

1. INTRODUÇÃO

Os camarões de água doce do gênero *Macrobrachium* totalizam mais de 100 espécies, amplamente distribuídas nas zonas tropical e subtropical. Embora possam crescer e acasalar em ambientes dulcícolas, a maioria das espécies necessita da água salobra dos estuários para seu desenvolvimento larval (PINHEIRO & HEBLING, *no prelo*).

De acordo com NEW (1990), as três maiores espécies do gênero *Macrobrachium* são *M. acanturus*, *M. carcinus* e *M. rosenbergii*, sendo esta última a precursora dos projetos iniciais de carcinicultura de água doce. A partir do final da década de 70, quando a produção massal de pós-larvas tornou-se viável, houve um grande interesse na criação comercial desse crustáceo, que passou a ser cultivado em vários países, inclusive no Brasil.

NEW (1995) cita que no ano de 1992 a produção mundial das fazendas de engorda de *M. rosenbergii* foi de 31.235 toneladas, correspondendo a 3,2% da produção total de crustáceos decápodos cultivados. Desta fração, 60% provém do Continente Asiático e o restante do Continente Americano, onde o Equador e

Brasil destacam-se entre os maiores produtores, ocupando, respectivamente, o 5º e 6º lugares no “ranking” mundial.

De acordo com VALENTI (1992 e 1993), o Brasil possui centenas de pequenos criadores que cultivam camarões de água doce em áreas que variam de 0,2 a 2,0 ha, e algumas fazendas de grande porte, com área de cultivo variando de 10 a 50 ha. Segundo esse mesmo autor, a produtividade obtida deste empreendimento resulta em 1.000 a 1.500 kg/ha/ano na região sul-sudeste, onde o cultivo é interrompido durante o inverno, e de 1.000 a 2.500 kg/ha/ano para a região norte-nordeste, cujo clima favorece o cultivo contínuo.

Apesar das técnicas de larvicultura desse crustáceo estarem bem avançadas, existe ainda uma limitação na obtenção de fêmeas ovígeras durante o inverno, nas regiões subtropicais. Quando a água dos viveiros atinge temperaturas inferiores a 18°C, os camarões sofrem alterações metabólicas expressivas, com minimização do crescimento somático e da atividade reprodutiva, resultando muitas vezes em alta mortalidade.

Com a passagem do inverno, as águas ganham calor gradativamente e o cultivo pode ser reiniciado; no entanto, os criadores muitas vezes não possuem pós-larvas para o povoamento dos tanques nesta época, devido à temperatura e ao fotoperíodo ainda reduzidos, que minimizam o processo reprodutivo na maioria dos crustáceos decápodos (STEELE *et al.*, 1977; PAYEN, 1980-81; CAMPBELL & FIELDER, 1986; MEUSY & PAYEN, 1988).

Para contornar este problema, a técnica de ablação do pedúnculo ocular vem sendo utilizada com sucesso na indução da maturação gonadal (SANTIAGO

Jr., 1977; PRIMAVERA, 1978; LAWRENCE *et al.*, 1980; BROWDY & SAMOCHA, 1985; JUINIO-MENÉZ & RUINATA, 1996; e SAGI *et al.*, 1997), obtendo-se uma antecipação do estado ovígero e aumento na frequência de desovas. TANFERMIN (1991) menciona a utilização desta técnica no cultivo de camarões peneídeos, resultando em aumento das taxas de maturação e desova de espécies de difícil reprodução em cativeiro. Embora a ablação ocular seja amplamente utilizada para estimular o processo reprodutivo em camarões marinhos e lagostas, NEW (1990) cita que tal técnica não é utilizada comercialmente para promover a maturação gonadal no camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*.

O presente trabalho tem como objetivo analisar a eficiência da técnica de ablação unilateral e bilateral do pedúnculo ocular em fêmeas de *M. rosenbergii*, com 4 e 7 meses de idade, bem como a influência na reprodução e coloração epidérmica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Um dos primeiros trabalhos que avalia as conseqüências do processo de ablação do pedúnculo ocular em crustáceos decápodos é o de PANOUSE (1943), referente ao camarão *Leander serratus*. Nesse trabalho o autor menciona que a ablação do pedúnculo ocular promove uma extrema aceleração no crescimento ovariano, propondo a hipótese de existir um órgão endócrino nesta estrutura, atuando de maneira independente na inibição do crescimento ovariano.

Atualmente sabe-se que o pedúnculo ocular dos crustáceos abriga células neuro-secretoras que formam o complexo órgão-X/glândula do seio (COX/GS), responsável pela produção, estocagem e distribuição dos neuro-hormônios reguladores da muda e gametogênese. Com a ablação do pedúnculo ocular elimina-se a síntese desses neuro-hormônios, promovendo um desequilíbrio hormonal com alterações diretas sobre tais processos (ADIYODI & ADIYODI, 1970).

O órgão-X sintetiza o Hormônio Inibidor Gonadal (HIG) que, posteriormente, é armazenado e distribuído pela glândula do seio. Com a retirada

do pedúnculo ocular elimina-se a fonte produtora do HIG, permitindo uma maior concentração do Hormônio Estimulador Gonadal (HEG). O HEG é produzido pelo órgão-Y no cefalotórax e estimula a maturação gonadal (ADIYODI & ADIYODI, 1970). De acordo com PRIMAVERA (1979) *apud* PRIMAVERA (1988), a ablação do pedúnculo ocular deve ser efetuada no estágio de intermuda para resultar em maturação gonadal; ao passo que, se realizada em pré-muda, promove apenas a antecipação da ecdise e aumento do período de latência para a próxima maturação. Tal fato é reflexo do antagonismo existente entre os processos de crescimento e reprodução nos crustáceos decápodos, que competem pela mesma fonte energética estocada no hepatopâncreas (KYOMO, 1988).

Substâncias de origem endócrina, responsáveis pelo controle da intensidade de pigmentação e coloração epidérmica (BROWN, 1935), também podem ser produzidas nos pedúnculos oculares dos crustáceos decápodos. De acordo com RAO (1985), a coloração dos crustáceos é reflexo quantitativo e qualitativo da dispersão e distribuição de cromatóforos na epiderme. Segundo esse mesmo autor, os cromatóforos podem ser classificados quanto ao pigmento que possuem, recebendo denominações distintas: melanóforos (marrom/preto), leucóforos (branco), eritróforos (vermelho) e xantóforos (amarelo); existindo ainda os policromáticos, caracterizados pela composição simultânea de dois ou mais pigmentos. A dispersão e concentração de pigmentos nos cromatóforos é regulada por neuro-hormônios, denominados cromatóforotropinas, que são secretados pelo órgão-X (RAO, 1985). A extirpação do pedúnculo ocular promove uma redução desses hormônios na circulação, provocando mudanças no padrão

de coloração característico da espécie (PASTEUR, 1958; HUNBERT, 1965; SHIBLEY, 1968).

Alguns autores têm constatado que no pedúnculo ocular também são sintetizadas substâncias reguladoras da alimentação. De acordo com SEARS *et al.* (1991), a ablação do pedúnculo ocular maximizou os estímulos químicos no caranguejo *Uca pugilator*, que passou a apresentar resposta alimentar mesmo em reduzidas concentrações de glicose. Este comportamento é resultado da ausência de uma substância peptídica, produzida pelo complexo órgão-X/glândula do seio, denominada Fator Inibidor da Alimentação (FIA).

A técnica de ablação ocular pode ser realizada segundo dois métodos distintos. O primeiro consiste em fazer uma incisão no globo ocular do crustáceo com remoção do complexo órgão-X/glândula do seio por pressão superficial, conservando o animal submerso na água durante todo o processo (PRIMAVERA, 1978). Já o segundo, resulta na remoção total ou parcial do pedúnculo ocular com um instrumento cortante, seguida de cauterização "a quente" com uma agulha incandescente (PRIMAVERA, 1985), ou "a frio", com a aplicação de resina a base de nitrocelulose (DÉMEUSY, 1962) ou nitrogênio líquido (SAGI *et al.*, 1997).

3. MATERIAL & MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram feitos dois experimentos com camarões provenientes de viveiros-berçário pertencentes ao Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP) com uma única repetição cada. No primeiro, foram utilizados animais com quatro meses de idade (comprimento médio total de $58,16 \pm 4,69$ mm e peso médio de $15,62 \pm 3,69$ g) e, no segundo, com sete meses de idade (comprimento médio total de $144,00 \pm 0,98$ mm e peso médio de $31,09 \pm 4,29$ g).

Foram selecionadas fêmeas em intermuda (estágio C), por inspeção da margem do exopodito do urópodo de acordo com as indicações de DRACH & TCHERNIGOVITZEFF (1967). Posteriormente, foram estabelecidos três tratamentos: 1) controle; 2) ablação unilateral; e 3) ablação bilateral. Em cada um, os camarões foram colocados numa proporção de um macho BC ("Blue Claw") para cinco fêmeas (1:5), em tanques de fibrocimento de 750 litros, com 60 cm de coluna d'água, pintados internamente com tinta do tipo epoxi de cor preta. Para prevenir doenças causadas por agentes patógenos, os tanques foram previamente lavados e desinfetados com uma solução a base de hipoclorito de cálcio (2,5%); a seguir, providos de circulação interna (filtro biológico), controlando-se a temperatura com um termostato-aquecedor ($28,0 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$). O fotoperíodo foi de 12L:12E, controlado por um "timer", gerando uma intensidade

luminosa média incidente de $6,3 \mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ (± 284 LUX). Segundo CHAVES-JUSTO *et al.* (1990), estas condições de temperatura e fotoperíodo são ideais à reprodução de *M. rosenbergii*.

Devido a importância do sedimento na moldagem da massa ovígera e aderência dos ovos nos crustáceos pleociematos (WILLIAMSON, 1904 *apud* BROEKHUYSEN, 1936; PINHEIRO *et al.*, 1994), cada caixa recebeu uma camada de areia grossa, previamente lavada e fervida. Para prevenir o canibalismo durante a fase de muda, as caixas foram supridas com canos de PVC de 20 cm x 4" \varnothing e substratos flutuantes confeccionados em tela plástica, os quais funcionaram como abrigos, permitindo aos animais condições de refúgio.

Os tanques experimentais foram providos com água oriunda de viveiros externos, empregados na engorda de *M. rosenbergii*. A qualidade da água foi monitorada pela mensuração diária da temperatura e análises semanais do pH, amônio, nitrito e alcalinidade. A temperatura foi registrada por um termômetro comum com coluna de mercúrio e o pH utilizando-se um peagômetro com precisão de 0,01 unidades.

Os teores de amônio e nitrito na água foram analisados, respectivamente, pelos métodos de SOLORZANO e BENSCHNEIDER & ROBINSON, ambos descritos em BAPTISTA *et al.* (1987). Na técnica de SOLORZANO, a amônia não ionizada (NH_3) é convertida em amônio (NH_4^+), correspondendo ao nitrogênio amoniacal total. Tais análises foram realizadas com um espectrofotômetro, com as concentrações apresentadas em função do íon nitrogênio ($\text{NH}_4\text{-N}$ e $\text{NO}_2\text{-N}$) e

expressas em $\mu\text{g/L}$. A alcalinidade foi determinada pelo método descrito por GOLTERMAN *et al.* (1978), resultando valores em mg/L .

O método de ablação do pedúnculo ocular foi adaptado daquele descrito para camarões marinhos por PRIMAVERA (1985). As fêmeas foram retiradas da água e levemente enxugadas com papel toalha, tendo o(s) pedúnculo(s) ocular(es) extraídos com bisturi, rente à base. Posteriormente, cada fêmea teve o local da incisão cauterizado “à quente” com um cauterizador elétrico, recebendo também marcação superficial em locais preestabelecidos no tergito de certos somitos abdominais. Nos locais cauterizados foi ministrada uma mistura de pomadas antibióticas (Furacin[®] e Terramicina[®]), na proporção 1:1. A Prancha 1 apresenta todo o procedimento mencionado anteriormente, realizado em tempo hábil para minimizar o estresse dos animais.

Os exemplares foram alimentados com lula e filé de peixe fornecidos diariamente, de forma alternada, na quantidade de 5% da biomassa total.

Durante as quatorze semanas que duraram cada um dos experimentos, os animais de cada tratamento foram observados diariamente no período vespertino (15:00 h), registrando-se a existência de ecdise, presença de espermátóforo (evidência de cópula), desova (ovos aderidos às cerdas pleopodiais), coloração da epiderme e comportamento alimentar. O estado de maturação gonadal de cada fêmea foi observado semanalmente, sendo classificado em quatro estágios de acordo com RAO (1991) (Quadro 1). A dinâmica da maturação gonadal foi analisada para cada tratamento durante as 14 semanas que duraram os dois

experimentos realizados. Visando facilitar as análises, os estágios gonadais foram agrupados em: Imaturo (estágio I), em maturação (estágios II e III) e maturo (estágio IV).

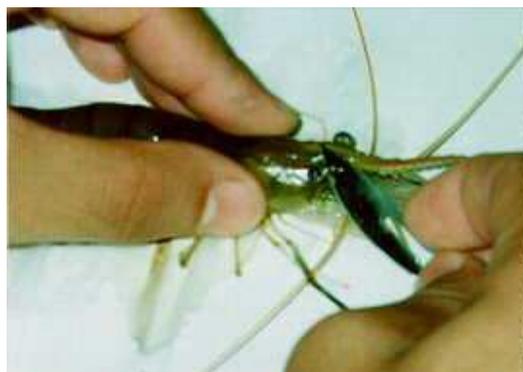
Os valores médios de obtenção da primeira desova e período entre desovas das fêmeas foram comparados entre os tratamentos de cada experimento realizado, bem como entre eles, por uma ANAVA (delineamento inteiramente casualizado com número distinto de repetições = número de indivíduos). O teste de Tukey foi empregado para discriminar o contraste estatístico, sob o nível de significância de 1%.

PRANCHA 1

Seqüência do procedimento de ablação do pedúnculo ocular do camarão *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879), adaptado do método descrito por PRIMAVERA (1985).



A) Material utilizado na ablação do pedúnculo ocular.



B) Retirada do pedúnculo ocular com o uso de um bisturi.



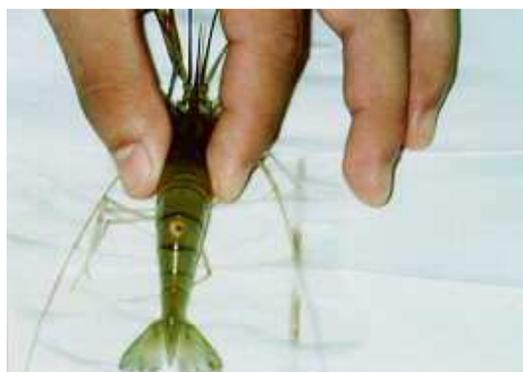
C) Cauterização com o uso de um cauterizador elétrico.



D) Aplicação de pomada antibiótica com o uso de cotonetes.

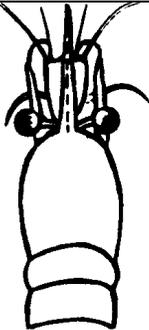
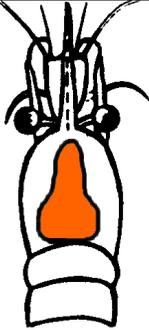


E) Marcação do tergito abdominal com cauterizador elétrico.



F) Fêmea marcada para posterior identificação.

QUADRO 1 - Caracterização dos estágios gonadais de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879), de acordo com RAO (1991).

	<p style="text-align: center;">ESTÁGIO I: IMATURO</p> <p>O ovário é delgado, transparente, confinado à região mais posterior da cavidade cefalotorácica, sendo de difícil visualização à olho nu.</p>
	<p style="text-align: center;">ESTÁGIO II: INÍCIO DA MATURAÇÃO</p> <p>O ovário ocupa de um quarto à metade do comprimento da cavidade cefalotorácica, apresentando coloração amarela e aspecto translúcido.</p>
	<p style="text-align: center;">ESTÁGIO III: EM MATURAÇÃO</p> <p>O ovário ocupa mais de três quartos do comprimento da cavidade cefalotorácica, possuindo uma coloração alaranjada, com certa opacidade.</p>
	<p style="text-align: center;">ESTÁGIO IV: MADURO</p> <p>O ovário ocupa toda a cavidade cefalotorácica e apresenta uma coloração laranja escura.</p>

4. RESULTADOS

4.1. Parâmetros abióticos da água

Os parâmetros abióticos da água de cada tratamento estão representados graficamente nas Pranchas 2 a 5, enquanto seus valores médios e respectivos desvios padrão durante o período de estudos, encontram-se na Tabela I (1^o experimento) e Tabela II (2^o experimento).

A temperatura e pH foram os parâmetros que mostraram menor variação no decorrer das quatorze semanas, contrastando com os teores de amônio e nitrito, que mostraram grande oscilação durante os dois experimentos. Comparando-se as médias de alcalinidade da água de um mesmo tratamento, entre os dois experimentos realizados, percebe-se uma redução de aproximadamente 30% nos valores obtidos para aqueles realizados com os animais de sete meses de idade, em relação aos de 4 meses.

4.2. Pigmentação epidérmica

O padrão normal de coloração de *M. rosenbergii*, para o ambiente proporcionado pelo presente experimento, pode ser verificado para o grupo controle (Prancha 6, Fig. 1-A e 1-B).

Após a ablação do pedúnculo ocular os exemplares mostraram modificações no padrão cromático, principalmente nos urópodos e alguns segmentos dos quelípodos (mero, carpo e própodo).

Os animais ablados unilateralmente apresentaram mudanças na capacidade de adaptação à coloração do ambiente (Prancha 6, Fig. 2-A e 2-B), com coloração mais escura que os exemplares do grupo controle, permanecendo com este padrão inalterado mesmo após a ecdise.

Nos espécimes submetidos à ablação bilateral verificou-se a dispersão do pigmento vermelho logo no dia seguinte ao processo cirúrgico, conferindo-lhes uma coloração avermelhada. Este padrão permaneceu inalterado por algumas semanas, tornando-se mais claro ao final do experimento (Prancha 6 Fig. 3-A e 3-B).

4.3. Atividade alimentar

Quanto ao comportamento alimentar, observou-se três padrões distintos. Os animais do grupo controle exploravam pouco a área do tanque, percebendo com facilidade a presença do alimento, que era rapidamente apreendido pelos quelípodos. A presença de restos de alimento no fundo do tanque foi freqüente.

As fêmeas submetidas à ablação unilateral utilizavam as tocas com menor frequência que as do grupo controle, ficando mais expostas sobre o sedimento arenoso. Sua percepção do alimento e a exploração da área do tanque durante a alimentação foram também maximizadas em relação àquelas não submetidos ao processo cirúrgico. Dificilmente constatou-se a presença de restos de alimento no fundo do tanque deste tratamento.

Os animais biablados usavam pouco os refúgios (“tocas”) disponíveis, mantendo-se imóveis sobre o sedimento arenoso a maior parte do tempo. No entanto, percebiam prontamente a presença do alimento, passando a buscá-lo por todo o tanque, chegando até mesmo a buscá-lo na superfície. Todas as fêmeas deste tratamento apresentavam ingestão contínua de alimento, até que o limite físico de seus estômagos fosse atingido.

4.4. Reprodução

Os resultados reprodutivos, assim como os dados de sobrevivência no primeiro e segundo experimento, podem ser observados nas Tabelas III e IV, respectivamente.

Quando comparada ao grupo controle, a técnica de ablação unilateral gerou uma redução de 42,5% no tempo de obtenção da primeira desova para os animais com 4 meses de idade, e 23,9% para os de sete meses. No primeiro caso as médias mostram contraste estatístico ($p < 0,01$), o que não ocorreu no segundo experimento ($p > 0,01$). Neste sentido, apesar da ablação bilateral ter

promovido reduções expressivas em relação ao grupo controle, 32,3% (1^o experimento) e 53,3% (2^o experimento), os valores médios obtidos para o primeiro experimento não foram estatisticamente distintos ($p > 0,01$).

Cerca de seis semanas após o processo cirúrgico, as fêmeas uniabladas do segundo experimento foram acometidas por uma contaminação fúngica, que envolveu a massa ovígera e necessitou de um tratamento antibiótico por dez dias. Mesmo assim, este grupo foi caracterizado pelo maior número de desovas consecutivas, favorecendo este processo cirúrgico frente aos demais tratamentos. No primeiro experimento este fato não pode ser evidenciado devido a inexistência de desovas consecutivas nos grupos controle e biablado.

Na Prancha 7-A pode-se verificar que as fêmeas com 4 meses de idade, submetidas à ablação unilateral, mostraram uma antecipação da primeira desova perante os demais tratamentos realizados ($p < 0,01$), os quais não apresentaram contraste estatístico entre si ($p > 0,01$). Por outro lado, as médias obtidas para o intervalo entre desovas, para fêmeas uniabladas de diferentes idades, não mostraram contraste estatístico ($p > 0,01$), sendo, no entanto, menores do que a obtida para as fêmeas de 7 meses do grupo controle ($p < 0,01$) (Prancha 7-B).

Na prancha 8 pode-se observar a dinâmica gonadal das fêmeas de cada tratamento nos dois experimentos realizados. As fêmeas submetidas à ablação unilateral mostraram quatro incidências de maturação, correspondendo ao dobro do registrado para o grupo controle do primeiro experimento, apesar de existir um terceiro ciclo de maturação gonadal sendo iniciado nas fêmeas com sete meses (2^o experimento). Nos dois tratamentos de ablação bilateral verificou-se apenas

um ciclo de maturação gonadal, devido a mortalidade dos exemplares após 42 dias do processo cirúrgico (26 ± 16 dias).

TABELA I – Valores médios e desvio padrão dos parâmetros abióticos da água em cada tratamento, registrados durante o primeiro experimento de ablação ocular de *M. rosenbergii* (De Man, 1879).

Tratamentos	Temperatura (°C)	Alcalinidade (mg/L)	pH	Amônia (µg/L)	Nitrito (µg/L)
Controle	28,0 ± 1,0	67,20 ± 3,40	8,31 ± 0,25	9,5 ± 4,3	28,8 ± 2,8
Unilateral	29,0 ± 1,4	70,20 ± 5,32	8,29 ± 0,16	15,0 ± 11,0	17,4 ± 24,2
Bilateral	28,0 ± 2,0	78,38 ± 3,42	8,40 ± 0,25	10,0 ± 4,3	11,2 ± 2,8

TABELA II – Valores médios e desvio padrão dos parâmetros abióticos da água em cada tratamento, registrados durante o segundo experimento de ablação ocular de *M. rosenbergii* (De Man, 1879).

Tratamentos	Temperatura (°C)	Alcalinidade (mg/L)	pH	Amônia (µg/L)	Nitrito (µg/L)
Controle	28,5 ± 0,7	42,24 ± 10,48	8,07 ± 0,35	14,0 ± 19,4	12,7 ± 20,5
Unilateral	29,0 ± 1,4	46,64 ± 6,47	8,50 ± 0,43	15,0 ± 19,2	9,5 ± 14,9
Bilateral	28,5 ± 0,3	57,64 ± 9,96	7,98 ± 0,34	34,0 ± 21,2	33,0 ± 25,8

TABELA III – Primeiro experimento de ablação. Resultados reprodutivos e taxa de sobrevivência das fêmeas de *M. rosenbergii* (De Man, 1879) com quatro meses de idade ao final do experimento.

Tratamentos	Nº máximo de desovas consecutivas por fêmea	Obtenção da 1ª desova (dias)				Período entre desovas (dias)				Taxa de desova (%)	Taxa de sobrevivência das fêmeas (%)
		N	Mín.	Máx.	$x \pm s$	N	Mín.	Máx.	$x \pm s$		
Controle	1	2	31	34	$32,5 \pm 2,1 b^*$	-	-	-	-	40	40
Unilateral	3	4	12	22	$18,7 \pm 4,6 a$	7	21	34	$28,5 \pm 4,8 a$	80	60
Bilateral	1	2	21	23	$22,0 \pm 1,4 b$	-	-	-	-	40	0

* = Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,01$)

TABELA IV – Segundo experimento de ablação. Resultados reprodutivos e taxa de sobrevivência das fêmeas de *M. rosenbergii* (De Man, 1879) com sete meses de idade ao final do experimento.

Tratamentos	Nº máximo de desovas consecutivas por fêmea	Obtenção da 1ª desova (dias)				Período entre desovas (dias)				Taxa de desova (%)	Taxa de sobrevivência das fêmeas (%)
		N	Mín.	Máx.	$x \pm s$	N	Mín.	Máx.	$x \pm s$		
Controle	2	5	34	37	$36,4 \pm 2,5 b^*$	5	36	38	$37,0 \pm 0,7 b$	100	100
Unilateral	3	4	15	36	$27,7 \pm 9,3 b$	4	22	32	$27,5 \pm 2,6 a$	80	60
Bilateral	2	1	-	-	17 Δ	1	-	-	21 Δ	20	0

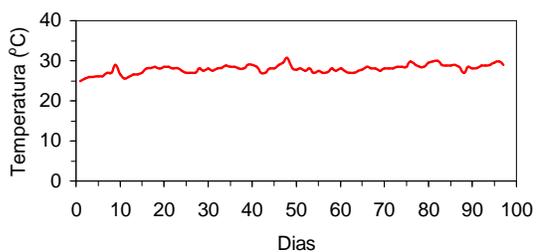
* = Médias seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,01$); Δ = ausência de repetições.

PRANCHA 2

Representação gráfica dos dados de temperatura obtidos nos dois experimentos de ablação ocular de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879).

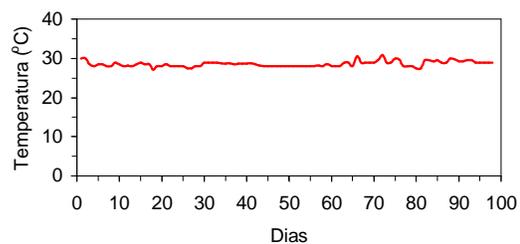
1º Experimento

Controle

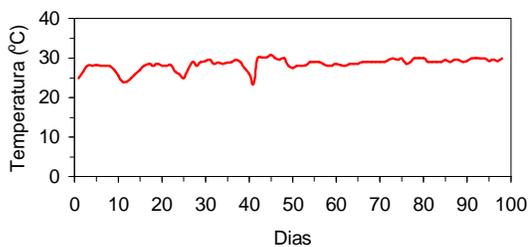


2º Experimento

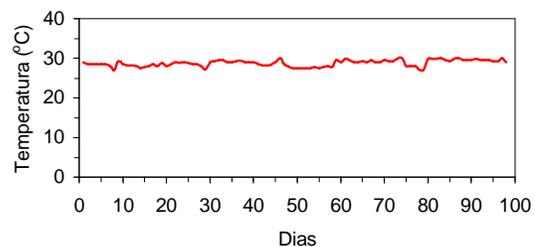
Controle



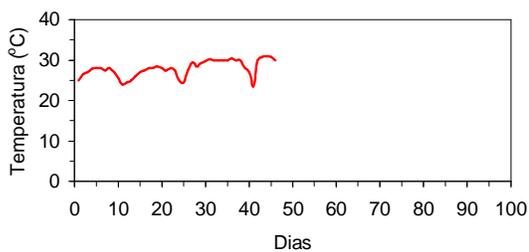
Unilateral



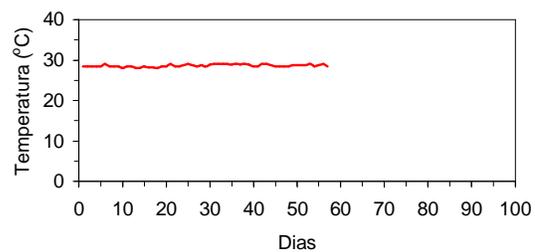
Unilateral



Bilateral



Bilateral

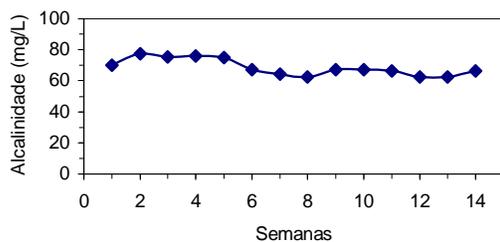


PRANCHA 3

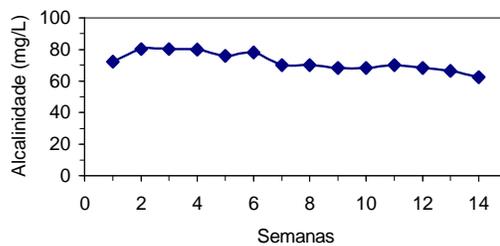
Representação gráfica dos dados de alcalinidade obtidos nos dois experimentos de ablação ocular de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879).

1º Experimento

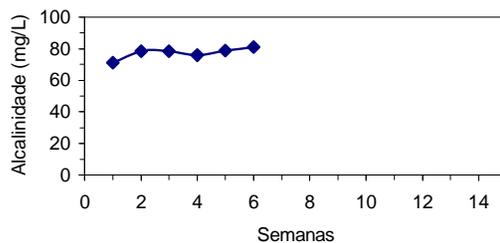
Controle



Unilateral

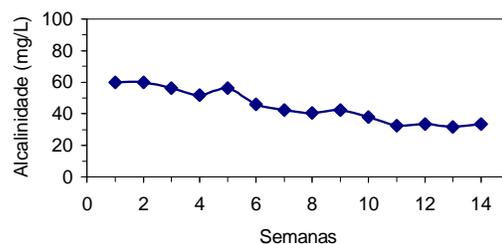


Bilateral

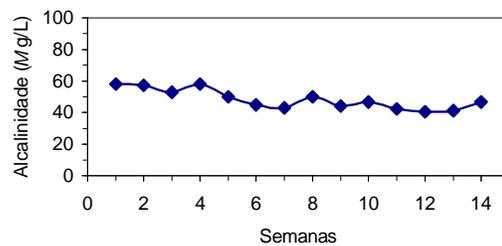


2º Experimento

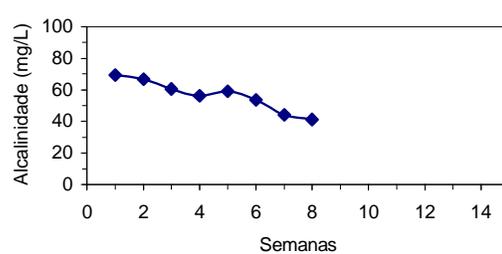
Controle



Unilateral



Bilateral

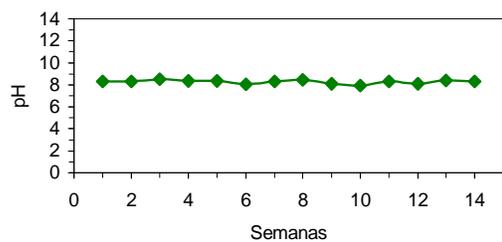


PRANCHA 4

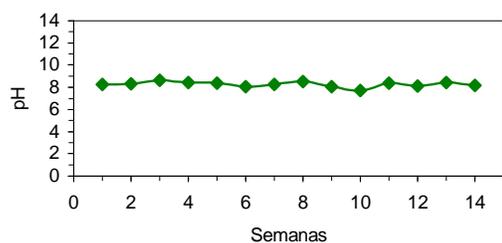
Representação gráfica dos dados de pH obtidos nos dois experimentos de ablação ocular de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879).

1º Experimento

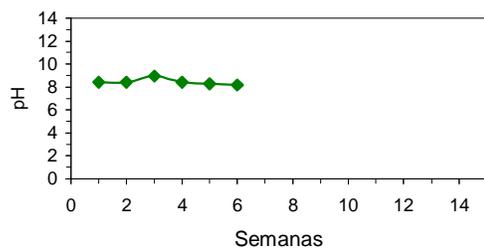
Controle



Unilateral

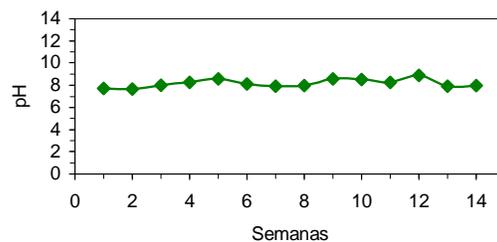


Bilateral

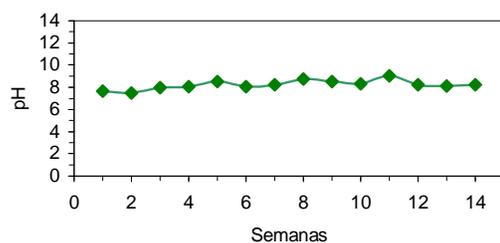


2º Experimento

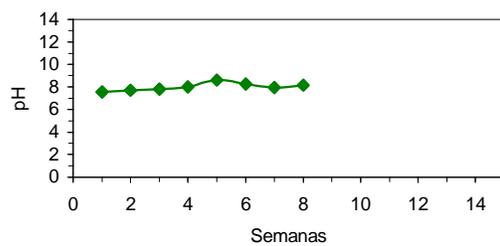
Controle



Unilateral

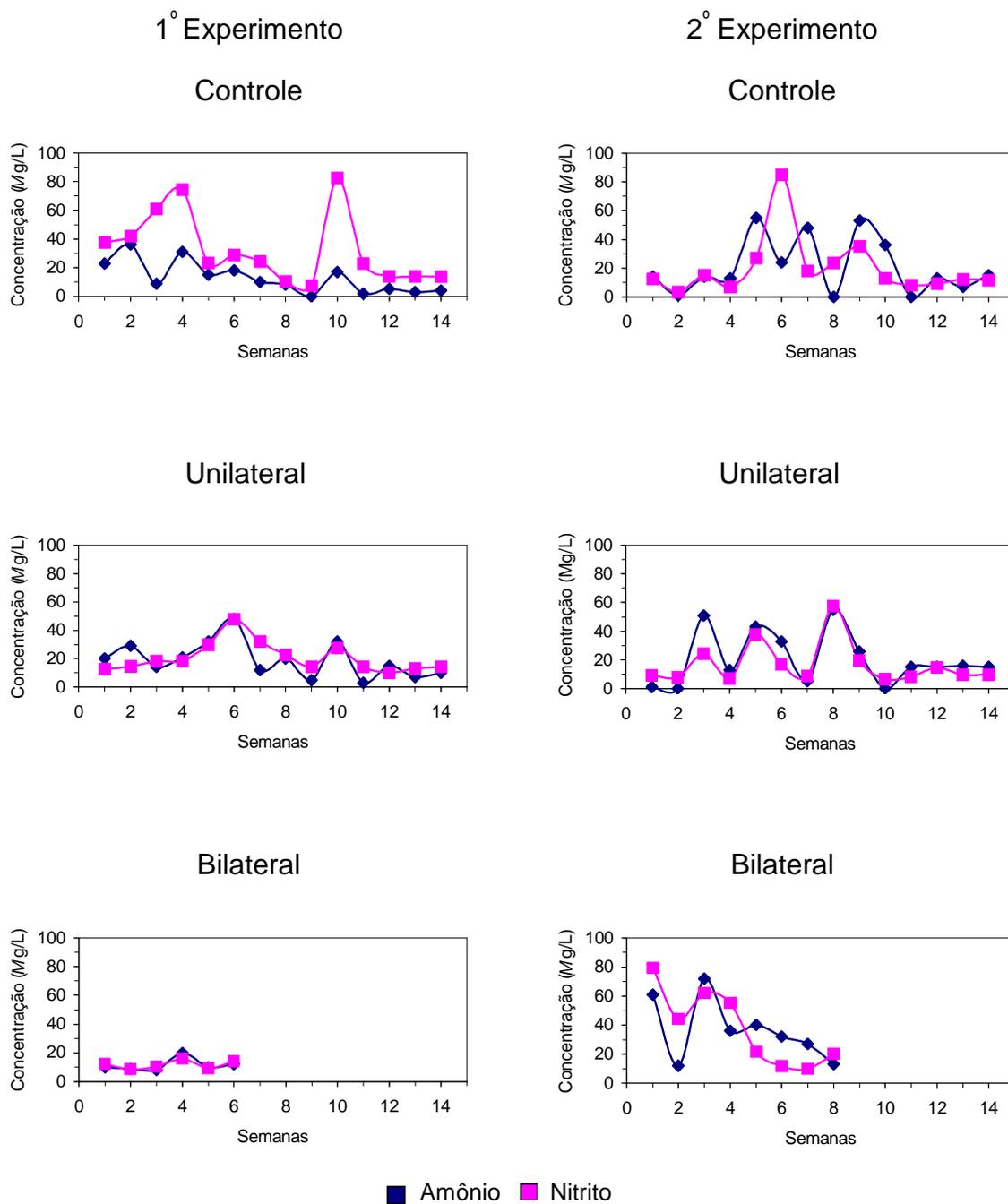


Bilateral



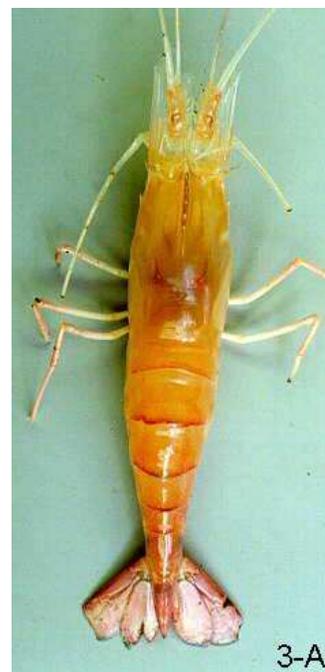
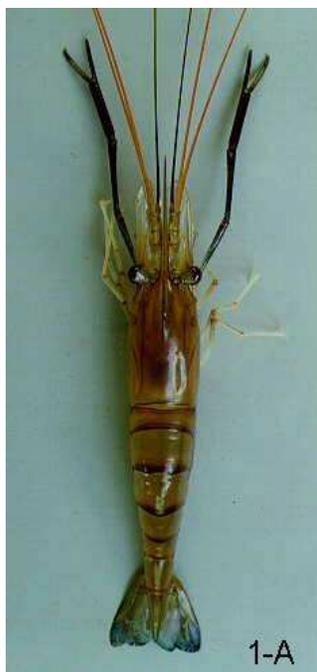
PRANCHA 5

Representação gráfica dos dados de amônio e nitrito obtidos nos dois experimentos de ablação ocular de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879).



PRANCHA 6

Padrões de pigmentação epidérmica de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) no grupo controle e nos tratamentos ablação unilateral e bilateral (A = Vista dorsal dos exemplares; B = Vista dorsal do abdome e leque caudal).



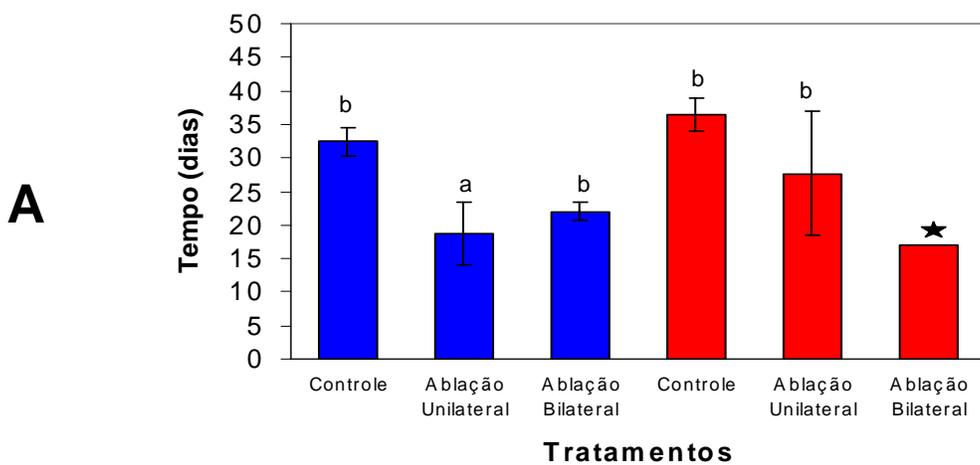
1 - Controle

2 - Ablação Unilateral

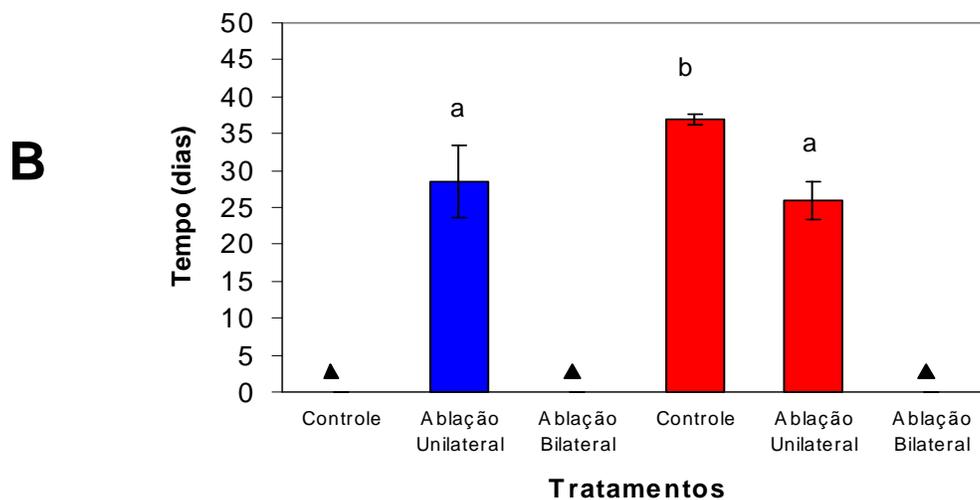
3 - Ablação Bilateral

PRANCHA 7

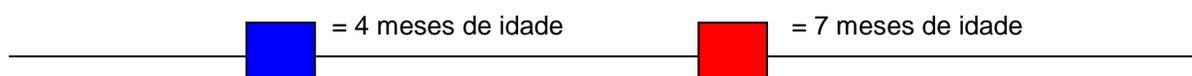
Macrobrachium rosenbergii (De Man, 1879). Ocorrência da primeira desova (A) e intervalo entre desovas (B) das fêmeas submetidas a cada tratamento, nos dois experimentos realizados (Barra = média; linha = desvio padrão; letras associadas às barras = quando similares não mostram contraste estatístico ao nível de significância de 1%).



★ = Ausência de repetições no tratamento

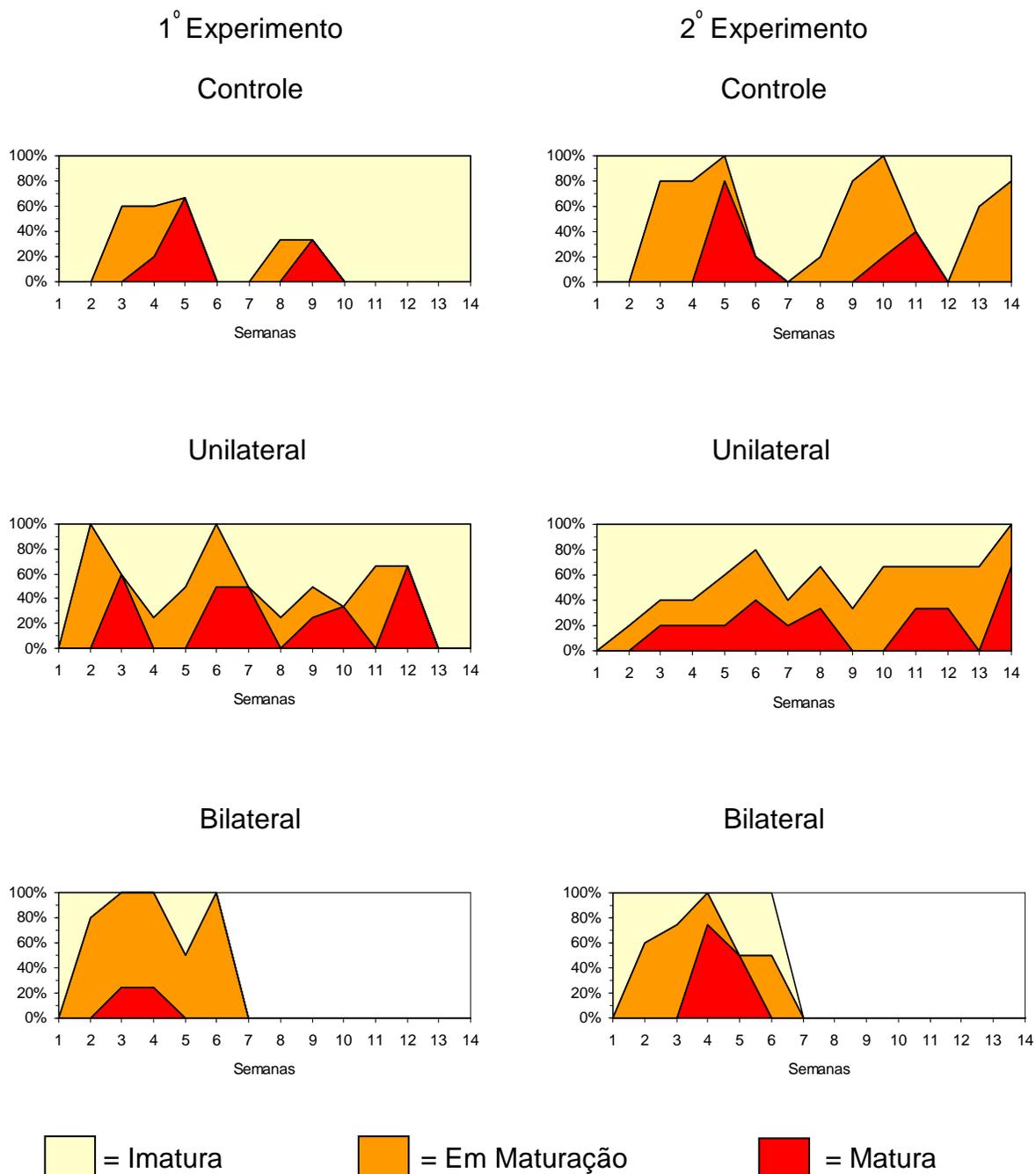


▲ = Ausência de desovas sucessivas



PRANCHA 8

Gráficos de maturação gonadal das fêmeas de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) em cada tratamento, durante os dois experimentos de ablação ocular.



5. DISCUSSÃO

5.1. Parâmetros abióticos da água

Durante todo o experimento os parâmetros abióticos da água permaneceram dentro dos padrões normais previstos para o cultivo de *M. rosenbergii*. A temperatura e pH permaneceram na faixa considerada ideal para o cultivo que, de acordo com VALENTI (1985) e NEW (1995), devem variar entre 28 a 31 °C e 7,0 a 8,5, respectivamente. O mesmo foi constatado para a alcalinidade, amônio e nitrito, cujos níveis não excederam os limites de tolerância da espécie, que são de 180 mg/L, 2.000 µg/L e 500 µg/L, respectivamente (SIPAÚBA-TAVARES, 1994). Dessa forma acredita-se que os parâmetros abióticos da água não interferiram nos resultados obtidos no presente estudo.

Como a origem de água nos dois experimentos foi a mesma, a redução expressiva da alcalinidade nos tratamentos do segundo experimento pode ser decorrente do uso de animais de maior porte que, após a muda, utilizariam maiores reservas de carbonatos para o enrijecimento de seu novo exosqueleto.

5.2. Pigmentação epidérmica

A maioria dos crustáceos decápodos apresenta a habilidade de adaptação à coloração do ambiente em que se encontram (BROWN, 1935; ROBISON & CHARLTON, 1973), tornando difícil a definição de um padrão específico. Apesar de ainda serem capazes de perceber estímulos visuais, os animais com ablação unilateral demonstraram uma incapacidade de adaptação à cor da areia e paredes internas do tanque, apresentando uma tonalidade mais escura que a do grupo controle. Tal fato era esperado em virtude da dispersão dos pigmentos vermelhos e amarelos, como mencionado para outros camarões por RUPERT & BARNES (1996), à exceção do que ocorre com as espécies do gênero *Crangon*. De acordo com BROWN *et al.* (1939), a ablação ocular na maioria das espécies da Família Palaemonidae promove uma dispersão generalizada de pigmentos nos cromatóforos, cessando o fenômeno adaptativo à coloração do fundo, o que foi constatado também no presente estudo.

O padrão de coloração avermelhado, registrado para as fêmeas de *M. rosenbergii* submetidas à ablação bilateral, foi anteriormente constatado por SCHEER & SCHEER (1954) e KNOWLES *et al.* (1955) para o camarão *Palaemon serratus*. Tais autores acreditavam que somente o hormônio dispersor do pigmento vermelho fosse produzido pelos tecidos extra-oculares. No entanto, outras espécies da Família Palaemonidae, como *Palaemonetes vulgaris* e *Palaemon paucidens*, apresentam os hormônios concentrador e dispersor tanto

no pedúnculo ocular, como em tecidos extra-oculares (BROWN *et al.*, 1952; FINGERMAN & COUCH, 1967; AOTO, 1965). Numa reavaliação da resposta dos eritróforos à ablação ocular do camarão *Palaemon serratus*, BELLON-HUMBERT *et al.* (1981) verificaram uma dispersão transitória do pigmento dos eritróforos somente por dois a três dias após a ablação, retornando, logo após, ao padrão normal de coloração da espécie. Tal fato evidencia a presença do hormônio concentrador do pigmento vermelho, também, em tecidos extra-oculares, discordando dos resultados obtidos para *M. rosenbergii* no presente estudo, haja visto que os exemplares biablados permaneceram com a coloração avermelhada durante todo o experimento.

De acordo com RENÉ & NEGRE-SARDARGUES (1991) a remoção do pedúnculo ocular provoca alterações no metabolismo de substâncias carotenóides, envolvidas na expressão da coloração dos crustáceos. Dentre os efeitos provocados pela ablação ocular no ermitão *Clibanarius erythropus*, observou-se uma diminuição dos carotenóides totais, principalmente o β -caroteno e a astaxantina livre, que representam mais de 15% dos pigmentos totais. Para esses autores, a cor avermelhada induzida pela ablação ocular provavelmente seja resultado da oxidação do anidrido, que é a substância responsável pela ligação da proteína ao carotenóide. No decorrer daquele experimento, pôde-se ainda observar a presença de quantidades variáveis de astaxantina livre nos peletes fecais de exemplares ablados, contra apenas traços encontrados para o grupo controle.

5.3. Atividade alimentar

Mudanças na atividade alimentar, com aumento na quantidade de alimento ingerido, foi verificada em espécimes ablatados das lagostas *Panulirus homarus* e *P. ornatus*, respectivamente por VIJAYAKUMARAN & RADHAKRISHNAN (1984) e JUINIO-MEÑEZ & RUINATA (1996). O mesmo foi registrado para os camarões marinhos *Penaeus monodon* por PRIMAVERA (1988) e *P. notalis* por ROSAS *et al.* (1993).

Os dados obtidos no presente estudo corroboram os de PEREZ-CRUZ (1994), que também analisou este aspecto para o camarão de água doce *M. rosenbergii*. De acordo com os autores mencionados anteriormente, a ablação ocular promove uma aceleração metabólica nestes animais, cujo déficit energético é compensado pelo aumento do volume de alimento ingerido. Além disso, existe a possibilidade do camarão *M. rosenbergii* produzir em seu pedúnculo ocular uma substância inibidora da alimentação, assemelhando-se ao descrito por SEARS *et al.* (1991). Segundo esses autores, o caranguejo ocipodídeo *Uca pugilator* apresenta maior sensibilidade quimiorreceptora aos alimentos quando submetidos à ablação bilateral dos pedúnculos oculares, por ocorrer ali a síntese de uma substância peptídica denominada Fator Inibidor da Alimentação (FIA). Os resultados de SEARS *et al.* (1991), mostram que 97% dos caranguejos biablatados exibiram maior sensibilidade à presença do alimento mesmo em baixas concentrações de glicose (0,0625 M), contrastando com os

animais intactos, 67% dos quais apresentaram comportamento alimentar somente em concentração 16 vezes maior (1,000 M). Desta forma, pode-se supor que com a ablação bilateral estariam sendo eliminados os dois centros produtores do FIA, causando alterações no padrão de alimentação e acentuando a percepção destes animais à presença do alimento.

5.4. Reprodução

Os resultados mostram que a técnica de ablação unilateral foi mais eficiente frente ao grupo controle e ablação bilateral, apresentando vantagens como: antecipação da primeira desova, aumento do número de desovas consecutivas, redução no período entre desovas e taxas adequadas de desova e sobrevivência ao final do experimento.

De acordo com PRIMAVERA (1978), a ablação ocular em *P. monodon* é capaz de promover maturação gonadal somente a partir de cinco meses de idade. Isto demonstra a precocidade de *M. rosenbergii*, haja visto que os dados obtidos no presente trabalho revelam resultados satisfatórios em indivíduos com apenas quatro meses. Revendo-se os arquivos do Laboratório de Carcinicultura do CAUNESP, referentes a sete anos de cultivo, verificou-se que a presença de fêmeas ovígeras de *M. rosenbergii* ocorre a partir de 95,00 mm de comprimento total. Estes dados reafirmam a eficiência da técnica de ablação ocular para antecipação da maturação gonadal e desova em fêmeas jovens, uma vez que os exemplares utilizados no primeiro experimento apresentavam cerca de metade

deste tamanho. De acordo com os resultados obtidos para *Cherax quadricarinatus* por SAGI *et al.* (1997), a ablação unilateral antecipou a obtenção da primeira desova em fêmeas com 7 meses de idade, que ainda não haviam atingido a primeira maturação.

Os resultados reprodutivos obtidos pela técnica de ablação do pedúnculo ocular de *M. rosenbergii* corroboram outros realizados anteriormente, que mencionam a ablação unilateral como melhor forma de promover a maturação gonadal através de um desequilíbrio endócrino (PANOUSE, 1943; NURJANA & YANG, 1976; LAURENCE *et al.*, 1980; LUMARE, 1981; BROWDY & SAMOCHA, 1985; PRIMAVERA, 1988 e SAGI *et al.*, 1997).

No presente trabalho, apesar do grupo de ablação bilateral ter apresentado melhores resultados que os do controle, este mostrou-se inconveniente devido à mortalidade de todas as fêmeas, ocorrida, em média, 26 dias após a cirurgia. Registros de alta mortalidade em camarões marinhos biablados foram feitos anteriormente por SANTIAGO Jr. (1977) para *Penaeus monodon*, e por CHU & CHOW (1992) para *P. chinensis*. Por outro lado, GESTEIRA *et al.* (1989-90) verificou que a ablação bilateral apresentou melhor resposta à maturação gonadal da lagosta *Panulirus laevicauda*, o que pode ser decorrente de uma maior resistência desta espécie ao processo cirúrgico. Tal inferência é corroborada pelos resultados obtidos por JUINIO-MEÑEZ & RUINATA (1996) com a lagosta *Panulirus ornatus* que, à semelhança do que ocorreu com os camarões marinhos,

verificaram uma reduzida taxa de sobrevivência dos exemplares submetidos à ablação bilateral.

Além das altas taxas de mortalidade verificadas para os animais biablados, estes não conseguiram manter a aderência dos ovos nas cerdas pleopodiais, impossibilitando o desenvolvimento embrionário e a obtenção de larvas. Caso semelhante foi descrito por CHOY (1987) para *Penaeus canaliculatus* submetidos à ablação unilateral, denotando a ocorrência de variações interespecíficas resultantes da aplicação desta técnica.

A menor sobrevivência das fêmeas do grupo controle no 1^o experimento, possivelmente foi resultado da agressividade apresentada pelo macho que atacou as fêmeas em muda devido a imprecisão em sua seleção, pois não apresentava todas as características de um macho dominante (BC). Comportamentos agonísticos como este também já foram relatados anteriormente para *M. rosenbergii* por RA'ANAN & SAGI (1985).

6. CONCLUSÕES

Para as condições estabelecidas no presente trabalho, conclui-se que a técnica de ablação do pedúnculo ocular mostrou-se eficiente para a indução do processo de maturação gonadal, antecipação da desova e diminuição do intervalo entre desovas, intensificando o processo reprodutivo das fêmeas de *Macrobrachium rosenbergii*. Esta técnica pode ser aplicada mesmo em animais que ainda não atingiram a maturidade sexual, proporcionando bons resultados. Entre os tratamentos testados a ablação unilateral mostrou-se vantajosa, uma vez que a ablação bilateral provocou alta mortalidade e grandes alterações nos padrões de alimentação e coloração, tornando-se assim inviável para a aqüicultura.

7. RESUMO

Nos crustáceos decápodos, a maturação gonadal pode ser induzida pela ablação do pedúnculo ocular, devido à remoção do órgão-X e glândula do seio, que são responsáveis pela síntese e armazenamento do Hormônio Inibidor gonadal (HIG), respectivamente. Vários autores têm descrito a presença de outras substâncias no pedúnculo ocular como reguladores da alimentação e coloração. Este trabalho visa analisar a eficiência da ablação unilateral e bilateral de fêmeas de *Macrobrachium rosenbergii*, avaliando a obtenção de exemplares ovígeros e desovas consecutivas, além de descrever os efeitos secundários que o processo cirúrgico possa exercer sobre os animais ablados. Dois experimentos foram realizados, utilizando-se fêmeas com quatro meses (1^o. experimento) e, sete meses de idade (2^o. experimento); em ambos os casos as fêmeas encontravam-se no estágio de intermuda. Para cada experimento, estas foram submetidas a três tratamentos: controle, ablação unilateral e ablação bilateral, na proporção de um macho (BC) para cinco fêmeas. Na extirpação do pedúnculo ocular das fêmeas, utilizou-se um bisturi com cauterização tópica “à quente” e

subseqüente aplicação de pomada antibiótica. Os animais foram mantidos em caixas de fibrocimento com filtro biológico, sedimento arenoso e controle da temperatura ($28 \pm 1,05^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo (12L:12E). Procedeu-se a alimentação e observação dos animais diariamente, por um período de quatorze semanas. A observação constou do registro do estágio de desenvolvimento gonadal, ocorrência de ecdise, presença de espermatóforo e desovas nas fêmeas. A técnica de ablação unilateral apresentou-se mais eficiente, quando comparada aos demais tratamentos, principalmente com relação às fêmeas com quatro meses de idade. Tal fato deve-se a antecipação da primeira desova, repetição de desovas, além de propiciar taxas de fêmeas ovígeras e de sobrevivência que favorecem sua aplicabilidade. O desequilíbrio endócrino promovido pela ablação bilateral culminou com a morte de todos os exemplares analisados, além de mudanças no padrão de coloração e atividade alimentar, inviabilizando seu uso em aqüicultura. Tais resultados condizem com os obtidos para outras espécies de camarões peneídeos, apesar da ablação bilateral mostrar-se mais eficaz na lagosta *Panulirus laevicauda*, denotando variações interespecíficas de grande importância em projetos de aqüicultura.

8. SUMMARY

Influence of the eyestalk ablation in the prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae), on reproduction and epidermic pigmentation.

Gonadal maturation can be obtained by eyestalk ablation, due to extirpation of the X-organ and sinus gland which are responsible by the synthesis and the storage of Gonadal Inhibitor Hormone (GIH). Another substances produced by eyestalk can control the food ingestion and the coloration patterns too. This study aims to analyze the efficiency of unilateral and bilateral ablation in *Macrobrachium rosenbergii* females, analysing the ovigerous percentage, consecutive spawns, and secondary effects of the cirurgical process. Two experiments were carried out, using 4-months and 7-months-old females in intermolt stage. Each experiment was comprised by three treatments as follows: control, unilateral ablation, and bilateral ablation, using in each one 1 Bleu Claw

male (BC) to 5 females. To eyestalk ablation were used a bistoury with a topic hot cauterization and application of antibiotic pomades. The animals were maintained in fibercement boxes with biological filter, sand sediment, with constant temperature ($28 \pm 1,05^{\circ}\text{C}$) and photoperiod (12L:12D). Females were feeded and observed once time by day during fourteen weeks. During the observations, it was registred the gonadal development condition, ecdysis occurrence, spermatophore presence, and spawning of each female. Unilateral ablation technique is more efficient when it is compared to others treatments, mainly in relation to fourth months age females. Such point of news is due to the anticipation of the first spawn, repeatability between spawns, beyond to provide expressive rate of ovigerous females and survival, that favoured its applicability. Bilateral eyestalk ablation produced the mortality of all analyzed specimens, interviewing in coloration and food activity patterns. These results corroborate other obtained for penaeid shrimps, despite of bilateral ablation can be used with success in lobster *Panulirus laevicauda*, showing interespecific variations of great importance in aquaculture projects.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIOYODI, K. G., ADIOYODI, R. G. Endocrine control of reproduction in decapod crustacea. Bio. Rev.Cambrided Philos Soc., v. 45, p. 121-165, 1970.

AOTO, T. On the possible participation of the nauplius-eye in chromatophoral regulation in the adult prawn, *Palaemon paucidens*. J. Fac. Sci., Hokkaido Univ. Ser. 6, n 15, p. 652-661, 1965.

BAPTISTA, J.M.R., BAUMGARTON, M.G.Z., NIENCHESKII, L.F.H. Caderno de Análises em Oceanografia Química. Rio Grande do Sul: Furg, 1987.

BELLON-HUMBERT, C. *et al.* Histological and physiological aspects of the medulla externa x-organ, a neurosecretory cell group in the eyestalk of *Palaemon serratus* Pennant (Crustacea, Decapoda, Natantia). Biol. Bull., v. 160, p. 11-30, 1981.

- BROEKHUYSEN, G. J. On development, growth and distribution of *carcinides maens* (L.). Arch. Neerl. Zool., v. 2, p. 257-399, 1936.
- BROWDY, C. L., SAMOCHA, T. M. The effect of eyestalk ablation on spawning, molting and mating of *Penaeus semisulcatus* De Hann. Aquaculture, v. 49, p. 19-29, 1985.
- BROWN JR., F. A. Color changes in *Palaemonetes*. J. Morphol., v. 57, p. 317-333, 1935.
- BROWN JR., F. A. et al. The action of two hormones regulating the red chromatophores of *Palaemonetes*. J. Exp. Zool., v. 120, p. 391-420, 1952.
- BROWN JR, F. A., EDERSTRON, H. E., SCUDAMORE, H. H. Sinus, glandectomy in crustaceans sinus gland. J. Cell. Comp. Physiol., v. 15, p. 103-119, 1939.
- CAMPBELL, G. R. , FIELDER, D. R. Size at sexual maturity and occurrence of ovigerous females in three species of commercially exploited portunid crabs in S.E. Queensland. Proc. R. Soc. Queensl., v, 97, p. 79-87, 1986.
- CHAVES-JUSTO, C., AINDA, K., HANYU, I. Effects of photoperiod and temperature on molting, reproduction and growth of the freshwater prawn

- Macrobrachium rosenbergii*. Nippon Suisan Gakkaishi, v. 52, n. 2, p. 209-217, 1990.
- CHOY, S. C. Growth and reproduction of eyestalk ablated *Penaeus canaliculatus* (Oliver, 1811) (Crustacea: Penaeidae). J. Exp. Biol. Ecol., v. 112, p. 93-107, 1987.
- CHU, K. H., CHOW, W. K. Effects of unilateral versus bilateral eyestalk ablation on molting and growth of the shrimp, *Penaeus chinensis* (Osbeck, 1765) (Decapoda, Penaeidae). Crustaceana, v. 62, n. 3, p. 225-233, 1992.
- DÉMEUSY, N. Observations sur la maturation ovarienne du crabe *Carcinus maenas* L. après ablation des glandes de mue chez les femelles adultes. Premiers résultats. Acad. Sci. Paris, p. 3062-3064, 1962.
- DRACH, P., TCHERNIGOVTZEFF, C. Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux crustacés. Vie et Milieu, Ser.A, v. 18, p. 595-610, 1967.
- FINGERMAN, M., COUCH, E. F. The red pigment-dispersing hormone of the abdominal nerve cord and its contribution to the physiology of the prawn, *Palaemonetes vulgaris*. Rev. Can. Biol., V. 26, P. 109-117, 1967.

GESTEIRA, T. C. V. *et al.* Maturação de fêmeas da lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille) (Crustacea, Palinuridae) em confinamento. I. Influência da ablação do pedúnculo ocular. Arq. Ciên. Mar, v. 28, p. 17-26, 1989-90.

GOLTERMAN, H.L., CLYMO, R. S., OHNSTAD, M. A .M. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. London: Blackweel Sci., 1978. 214p.

JUINIO-MEÑEZ, M. A., RUINATA, J. Survival, growth and food conversion efficiency of *Panulirus ornatus* following eyestalk ablation. Aquaculture, v. 146, p. 225-235, 1996.

KNOWLES, F. G. W., CARLISLE, D. B., DUPONT-RAABE, M. Studies on pigment-activating substances in animals. 1. The separation by paper electrophoresis of chromactivating substances in arthropods. J. Mar. Biol. Assoc. U. K., v. 34, p. 611-635, 1955.

KYOMO, J. Analysis of the relationship between gonads and hepatopancreas in males and females of the crab *Sesarma intermedia*, with reference to resource use and reproduction. Mar. Biol., v.97, p. 87-93, 1988.

LAWRENCE, A. L. *et al.* Maturation and reproduction of *Penaeus setiferus* in captivity. Proc. World Maricult. Soc., v. 1, p. 481-487, 1980.

- LUMARE, F. Artificial reproduction of *Penaeus japonicus* Bate as basis for the mass production of eggs and larvae. J. World Marcult. Soc., v. 12, n.2, p. 335-344, 1981
- MEUSY, J. J., PAYEN, G. G. Female reproduction in Malacostracan Crustacea. Zool. Sci., v. 5, p. 217-265, 1988.
- NEW, M. B. Freshwater prawn culture: a review. Aquaculture, v. 88, p. 99-143, 1990.
- NEW, M. B. Status of freshwater farming : a review. Aquaculture Research, v. 26, p. 1-54, 1995.
- NURJANA, M. L. , YANG, W. T. Induced gonad maturation, spawning and postlarval production of *Penaeus merguensis* (De Man). Bull. Shrimp Cult. Res. Cent., v. 2, n. 3, p. 177-186, 1976.
- PANOUSE, M. J. Influence de l'ablation du péduncule oculaire sur la croissance de l'ovarie chez la crevette *Leander serratus*. C. R. Acad. Sci. Paris, v. 217, p. 533-555, 1943.

- PASTEUR, C. Influence de l'ablation de l'organe X sur le comportement chromatique de *Leander serratus* (Pennant). C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. Paris, v. 246, p. 320-322, 1958.
- PAYEN, G. G. Aspects fondamentaux de l'endocrinologie de la reproduction chez les crustacés marins. Oceanis, v. 6, n. 3, 309-339, 1980-81.
- PEREZ-CRUZ, M. E. Interacion de la ablacion unilateral del pedúnculo ocular y el fotoperiodo sobre el balance energetico en juveniles del malayo *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Crustacea, Palaemonidae). México, 1994. 32p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autonoma de México.
- PINHEIRO, M.A.A., FRANSOZO, A., NEGREIROS-FRANSOZO, M.L. Estimativa da duração larval em função da temperatura para a Família Majidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura). B. Inst. Pesca, v. 21, p.75-81, 1994.
- PINHEIRO, M.A.A., HEBLING, N.J. Biologia de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). In: VALENTI, W.C. (Ed.). Manual técnico sobre cultivo de camarões de água doce. CNPq/IBAMA, (no prelo).

- PRIMAVERA, J. H. Induced maturation and spawning in five-month-old *Penaeus monodon* Fabricius by eyestalk ablation. Aquaculture, v. 13, p. 355-359, 1978.
- PRIMAVERA, J. H. A review of maturation and reproduction in close thelycum penaeids. In: TAKAI, Y, PRIMAVERA, J.H., LLOBRERA, J.A. (Ed.) In: International Conference on Culture of Penaeid Prawns and Shrimps, I, Proceedings...Hoiolo: SAEFDEC aquaculture Departament, 1985. p. 47-67.
- PRIMAVERA, J. H. Maturation, reproduction, and broodstock tecnology. In: PRIMAVERA, J. H. (Ed.). Biology and culture of *Penaeus monodon*. Tigbauan: Aquaculture Department of Southeast Asian Fisheries Development Center; Tigbauan: 1988. 177p.
- RA'ANAN,. Z., SAGI, A. Alternative mating strategies in male morphotypes of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). Biol. Bull., v. 169, p. 592-601, 1985.
- RAO, K. J. Reproductive biology of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) from Lake Kolleru (Andrha Pradesh). Indian J. Anim. Sci., v. 61, n. 7, p. 780-787, 1991.

- RAO, K. R. Pigmentary Effectars. In: BLISS, D. E., MANTEL, L. H. (Ed.). The Biology of Crustacea. Integument, pigments, and hormonal processes. New York: Academic Press, 1985. v.9, p. 395-462.
- RENÉ C., NEGRE-SADARGUES, G. Effect of eyestalk ablation on the metabolism of carotenoid pigments of the hermit crab *Clibanarius erythropus* (1818) (Crustacea, Decapoda, Anomura). Comp. Biochem. Physiol., v. 99 B, n. 1, p.187-192, 1991.
- ROBISON JR, W. G., CHARLTON, J. S. Microtubules, microfilaments and pigment granule movement in the cromatophores of *Palaemonetes vulgaris* (Crustacea). J. Exp. Zool., v. 186, p. 279-304, 1973.
- ROSAS, C. *et al.* The effect of eyestalk ablation on the pink shrimp, *Penaeus notalis*. Comp. Biochem. Physiol., v, 104A, n. 1, p. 183-187, 1993.
- RUPPERT, E. E., BARNES, R. D. Zoologia dos invertebrados. São Paulo: Roca, 1996. 1029 p.
- SAGI, A. *et al.* Reproduction and molt in previously spawned and first-time spawning red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus* females following eyestalk ablation during the winter reproductive-arrest period. Aquaculture, v. 156, p. 101-111, 1997.

- SANDIFER, P. A., SMITH, T. I. J. Freshwater prawns. In: HUNDER, J. V., BROWN. E. E. (Ed.). Crustacean and Mollusk Aquaculture in the United States. New York, 1985. V. 14, p. 63-125.
- SANTIAGO JR, A. C. Successful spawning of cultured *Penaeus monodon* Fabricius after eyestalk ablation. Aquaculture, v. 11, p. 185-196, 1977.
- SCHEER, B. T., SCHEER, M. A. R. The hormonal control of metabolism in crustaceans. VII. Moulting and color change in the prawn, *Leander serratus*. Pubbl. Stn. Zool. Napoli, v. 37, p. 397-418, 1954.
- SEARS, M. A., RITTSCHOF, D., O'BRIEN, T. Eyestalk factor modulation of chemically stimulated feeding in sand fiddler crabs *Uca pugilator* (Bosc, 1802). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., v. 152, p. 1-13, 1991.
- SHIBLEY, G. A. Eyestalk function in chromatophore control in a crab, *Cancer magister*. Physiol. Zool., v. 41, p.268-279, 1968.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Liminologia Aplicada à Aqüicultura. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 72p.

STEELE, V. J., STEELE, B. H., MACPHERSON, B. R. The effect of photoperiod on the reproductive cycle of *Gammarus setosus* Dementieva, 1931. Crustaceana, v. 4, p. 58-63, 1977.

TAN-FERMIN, J. D. Effects of unilateral eyestalk ablation on ovarian histology and oocyte size frequency of wild and pond-reared *Penaeus monodon* (Fabricius) broodstock. Aquaculture, v. 93, p. 77-86, 1991.

VALENTI, W. C. Cultivo de Camarões de Água Doce. São Paulo: Nobel. 1985. 82 p.

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

VALENTI, W. C. Freshwater prawn culture in Brazil. World Aquaculture, v. 24, n. 1, p. 30-34, 1993.

VIJAYAKUMARAN, M., RADHAKRISHNAN, E.V. Effect of eyestalk ablation in the spiny lobster *Panulirus homarus* (Linnaeus): II. On food intake and conversion. Indian J. Fish., v. 31, n. 1, p. 148-155, 1984.

WILLIANSON, H. C. Contributions to the life histories of the edible crab (*Cancer pagurus*) and of other Decapod Crustacea: Impregnation: Spawning: Casting: Distribution: Rate of growth. 22 nd Rep. Fish. Board Scotland, 3, Sci. Invest., p. 100-140, 1904. *Apud* BROEKHUYSEN (1936).