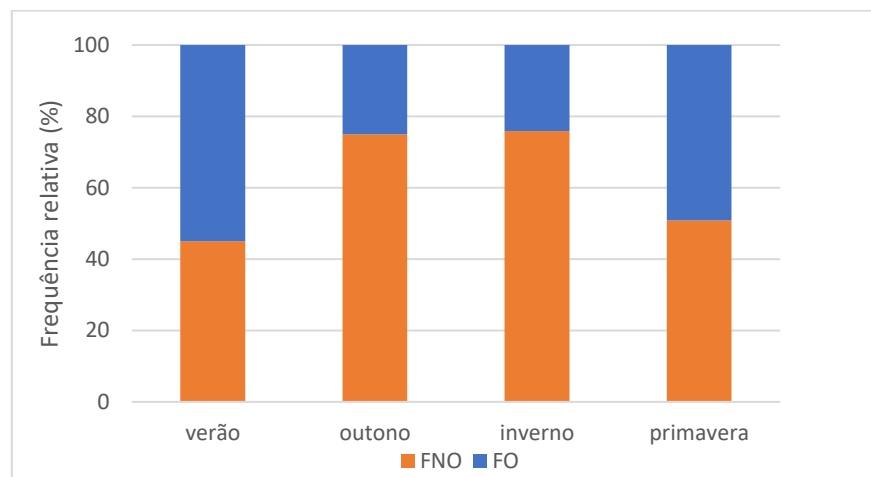


Figura 7. Frequência relativa (%) de fêmeas não ovígeras (FNO) e fêmeas ovígeras (FO) de *M. jelskii* durante as estações do ano.

Em relação à frequência de fêmeas ao longo dos meses, foi observado que as fêmeas não ovígeras estiveram em maior quantidade em junho e julho, correspondendo à 97,5% e 92,5%, respectivamente, dos animais coletados (Fig. 8). Já as fêmeas ovígeras foram encontradas, correspondendo à maioria dos animais (mais que 50%) nos meses de janeiro, fevereiro, março, novembro e dezembro.

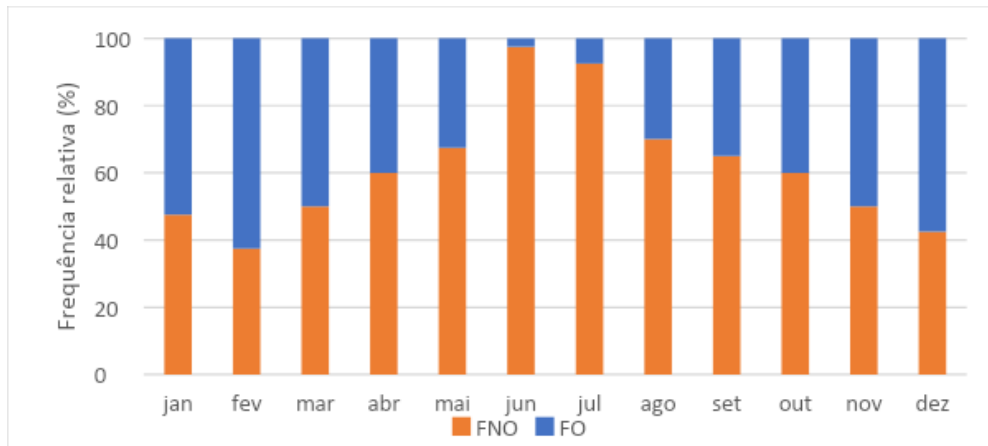


Figura 8. Frequência relativa (%) de fêmeas não ovíferas (FNO) e fêmeas ovíferas (FO) de *M. jelskii* durante o período de janeiro a dezembro de 2017.

Em relação às fases reprodutivas, a predominância de fêmeas na fase reprodutiva “Apto à Desova” foi durante a primavera (57,5%) e principalmente verão (75%), embora todas as fases reprodutivas tenham sido encontradas ao longo de todas as estações (Fig 9). Quando a frequência relativa das fases reprodutivas durante o período de janeiro a dezembro foi observada mês a mês, notou-se que as fêmeas na fase reprodutiva “Apto à Desova” predominaram nos meses de janeiro a março, apresentando frequência variando de 70 a 80%, e nos meses de novembro (57,5%) e dezembro (70%), quando a frequência se torna acima de 50% novamente (Fig. 10).

Ao longo do ano, a temperatura atmosférica e a temperatura da água apresentaram uma média de 26,8 e 22,9°C, respectivamente. A temperatura atmosférica mais elevada registrada foi no mês de outubro (31°C), enquanto que a temperatura mais elevada da água foi de 29°C em dezembro. Já as temperaturas atmosférica e da água mais baixas registradas ao longo do ano foram 21,5 e 15°C, respectivamente, ambas no mês de julho (Fig. 10).

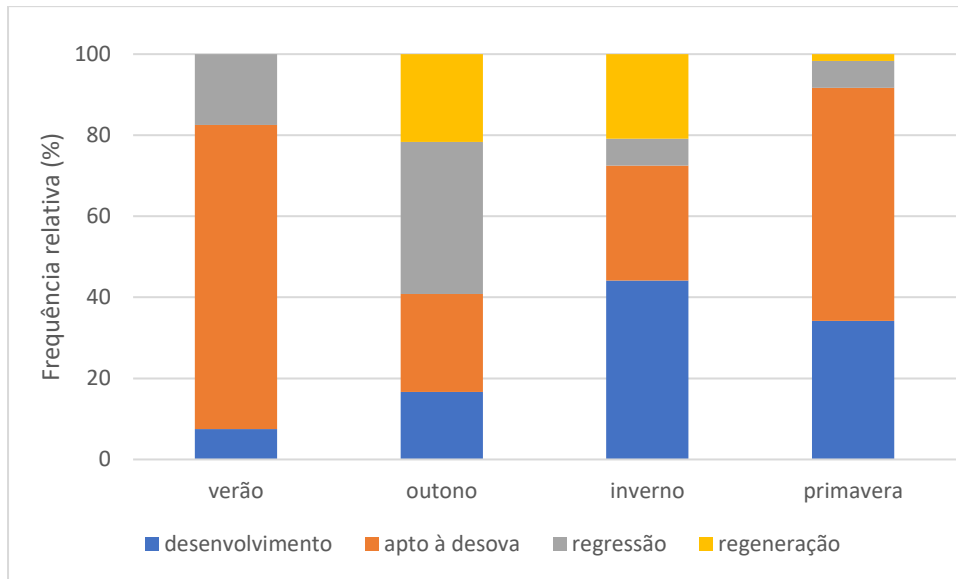


Figura 9. Frequência relativa (%) das fases reprodutivas de fêmeas de *M. jelskii* durante as estações do ano de 2017.

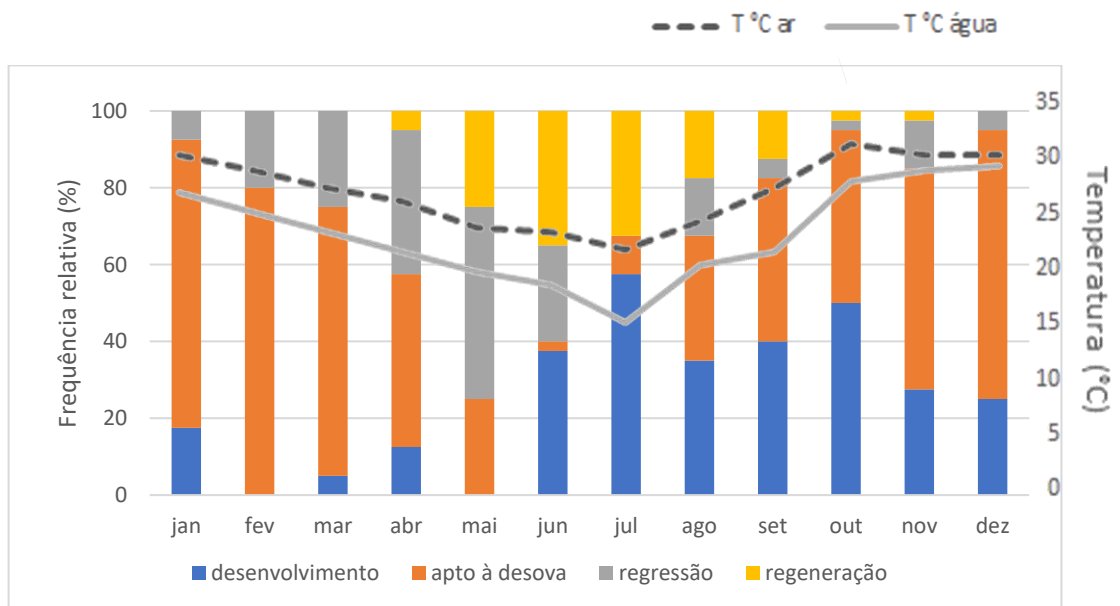


Figura 10. Relação entre a temperatura ambiente (atmosférica e água, em °C) e a frequência relativa (%) das fases reprodutivas de fêmeas de *M. jelskii* durante o período de janeiro a dezembro de 2017.

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Fases reprodutivas

Muitos autores consideram o estágio inicial do ciclo reprodutivo de organismos aquáticos, sejam estes decápodes ou mesmo peixes e anfíbios, como um período de repouso (Chang e Shih, 1995; Vazzoler, 1996). Contudo, nesta fase, muitos estudos mostram uma intensa proliferação celular (Brown-Peterson et al., 2011) tanto de oogônias, quanto de células foliculares (Quagio-Grassiotto et al., 2010) para que o ovário possa regenerar seu tecido gonadal e iniciar um novo ciclo reprodutivo. Assim, esta fase considerada “inativa” por muitos autores (Gomes et al., 1979; Carvalho, 1981; Carvalho e Pereira, 1981; Mossolin e Bueno, 2002) foi denominada aqui de fase de “regeneração”. Nesta, a proliferação das células germinativas e epiteliais é responsável pelo aumento do número e do comprimento dos lóbulos ovarianos, dentro dos quais novos oócitos se desenvolvem ao longo do ciclo reprodutivo, permitindo o avanço da gônada para fase de “desenvolvimento” (na qual há crescimento secundário dos oócitos), “apto a desova” (quando o animal apresenta muito oócitos maduros e está pronto para se reproduzir) e “regressão” (período pós-desova, quando o ovário, após liberar os oócitos maduros, regride em tamanho, e apresenta estruturas remanescentes em atresia e/ou degeneração).

Proposta inicialmente para os peixes (Brown-Peterson et al., 2011), os quais apresentam as mesmas fases reprodutivas que os Decápodes, essa nova nomenclatura mostra-se bastante adequada, visto que a descrição de cada fase tem maior significância, quando se consideram os eventos observados em cada uma dessas fases reprodutivas. Essas similaridades do processo reprodutivo ocorrem em várias espécies do gênero *Macrobrachium*, mesmo em diferentes ambientes ocupados por uma mesma espécie (Martins et al., 2007; Rodrigues et al., 2022), porém variando o período das épocas reprodutivas. Entretanto, muitas fases são classificadas erroneamente, devido à análise das gônadas restringir-se somente a aspectos macroscópicos.

Neste aspecto, considerando que essas fases reprodutivas estão presentes em muitas espécies aquáticas, sugerimos uma nova forma de nomear os estágios reprodutivos para os Decápodes, como já foi feito para o mexilhão dourado (Deitos et al., 2016), um bivalve de água doce, que também apresenta os mesmos eventos

celulares para cada fase ao longo do seu ciclo reprodutivo. Dessa forma, espera-se que a determinação do período reprodutivo seja mais preciso e adequado para *M. jelskii*, como também para outros crustáceos.

Nos decápodes dulcícolas, o período reprodutivo está profundamente associado ao regime de chuvas, às modificações térmicas e ao fotoperíodo da região onde estão presentes (Pinheiro e Hebling, 1998). Assim, para determinação correta da maturidade sexual e das fases reprodutivas, a análise microscópica é crucial, ainda que seja utilizada menos frequentemente que a análise macroscópica (Linhares, 2010). Entretanto, a análise histológica reconhece os tipos celulares de forma precisa, o que permite a determinação do período reprodutivo dos espécimes em habitats regionais específicos. Isso implica em determinações corretas de épocas de defeso distintas para cada região, permitindo a criação de ferramentas para gestão e cultivo, bem como em políticas para a preservação da espécie (Fransozo et al., 2004).

Por outro lado, conhecer as fases reprodutivas e tamanho do comprimento corpóreo correspondente à primeira maturação sexual, não somente permite o cultivo e preservação da espécie, mas também pode ser utilizado para combater espécies invasoras. Visto que *M. jelskii* é considerado uma espécie endêmica invasora na região do sul de Minas Gerais, em se verificando futuramente uma influência negativa da espécie sobre a fauna nativa, é imprescindível conhecer sua biologia reprodutiva, uma vez que este conhecimento pode servir como uma ferramenta importante para o combate da espécie neste seu novo habitat, impedindo seu crescimento e povoamento em áreas específicas.

#### **4.2. Estrutura Populacional das Fêmeas e Período Reprodutivo**

Na região estudada (sul de Minas Gerais), o maior espécime feminino encontrado apresentou 3,9 cm. Este tamanho corpóreo do animal pode ser correspondente a espécimes imaturos, dependendo das condições abióticas e áreas estudadas, considerando que a mesma espécie pode atingir até mais do que 5,0 cm (Soares et al., 2015). Soares e colaboradores (2015) registraram fêmeas ovígeras somente com tamanho corpóreo entre 5,07 e 5,12 cm, dados bastante distintos dos registrados neste estudo, no qual foram encontradas fêmeas ovígeras

de apenas 2,2 cm. Ainda neste estudo de Soares e colaboradores (2015), a maturidade sexual populacional de *M. jelskii* foi estimada para a classe de comprimento total de 3,92 a 4,17 cm. Se esses dados fossem aplicados nesta população do sul de MG, e desconsiderando as características morfológicas do ovário, todas as fêmeas seriam consideradas imaturas, uma vez que as fêmeas em fase reprodutiva variaram entre 2,2 e 3,9 cm. Esses dados mostram claramente que o tamanho do comprimento total de cada indivíduo, associado ao seu nicho específico, contribui significativamente para a determinação do tamanho correspondente à entrada na primeira maturação sexual.

No presente estudo, o período reprodutivo, representado pela presença de grande quantidade de fêmeas ovígeras dentre a população analisada, estendeu-se até maio (outono), quando normalmente o período reprodutivo da espécie concentra-se no verão, caracterizado por períodos mais quentes e chuvosos (Soares et al., 2015). Isso reforça a importância de se conhecer a biologia reprodutiva da espécie, específica para cada micro-habitat. Além disso, mostra como os fatores abióticos como temperatura, fotoperíodo e condições da água podem afetar a população, influenciando tanto o desenvolvimento corpóreo, como a entrada na primeira maturação sexual (Sastry, 1983; Pinheiro e Hebling, 1998).

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos dados obtidos acerca da biologia reprodutiva de *M. jelskii*, concluímos que as diferenças encontradas neste e em outros estudos ocorrem principalmente devido as características ambientais de ecossistemas específicos, como temperatura da água, quantidade de vegetação marginal, esconderijos para as fêmeas ovígeras, etc. Isso mostra a importância de conhecer características específicas sobre os aspectos reprodutivos das espécies em seu próprio habitat. Embora os padrões reprodutivos se assemelhem em populações distintas, o tamanho dos espécimes sexualmente reprodutivos varia. Isso destaca a necessidade de classificação precisa das fases reprodutivas usando dados microscópicos, além da anatomia macroscópica da gônada. Assim, recomenda-se considerar os aspectos reprodutivos para uma exploração mais sustentável, como identificar o tamanho do espécime e seu estágio de desenvolvimento gonadal, como forma de garantir que os indivíduos em crescimento e em reprodução ativa sejam excluídos de captura, permitindo a perpetuação da espécie através da reprodução ou mesmo o controle da população, quando a espécie torna-se invasora.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brown-Peterson, N. J., Wyanski, D. M., Saborido-Rey, F., Macewicz, B. J., Lowerre-Barbieri, S. K. (2011). A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries*, 3(1), 52-70.

Carvalho, H. A. (1981). Morfologia do aparelho reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1863)(Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). Parte II. Feminino. *Trabalhos Oceanográficos da UFPE*, 16, 249-264.

Carvalho, H. A., Pereira, M. C. G. (1981). Descrição dos estádios ovarianos de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836)(Crustacea, Palaemonidae) durante o ciclo reprodutivo. *Ciência e cultura*, 33(10), 1353-1359.

Chang, C. F., SHIH, T. W. (1995). Reproductive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate reproduction & development*, 27(1), 11-20.

De Grave, S., Fransen, C. H. J. M. (2011). Carideorum catalogus: the recent species of the dendrobranchiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda) (p. 195). *Leiden: NCB Naturalis*.

De Melo, G. A. S. (2003). Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil. *Edições Loyola*.

Dei Tos, C., Quagio-Grassiotto, I., Mazzoni, T. S. (2016). Cellular development of the germinal epithelium during the gametogenic cycle of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae). *Revista de biologia tropical*, 521-536.

Fransozo, A., Rodrigues, F. D., Freire, F. A. M., Costa, R. C. (2004). Reproductive biology of the freshwater prawn *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897) (Decapoda: Caridea: Palaemonidae) in the Botucatu region, São Paulo, Brazil. *Nauplius*, 12(2), 119-126.

Fukuda, B. (2015). Composição dos carídeos e biologia populacional de *Macrobrachium heterochirus* (Decapoda; palaemonidae), no rio Mandira, Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. Tese de Doutorado. Instituto de Pesca. *Instituto de Pesca*.

Gomes, M. G., Macha, N., Sawaya, P., Carvalho, H. A. (1979). Histoquímica dos ovários de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836), nos diferentes estádios de desenvolvimento gonadal. II. Lipídeos. *Boletim de fisiologia animal*, 3, 23-31.

Jalihai, D. R., Sankolli, K. N., Shenoy, S. (1993). Evolution of larval developmental patterns and the process of freshwaterization in the prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*, 65(3), 365-376.

Linhares, J. C. S. (2010). Estratégias reprodutivas do caranguejo *Ucides cordatus* (Crustacea; Brachyura; Ucididae). 95p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

Martins, J., Ribeiro, K., Rangel-Figueiredo, T., Coimbra, J. (2007). Reproductive cycle, ovarian development, and vertebrate-type steroids profile in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Crustacean Biology*, 27(2), 220-228.

Mossolin, E. C., Bueno, S. L. (2002). Reproductive biology of *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae) in São Sebastião, Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 22(2), 367-376.

New, M. B., Nair, C. M. (2012). Global scale of freshwater prawn farming. *Aquaculture Research*, 43(7), 960-969.

Pileggi, L. G., Mantelatto, F. L. (2010). Molecular phylogeny of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae), with emphasis on the relationships among selected American species. *Invertebrate Systematics*, 24(2), 194-208.

Pinheiro, M. A. A., Fransozo, A. (2002). Reproductive dynamics of the speckled swimming crab *Arenaeus cribrarius* (Lamarck, 1818) (Brachyura, Portunidae), on the north coast of São Paulo State, Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 22(2), 416-428.

Pinheiro, M. A. A., Hebling, N. J. (1998). Biologia de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões*. Brasília: IBAMA, 21-46.

Rodrigues, M. M., Greco, L. S. L., Almeida, L. C. F., Bertini, G. (2022). Histological and Histochemical Dynamism of Oogenesis in the Cinnamon River Prawn *Macrobrachium acanthurus* (Caridea: Palaemonidae) Induced by Eyestalk Ablation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94.

Sastry, A. N., Vernberg, F. J., Vernberg, W. B. (1983). Ecological aspects of reproduction. *The biology of Crustacea, Environmental Adaptations*. New York: Academic Press, v. 8, 179-270.

Soares, M. R. D. S., Oshiro, L. M., Toledo, J. C. (2015). Biologia reprodutiva de *Macrobrachium jelskii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) no Rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 105, 307-315.

Vazzoler, A. E. A. M. (1996). Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. [Reproduction biology of teleost fish: Theory and practice.]. *EDUEM*, Maringá, Brazil.

## CONCLUSÕES GERAIS

- O desenvolvimento inicial das células germinativas durante a foliculogênese não ocorre dentro de cistos germinativos nas fêmeas de *Macrobrachium jelskii*;
- Ainda que não haja cistos germinativos, as fases iniciais do processo de foliculogênese são bastante semelhantes entre os invertebrados e vertebrados aquáticos;
- As características morfológicas das oogônias indiferenciadas e diferenciadas, bem como dos oócitos profásicos iniciais são extremamente semelhantes aos outros animais sejam estes invertebrados ou vertebrados;
- Ainda que não haja formação de cistos germinativos em *Macrobrachium jelskii*, a saída do oócito diplotênico da zona proliferativa e sua entrada na zona de crescimento, originando os primeiros oócitos pré-vitelogênicos envoltos por uma membrana basal individualizada, coincide com a formação e estabelecimento da membrana basal nos demais grupos de animais aquáticos, demonstrando quão preservado é o processo de foliculogênese;
- As diferenças encontradas durante o ciclo reprodutivo de *Macrobrachium jelskii* neste e nos demais estudos devem-se principalmente às características ambientais de ecossistemas específicos;
- A diferença do tamanho corporal entre os espécimes deste e de outros estudos, bem como a entrada na primeira maturação sexual de fêmeas ovígeras com menor tamanho, reforça a afirmação de que os aspectos reprodutivos são modulados de acordo com diferentes habitats ocupados pela população;

- Embora os padrões reprodutivos de *Macrobrachium jelskii* se assemelhem em populações distintas, o tamanho dos espécimes sexualmente reprodutivos varia conforme seu micro-habitat;

- A classificação de fases reprodutivas a partir de análises microscópicas, permitem a identificação correta dos tipos de células germinativas, bem como acompanhar as alterações ocorridas no epitélio germinativo ao longo de seu ciclo reprodutivo, possibilitando, assim, que o período reprodutivo da espécie seja definido com segurança;

- O conhecimento dos aspectos reprodutivos da espécie garante um manejo e controle da população em seu habitat mais adequado, seja em aspectos tangentes à exploração comercial sustentável ou mesmo no controle da população em áreas nas quais a espécie torna-se invasora.