

EFEITO DA TEMPERATURA E DOS ALIMENTOS PROTÉICO E LIPÍDICO NOS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO OVARIANA E ESTÁGIOS DE MUDA DO *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN, 1836)

JOSÉ CARLOS GASTELÚ¹, JAQUELINE OLIVEIRA², LUIS OTAVIO BRITO³, ALFREDO OLIVERA GALVEZ⁴, MARIA GLORIA MOREIRA⁵

1 – Dr. Biologo, pesquisador Larvi Aqüicultura e Projetos Ltda, Barreiras, RN

2 – Dr Aquicultura, pesquisadora Larvi Aqüicultura e Projetos Ltda, Barreiras, RN

3 – Msc Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Extencionista do Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA, Recife, PE - engpescalo@hotmail.com, luis.otavio@ipa.br

4 – Dr. Aquicultura, Professor do Departamento de Pesca e Aqüicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

5 – Dr. Professora do Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

RESUMO

O conhecimento da fisiologia reprodutiva do camarão *Macrobrachium acanthurus* em relação a fatores controlados, como alimentos processados e variações de temperaturas, ajudaria a desenvolver técnicas de cultivo, garantindo sua sobrevivência. Com o objetivo de contribuir para esse conhecimento, fêmeas de *M. acanthurus* foram submetidas ao efeito das temperaturas de 20, 25 e 30°C e de três alimentos (lipídico, protéico e comercial). Em seguida, os efeitos nos níveis de glicose, proteínas totais e lipídios totais na hemolinfa, tanto na maturação ovariana como nos estágios de muda, foram analisados. Os resultados mostraram que, nos estágios de

muda, os níveis dos nutrientes na hemolinfa, em geral, aumentaram conforme os animais chegam ao estágio de muda D, com o aumento da temperatura. Nos estágios de maturação ovariana, os nutrientes na hemolinfa aumentaram conforme se aproximavam ao estágio III. Os níveis de glicose e proteínas totais aumentaram com o incremento da temperatura, enquanto que os níveis de lipídios totais diminuíram a 30°C. Dentre os alimentos, o lipídico induziu ao aumento de glicose e proteínas totais na hemolinfa e os alimentos comercial e protéico induziram ao aumento de lipídios totais.

PALAVRAS-CHAVE: fisiologia; glicose; hemolinfa; lipídios total; proteína total.

EFFECT OF TEMPERATURE AND FOOD PROTEIN AND LIPID IN STAGES OF OVARIAN MATURATION AND STAGES OF MOLTING *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN, 1836)

ABSTRACT

Knowing the reproductive physiology of the prawn *Macrobrachium acanthurus* in relation to controlled factors, such as processed food and temperature variations, would help to develop culture techniques, assuring its survival. Aiming at the finding some data on this subject, females of *M. acanthurus* were submitted to the effect of three temperatures (20, 25 and 30°C) and

three types of food (lipidic, proteic and commercial). Following this procedure, the effects of haemolymph glucose, total protein and total lipid levels on ovarian maturation as well as in the moulting stages were analyzed. Results showed that nutrient levels usually increased as the animals reached D stage and the temperature increased. The nutrient levels also increased

as animals reached stage III of ovarian maturation. Glucose and total protein levels increased with increasing temperature, while total lipid levels diminished at 30°C. Lipid food produced an increase in the haemolymph glucose and total proteins, while lipid and commercial

food produced an increase in total lipids. In spite of that, results showed no significant differences among moulting stages and ovarian maturation, when measured at the same temperature.

KEYWORDS: glucose; haemolymph; physiology; total lipid; total protein.

INTRODUÇÃO

O camarão *Macrobrachium acanthurus* (WEIGMANN, 1836), decápode pertencente à família Palaemonidae, é conhecido como “camarão canela”, “pitu” ou “camarão de água doce”. É uma espécie omnívora encontrada desde Geórgia nos Estados Unidos até o Sudeste do Brasil e Oeste da Índia (ALBERTONI et al., 2003).

O ciclo reprodutivo dos crustáceos está constituído por maturação gonadal, liberação dos gametas, incubação dos ovos e eclosão das larvas (PINHEIRO, 1983). Na produção massiva, as taxas de fecundidade e de fertilidade das espécies cultiváveis tornam-se importantes, visto serem esses fatores determinantes para o cultivo (AQUACOP, 1986).

Quanto à maturação gonadal, há fatores exógenos e endógenos que interferem na fisiologia dos crustáceos. Dentre os exógenos, frequentemente citados, estão o controle da estabilidade da qualidade química da água (WILDER et al., 2009), como pH e oxigênio dissolvido (CHENG et al., 2003), fotoperíodo, qualidade e intensidade de luz (ARAÚJO & VALENTI, 2011), temperatura da água (GARCIA-GUERRERO, 2010), salinidade (HUONG et al., 2010), ablação do pedúnculo ocular (CUNHA & OSHITO, 2010) e alimentação (SAMUEL et al., 1999); entre os fatores endógenos estão o estágio de desenvolvimento (CHAVEZ & MAGALHÃES, 1993), estágio de muda (LOBÃO et al., 1996), energia e as reservas de nutrientes necessárias para a reprodução (SHANJU & GERALDINE, 2011). Tais fatores levam a mudanças fisiológicas nos decápodos, induzindo modificações metabólicas e hormonais.

O aumento da temperatura estimula o rápido desenvolvimento dos ovos, causando efeito direto nos processos fisiológicos e bioquímicos (GARCIA-GUERRERO, 2003). Por causa da temperatura o tempo requerido para o desenvolvimento dos ovos aumenta ou reduz (MANUSH et al., 2006). De acordo com D'ABRAMO et al. (2003), temperaturas entre 27 a 31°C, e TIDWELL et al. (2005), de 27 a 32°C favorecem a maturação ovariana e a desova do *M. rosenbergii*.

De acordo com WOUTERS et al. (2001), é

necessário o armazenamento suficiente de nutrientes, para o início da reprodução de camarões, e dietas ricas em lipídios são importantes para a maturação gonadal. O incremento de lipídios nas reservas do hepatopâncreas, segundo GONZALES-BARO & POLLERO (1988), poderia indicar a qualidade do alimento ingerido. Os lipídios e as proteínas são sintetizados e mobilizados para o desenvolvimento dos ovários; já o glicogênio, presente no hepatopâncreas, diminui no início da maturação ovariana, sendo usado para a síntese de lipídios e ácidos nucleicos (ADIYODI, 1985). Segundo NEWMAN et al. (1982), estudos realizados com *M. rosenbergii* evidenciaram que o maior consumo de alimentos ocorre a uma temperatura de 28 a 33,7°C e uma maior eficiência de assimilação de lipídios e carboidratos dá-se entre 25 a 31,9°C.

Com o presente estudo, objetivou-se determinar o efeito dos alimentos protéicos, lipídicos e da temperatura nos estádios de maturação ovariana e estágios de muda.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Centro de Biologia Marinha (CEBIMar) da Universidade de São Paulo (USP) e no laboratório de Morfologia da Universidade Federal de Santa Catarina, no Município de Florianópolis – Brasil.

Para este experimento foram utilizados tanques de 250 litros de volume total, pintados internamente com tinta epóxica de cor preta. Em todos os tanques foram colocadas uma entrada de água doce e outra de ar. Os tanques estavam ligados a um biofiltro, constituindo um sistema fechado contínuo. Foram utilizados 12 tanques por temperatura (20, 25 e 30°C), com nove camarões por unidade experimental para os três alimentos (protéico, lipídico e comercial).

As fêmeas íntegras de *M. acanthurus* foram coletadas aleatoriamente na região de São Sebastião, litoral norte do Estado de São Paulo (aproximadamente 23° 49'S; 45° 27' W), no riacho Pitangueiras, que tem sua desembocadura no canal de São Sebastião.

O experimento manteve um fotoperíodo aproximado de 12 horas de luz natural indireta e

artificial direta e 12 horas de escuro, segundo o indicado para a maturação ovariana (CHAVEZ et al., 1991).

Para os experimentos foram utilizados três alimentos, sendo um alimento protéico com 35,65 % de proteína bruta e 12,1 % de lipídios totais; outro alimento lipídico com 16,02 % de lipídios e 25,95 % de proteína bruta totais; e um terceiro alimento, a ração comercial, caracterizada por apresentar 30% de proteína bruta e 9 % de lipídios totais (Tabela 1).

Os alimentos lipídico e protéico foram formulados seguindo as características determinadas para dietas de camarões de água doce do gênero

Macrobrachium rosenbergii (NEW, 2002; MITRA & MUKHOPADHYAY, 2005). O alimento comercial utilizado para camarão de água doce foi uma ração bastante utilizada nas fazendas de cultivo do camarão *M. rosenbergii*.

Os efeitos dos alimentos protéico, lipídico e comercial foram estudados, ao mesmo tempo, os camarões foram submetidos a três temperaturas, 20, 25 e 30°C, observando-se os estádios de maturação ovariana e os estágios de muda. Os efeitos dos alimentos foram analisados segundo os níveis de proteínas totais, lipídios totais e glicose na hemolinfa.

Tabela 1 - Composição nutricional dos alimentos testados

Nutrientes %	Comercial	Alimento lipídico	Alimento protéico
Proteína bruta	Mínimo 30,0	25,95	35,65
Lipídios totais	Mínimo 9,0	16,02	12,1
Fibra	Máximo 5,0	3,84	3,8
Cinzas	Máximo 16,0	4,08	5,68
*Carboidratos	40,0	48,6	41,54
Energia bruta	3774,08	4187,33	3951,25

*Carboidratos calculados por diferença.

O alimento lipídico foi composto de 14% de farinha de peixe, 13% de farelo de soja, 30% de farinha de arroz, 27% de farelo de aveia, 1% de farinha de glúten, 9% de gema de ovo, 5% de óleo de fígado de bacalhau e 1% de premix, enquanto o alimento protéico foi composto de 25% farinha de peixe, 18% de farelo de soja, 23% de farinha de arroz, 23% de farelo de aveia, 1% de farinha de glúten, 9% de gema de ovo e 1% de premix.

Os nutrientes analisados na hemolinfa foram proteínas totais, lipídios totais e glicose. As coletas de hemolinfa, dissecação para coleta dos ovários e a observação para definir os estágios de muda foram realizadas a partir do 30^o dia após o início da alimentação.

As análises de proteínas totais, lipídios totais e glicose foram feitas, respectivamente, segundo os métodos do biureto, da sulfofosovanilina e da glicose oxidase. Nesses métodos colorimétricos utilizaram-se kits da marca Doles® reagentes, com leitura feita em espectrofotômetro (Coleman 295®) a 550, 530 e 510 nm respectivamente.

Os valores obtidos em absorvância foram convertidos à concentração mediante a relação da absorvância obtida sobre a absorvância do padrão utilizado, multiplicado pela concentração do padrão. Essas reações coradas seguem a lei de Beer, sendo portanto a relação absorvância–concentração do tipo linear. A glicose, as proteínas totais e os lipídios totais foram expressos em mg/100 mL, g/100 mL e mg/100 mL de hemolinfa, respectivamente.

Após coletada a hemolinfa, os camarões foram sacrificados por imersão em água gelada (4°C)

aproximadamente, por 3 minutos. Em seguida foram secos com papel absorvente, pesados e, então, a análise dos ovários e dos estágios de muda foi realizada.

As fêmeas foram dissecadas no cefalotórax na região dorsal com ajuda de uma tesoura de ponta fina e pinça, abrindo-se um retângulo na carapaça. O mesmo foi feito no primeiro segmento abdominal, permitindo observar claramente todo o comprimento do ovário, o qual foi retirado cuidadosamente.

Para a observação dos estádios de maturação ovariana, de acordo com CARVALHO & PEREIRA (1981) e PAULRAJ et al. (2008), foram realizadas técnicas histológicas, utilizando-se o fixador de Davidson onde os ovários íntegros ficaram entre 30 e 48 horas. Em seguida, o material foi incluído em blocos de parafina, cortados em micrótomo a uma espessura de 6 µm e corados com o corante de Gomori. Os estágios de muda foram identificados segundo HAYD et al. (2008), pela visualização das bordas e dos urópodos em microscópio.

Previamente, nos experimentos constatou-se a normalidade dos dados pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov (ZAR, 1984), permitindo o

uso da estatística paramétrica. Quando se encontraram diferenças estatísticas significativas na análise de variância, aplicou-se o teste de contraste de médias Student-Newman-Keuls (SNK) com nível de significância de 95 % a fim de identificar as diferenças.

As análises estatísticas foram realizadas com ajuda dos programas estatísticos Systat 5.0 para Windows e Statgraf 7.0.

RESULTADOS

Nas análises dos estágios de muda, no momento da coleta dos dados, não se observou o estágio "B" em nenhuma das fêmeas. Nas análises dos estádios de maturação ovariana, as amostras com estágio IV (pós-desova) foram encontradas apenas em alguns exemplares, com pouca frequência,

impossibilitando as análises estatísticas, sendo necessária a exclusão desses dados dos experimentos.

As observações das cerdas e bordas do endopódito do urópodo permitiram determinar os estágios de muda. Nessas notou-se que, em geral, são vistos dois ou três estágios diferentes num mesmo animal, mas para efeito de determinação prevalece aquele estágio que se encontra em maior proporção.

As tentativas para determinar os estádios de maturação dos ovários por meio de sua observação externa não foram conclusivas, obtendo-se um erro de 40 % quando comparado à identificação histológica. Os métodos de análise de proteínas totais, lipídios totais e glicose na hemolinfa mostraram-se adequados e de fácil manejo, permitindo visualizar as reações coradas.

Tabela 2: Efeito significativo das temperaturas, alimentos, estádios de maturação ovariana e estágios de muda nos níveis de glicose (mg/100 mL) na hemolinfa das fêmeas de *M. acanthurus*

Tratamentos	ANOVA (p)	Glicose SNK (p<0,05)		
Maturação:				
Temperatura x alimentos	0,0340	20 °C/ Alim. lipídico		
Temperatura x maturação	0,0406	20 °C/ Estádio II		
Alimentos x maturação	0,0266	Alim. lipídico/ Estádio III		
Muda:				
Estágios de muda	0,0003	A	14,12	a
		D	17,21	b
		C	18,09	b
Temperatura x alimentos	0,0171	20 °C/ Alim. lipídico		
Temperatura x muda	0,0028	25 °C/Estádio C		
Alimentos x muda	0,0131	Alim. lipídico/ D		
		Alim. Comer./ C		

Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de separação de médias (SNK, p<0,05).

Em termos gerais, houve diferenças significativas entre os níveis de nutrientes analisados na hemolinfa (p<0,05) variando, em alguns casos, com os diferentes estádios de maturação e estágios de muda por efeito da temperatura ou do alimento. Por meio da regressão múltipla, foi possível visualizar o efeito combinado das diferentes temperaturas e alimentos nos níveis de nutrientes dos estágios de muda e dos estádios de maturação ovariana na hemolinfa, observando-se certa semelhança entre eles.

Os níveis de glicose na hemolinfa, quando analisados de forma geral, apresentaram efeito

significativo pelos estágios de muda, estágio de maturação, temperatura e a interação dos tratamentos (Tabela 2). Esses níveis foram maiores nos estágios de muda "C" e "D" e nos estádios de maturação II e III (SNK, p<0,05). Observou-se que nessas temperaturas (20, 25 e 30 °C) a interação dos alimentos com os estágios de muda e estádios de maturação ovariana afeta também os níveis de glicose na hemolinfa. Na temperatura de 20°C, os níveis de glicose sanguínea foram diferentes estatisticamente por efeito dos alimentos, aumentando quando os animais receberam os alimentos lipídico e protéico (Tabela 3).

Tabela 3: Efeito significativo dos alimentos e estágios de muda e estádios de maturação ovariana nos níveis de glicose (mg/100 mL) na hemolinfa das fêmeas de *M. acanthurus*, nas diferentes temperaturas estudadas

Temp.	Tratamentos	p		Glicose	SNK (p<0,05)
20° C	Alimentos	0,0156	Comercial	13,72	a
			Protéico	17,42	b
			Lipídico	19,51	b
25° C	Estágios de muda	0,0003	A	13,13	a
			D	17,33	b
			C	22,16	c
	Alimento x muda	0,0048	Alim. comercial/Estágio C		
30° C	Estágios de muda	0,0009	A	12,16	a
			D	17,38	b
			C	17,74	b
	Alimento x muda	0,0054	Alim. lipídico/Estágio D.		
20° C	Alimentos	0,0325	Comercial	14,48	a
			Protéico	17,44	a b
			Lipídico	19,49	b
25° C	Estádios de maturação	0,0468	I	15,25	a
			III	17,83	a b
			II	21,13	b
	Alimento x maturação	0,0204	Alim. comercial/Estádio II		
30° C	Estádios de maturação	0,0183	I	12,93	a
			II	16,40	b
			III	17,45	b
	Alimento x maturação	0,0463	Alim. lipídico/Estádio III		

Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de separação de médias (SNK, p<0,05).

Tabela 4: Efeito significativo das temperaturas, alimentos, estádios de maturação ovariana e estágios de muda nos níveis de proteínas totais (g/100 mL) na hemolinfa das fêmeas de *M. acanthurus*

Tratamentos	ANOVA (p)		Proteínas totais	SNK (p<0,05)
Maturação:				
Estádios de maturação	0,0000	I	9,98	a
		II	12,20	b
		III	12,60	b
Alimentos x maturação	0,0062	Alim. lipídico./D Alim. comercial/D		
Muda:				
Estágios de muda	0,0000	A	9,58	a
		C	10,82	b
		D	12,37	c
Temperaturas	0,0056	20° C	10,23	a
		25° C	10,84	a
		30° C	11,11	b
	0,0059	Alim. comercial/II Alim. lipídico/III		

Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de separação de médias (SNK, p<0,05).

No que diz respeito aos níveis de proteínas totais na hemolinfa, uma análise geral dos efeitos de todos os tratamentos (temperaturas, alimentos, estágios de muda, estádios de maturação ovariana e as interações destes) permite verificar que tanto os estágios de muda quanto os estádios de maturação influenciaram significativamente nos níveis deste nutriente. A temperatura tem efeito significativo nas

proteínas totais quando relacionadas aos estágios de muda ($p < 0,05$). O estágio de muda “D”, a temperatura de 30°C e os estádios de maturação II e III promoveram os maiores níveis de proteínas totais (SNK, $p < 0,05$).

Observou-se também que as interações dos alimentos com os estágios de muda e com os estádios de maturação apresentaram efeito significativo nos níveis de proteínas totais na hemolinfa (Tabela 4).

Os níveis de proteínas sanguínea, na temperatura de 20°C, mostraram que os alimentos, os diferentes estágios de muda, os estádios de maturação ovariana e a interação dos estágios de muda com os alimentos induzem a um aumento das

proteínas totais ($p < 0,05$), sendo os maiores níveis um efeito do alimento lipídico, do estágio “D” e dos estádios II e III. Os menores níveis foram encontrados por efeito do estágio de muda “A” (SNK, $p < 0,05$).

Na temperatura de 25°C, os níveis de proteínas totais foram afetados pelos estágios de muda e os estádios de maturação ovariana ($p < 0,05$), observando-se os maiores níveis no estágio “D” e nos estágios III e II (SNK, $p < 0,05$).

Em relação à temperatura de 30°C, os níveis de proteínas totais não apresentaram efeito significativo para nenhum dos tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5: Efeito significativo dos alimentos, estágios de muda e estádios de maturação nos níveis de proteínas totais (g/100 mL) na hemolinfa das fêmeas de *M. acanthurus*, testadas nas diferentes temperaturas

Temp.	Tratamentos	ANOVA (p)	Proteínas totais	SNK ($p < 0,05$)
20 °C	Estágios de muda	0,0000	A	8,00 a
			C	10,25 b
			D	12,43 c
	Alimentos	0,0077	Comercial	9,06 a
			Protéico	9,92 a
			Lipídico	11,70 b
Alimentos x muda	0,0107	Alim. lipídico/Estágio D		
25 °C	Estágios de muda	0,0006	A	9,76 a
			C	10,44 a
			D	12,32 b
30 °C		ns		
20 °C	Estádios de maturação	0,0299	I	9,42 a
			II	11,75 b
			III	12,23 b
	Alimentos	0,0287	Comercial	10,27 a
			Protéico	10,32 a
			Lipídico	12,80 b
25 °C	Estádios de maturação	0,0049	I	9,77 a
			II	11,28 b
			III	11,95 b
30 °C		ns		

Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de separação de médias (SNK, $p < 0,05$).

Em relação aos lipídios totais na hemolinfa, quando analisados em termos gerais, observou-se que nos estágios de muda os níveis de lipídios foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), encontrando-se os maiores níveis nos estágios “C” e “D” (SNK, $p < 0,05$). Os tratamentos interagidos também foram significativos ($p < 0,05$) sobre os níveis de lipídios totais na hemolinfa (Tabela 6). As análises dos níveis de lipídios totais na hemolinfa, em cada temperatura

estudada, mostraram que a 20 e 25°C os estágios de muda e estádios de maturação ovariana influenciaram significativamente os níveis de lipídios totais ($p < 0,05$), sendo maiores a 20°C no estágio “D” e no estágio III, e a 25°C nos estágios “D” e “C” e nos estágios III e II (SNK, $p < 0,05$). Na temperatura de 30°C, os estágios de muda e os alimentos influenciaram significativamente os níveis desse nutriente ($p < 0,05$), alcançando os maiores

valores no estágio “C” e quando as fêmeas foram alimentadas com o alimento comercial (Tabela 7).

Mesmo observando-se que em todos os resultados obtidos as concentrações dos níveis sanguíneos de nutrientes nos diferentes estágios de muda e estádios de maturação ovariana foram próximas, a análise de correlação múltipla entre a

muda e a maturação em cada temperatura estudada mostrou correlação positiva a 25 e 30°C. Tal resultado indica que conforme aumentam os níveis dos nutrientes dos estágios de muda, também aumentam nos estádios de maturação. A 20°C só houve correlação positiva significativa ($p < 0,05$) em relação aos lipídios totais (Tabela 8).

Tabela 6: Efeito significativo das temperaturas, alimentos, estádios de maturação ovariana e estágios de muda nos níveis de lipídios totais na hemolinfa das fêmeas de *M. acanthurus*

Tratamentos	ANOVA (p)	Lipídios totais SNK ($p < 0,05$)	
Maturação:			
Temperatura x maturação	0,0001	20 °C/III	
		25 °C/III	
		30 °C /I	
Temperatura x alimento	0.0053	25 °C/Alim. protéico.	
		30 °C/Alim. comercial	
Muda:			
Estádios de muda	0,0002	A	282,19 a
		C	352,39 b
		D	372,38 b
Temperatura x alimento	0,0108	30 °C/Alim. comercial.	
Temperatura x muda	0,0000	20°C/ D	
		25 °C/ D	

Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de separação de médias (SNK, $p < 0,05$).

Tabela 7: Efeito significativo dos alimentos, estágios de muda e estádios de maturação nos níveis de lipídios totais (mg/100 mL) na hemolinfa das fêmeas de *M. acanthurus*, nas diferentes temperaturas testadas.

Temp.	Tratamentos	ANOVA (p)	Lipídios totais SNK ($p < 0,05$)	
20 °C	Estádios de muda	0,0001	A	282,66 a
			C	299,76 a
			D	415,50 b
25 °C	Estádios de muda	0,0010	A	254,56 a
			C	361,82 b
			D	417,15 b
30 °C	Estádios de muda	0,0030	D	284,49 a
			A	309,33 a
			C	395,59 b
	Alimentos	0,0050	Protéico	276,45 a
			Lipídico	314,65 a
			Comercial	398,32 b
20 °C	Estádios de maturação	0,0006	I	292,25 a
			II	362,85 b
			III	447,54 c
25 °C	Estádios de maturação	0,0022	I	285,59 a
			II	366,94 a b
			III	423,82 b
30 °C		ns	---	

Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de separação de médias (SNK, $p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Em termos gerais, não há um consenso entre autores sobre os níveis de proteína bruta e lipídios totais que os alimentos para camarões de água doce devem conter. No presente experimento, considerou-se como alimento lipídico e protéico aqueles que continham níveis destes nutrientes próximos aos maiores indicados na literatura.

Em relação aos lipídios nas dietas, CAVALLI et al. (1999) indicam um nível de 10%; VENKATARAMANI et al. (2002), entre 9,8 e

10,2%; BEHANAN & MATHEW (2004), 11%; MITRA & MUKHOPADHYAY (2005), entre 3 e 7%. Com respeito aos níveis de proteína bruta, CHOWDHURY et al. (2008) indica 35%; MITRA & MUKHOPADHYAY (2005) recomendam entre 38 e 40% para reprodutores, entre 28 e 30% para adultos (4 a 6 meses) e entre 35 e 37% para juvenis (2 a 4 meses); HABASHY (2009) recomenda entre 25 e 35% e DAVASSI (2011) indica melhores crescimentos entre 30 a 45%.

Tabela 8: Valores do coeficiente de correlação (r) entre os níveis de nutrientes na hemolinfa das fêmeas de *M. acanthurus*, dos estágios de muda e estádios de maturação, indicando a probabilidade (p)

Nutrientes na hemolinfa	r	p<0,05
20°C		
glicose muda - glicose maturação	0,27	0,1060
proteínas totais muda - proteínas totais maturação	0,30	0,0620
lipídios totais muda - lipídios totais maturação	0,44	0,0063*
25°C		
glicose muda - glicose maturação	0,43	0,0037*
proteínas totais muda - proteínas totais maturação	0,81	0,0000*
lipídios totais muda - lipídios totais maturação	0,86	0,0000*
30°C		
glicose muda - glicose maturação	0,65	0,0000*
proteínas totais muda - proteínas totais maturação	0,68	0,0000*
lipídios totais muda - lipídios totais maturação	0,40	0,0110*

* indica diferença significativa.

No presente trabalho, foi observado que a temperatura tem efeito nos níveis dos nutrientes estudados na hemolinfa, tanto nos estágios de muda como nos estádios de maturação. Isso está relacionado ao fato de os camarões serem animais ectotérmicos, atuando a temperatura como fator ambiental cujas variações induzem ou retardam seu desenvolvimento (MANUSH et al., 2006).

Em relação aos níveis de nutrientes analisados na hemolinfa, os resultados indicaram variações estatísticas significativas, em alguns casos devido à temperatura, em outros por causa dos alimentos e dos estágios de muda ou estádios de maturação ovariana. Segundo SORIA et al. (2006), os níveis de açúcar na hemolinfa nos diferentes estádios de maturação foram similares, porém a composição foi diferente. Em relação às variações dos níveis de proteínas e carboidratos, estariam relacionadas com a transição metabólica ao longo do ciclo de muda, influenciado pela condição imunológica dos crustáceos.

WILDER et al. (2009), examinando as concentrações de Na⁺ e Ca²⁺ durante os ciclos de

muda na hemolinfa de *Macrobrachium rosenbergii*, observaram que a concentração de Na⁺ aumentou significativamente do estágio B para o D2, enquanto as concentrações de Ca²⁺ na hemolinfa reduziram significativamente do estágio A para C₀ e aumentaram significativamente para o estágio E.

SHANJU & GERALDINE (2011) observaram declínio gradual nos níveis de proteína total na hemolinfa para as espécies de *Macrobrachium malcolnsonii*, *rosenbergii* e *lamarrei* dos estágios iniciais para maduro.

Com referência aos níveis de glicose, os resultados indicaram que eles variam na hemolinfa das fêmeas de *M. acanthurus* por causa dos estágios de muda nas temperaturas de 25 e 30°C. Para a espécie em estudo, essa variação provavelmente estaria relacionada ao aumento e ao transporte, na hemolinfa, de mucopolissacarídeos. Estes, na epiderme, seriam estocados ou utilizados imediatamente para síntese de quitina. Isso ocorre a partir do glicogênio estocado no hepatopâncreas durante o estágio "C" (intermuda) e o estágio "D 0" (pré-muda) (PASSANO, 1960).

Na temperatura de 20°C, não houve variação de glicose provavelmente devido ao menor metabolismo, indicando que, em baixas temperaturas, o processo de muda estaria retardado pela falta de material para síntese de quitina.

O transporte de glicose via hemolinfa se inicia no estágio de muda "D" (PASSANO, 1960). Isso foi observado pelo aumento dos níveis desse nutriente nas temperaturas de 25 e 30°C, porém também aconteceu no estágio de muda "C", diferentemente do esperado. No entanto, a migração de glicose nesse estágio poderia estar relacionada com a necessidade deste nutriente para a síntese de glicoproteínas nos ovários, característico do estágio de maturação II (II.1, pré-vitelogênese, e início de II.2, na 1ª vitelogênese) (HARRISON, 1990). Esse estágio de maturação é paralelo ao estágio de muda "C" no processo de desenvolvimento. Quando ambas as fases de muda e maturação acontecem simultaneamente, a muda passa ser uma muda pré-nupcial.

Em relação aos níveis de proteínas totais, a temperatura teve efeito significativo nos diferentes estágios de muda, porém não se observou diferença na maturação. Isso sugere que a temperatura tem maior efeito sobre o crescimento, aumentando os níveis de proteínas totais. Esse aumento é necessário para processos de formação de tecidos novos, acelerados em temperaturas mais elevadas. Na maturação gonadal, as necessidades protéicas seriam constantes em todas as temperaturas, independente dos estádios de maturação.

Segundo CHAND & SAHOO (2006), outro importante fator que influencia os níveis de proteínas totais é o estresse causado pela exposição dos animais a altas concentrações de nitrito na água; neste caso a qualidade da água manteve-se constante pelo uso de biofiltros, sendo as variações protéicas na hemolinfa afetadas pelos estádios de maturação e muda. SORIA et al. (2006) demonstram que a concentração de proteína e composição dos aminoácidos livres não se diferenciam significativamente na hemolinfa de juvenis e adultos de camarões de água doce; entretanto, os aminoácidos não essenciais demonstram diferença de acordo com os estádios de maturação

As variações ocorridas nos níveis de proteínas totais na hemolinfa, nas temperaturas de 20 e 25°C, por causa dos estágios de muda e maturação, caracterizaram as maiores necessidades no metabolismo deste nutriente na fase de pré-muda (D) e no ovário maduro (III). Segundo CHANG & O'CONNOR (1983), na fase de pré-muda, os níveis de proteínas na hemolinfa aumentam como consequência da redução do volume muscular, ficando maior com o aumento da temperatura, como

observado no presente trabalho. CHENG et al. (2001) observaram diferença nos níveis de proteína da hemolinfa nos diferentes ciclos de muda para *M. rosenbergii*, porém não foi observado diferença significativa entre fêmeas e machos entre 17 e 48g.

Segundo CHENG et al. (2003b), temperaturas de 25 e 30°C proporcionaram maior atividade do patógeno *Lactococcus garvieae* no cultivo de *Macrobrachium rosenbergii*, causando uma maior mortalidade quando comparado à temperatura de 20 e 35°C. No presente experimento não se observou mortalidade por efeito das variáveis, nem características patológicas que poderiam afetar os resultados.

Durante o desenvolvimento ovariano, o aumento de proteínas totais nos estádios de maturação estaria relacionado ao transporte das mesmas ao ovário. Segundo HARRISON (1990), há uma grande migração, tanto de fosfolipoproteínas (presentes nos estádios de maturação II.2 e II.3) como de vitelogenina exógena (carotenoglicolipoproteína, principal constituinte do vitelo, presente nos estádios de maturação II.3 e maduro III), aumentando o volume dos ovócitos.

Durante as ecdises e a pós-muda inicial (A1), há um ingresso de água no organismo, para aumentar o volume corpóreo. Isso ocasiona um estresse hiposmótico nas células dos tecidos dos crustáceos de água doce e nos eurialinos que se encontram em áreas de baixa salinidade; como resposta, há uma hidrólise das proteínas da hemolinfa originárias dos músculos e também uma liberação de aminoácidos livres intracelulares para manter o equilíbrio osmótico das células. Esses aminoácidos mantêm assim a concentração de solutos no fluido extracelular (MANTEL et al., 1975).

Nesse sentido, é interessante indicar que os mesmos aminoácidos que participam como reguladores no estresse hiposmótico, geralmente produto da hidrólise de proteínas na hemolinfa na fase de pré-muda, são atrativos nutricionais. Além de se encontrarem nos fluidos extracelulares quando do ingresso de água no processo da muda e pós-muda inicial, podem ser excretados para o meio externo, processo durante o qual pode ocorrer o canibalismo.

Na temperatura de 30°C, não se observou diferença nos níveis das proteínas totais, devido à alteração do metabolismo por causa da elevada temperatura. Isso sugere a necessidade de proteína em igual proporção para os diferentes estágios de muda e estádios de maturação, provavelmente pela formação de novos tecidos, tanto gonadal quanto muscular, num processo mais acelerado pelas características ectotérmicas dos crustáceos.

Com referência aos lipídios, eles se constituem na fonte de energia para suportar os processos da

muda e maturação. Nos resultados dos níveis de lipídios totais na hemolinfa, constatou-se a variação significativa destes como efeito da muda e, nas temperaturas de 20 e 25°C, o estágio “D” (pré-muda) apresentou os maiores valores. CHANG & O’CONNORS (1983) indicam que, nesse estágio, há um aumento da síntese de ácido graxo “de novo” como reserva energética, necessária ao processo da muda. Segundo PASSANO (1960), os lipídios, nesse estágio de muda, aumentam no hepatopâncreas em até sete vezes. Essas observações corroboram os resultados obtidos neste trabalho, indicando um mesmo comportamento nesta espécie.

Na temperatura de 30°C, no estágio de muda “C”, também observou-se um incremento de lipídios totais na hemolinfa dos camarões, podendo estar relacionado ao aumento do metabolismo, e indicando a estocagem de lipídios característica neste estágio. Segundo CHANG & O’CONNORS (1983), neste estágio ocorre um aumento da capacidade de esterificação dos ácidos graxos.

A maturação ovariana também teve influência nos níveis de lipídios totais na hemolinfa, nas temperaturas de 20°C e 25°C. Os maiores níveis desse nutriente observado no ovário maduro (III) certamente foram devido ao incremento de vitelogenina exógena (caroteno-glicolipoproteína sintetizada fora do ovário), que é transportada para o ovário. Esse principal componente do vitelo é uma macromolécula, que apresenta alto teor de fosfolipídios na sua constituição, sendo identificada pelo método de análise usado, independentemente dos outros componentes presentes.

Na temperatura de 30°C, a maturação ovariana não afetou os níveis de lipídios totais, indicando a mesma necessidade para todos os estádios de maturação. Mesmo assim, a tendência observada foi uma maior elevação dos níveis de lipídios no estágio imaturo (I), provavelmente por estarem os ovários ainda em reorganização, havendo transporte de lipídios provenientes do ovário para outros tecidos.

A influência dos alimentos sobre os aspectos estudados, nos experimentos com as fêmeas de *M. acanthurus*, ficou constatada através do efeito do alimento lipídico sobre os níveis da glicose e proteínas totais na hemolinfa, à temperatura de 20°C, e do alimento comercial sobre o efeito dos lipídios totais pelos estágios de muda, a 30°C.

Os resultados mostram claramente a importância da qualidade do alimento, tanto para a muda quanto para a maturação. SAMUEL et al. (1999) relatam que a qualidade nutricional das rações fornecidas para machos de *Macrobrachium malcolmsonii* influencia na performance reprodutiva. Nesse estudo os autores encontraram um bom desempenho reprodutivo nos camarões alimentados

com farinha de marisco (48,82% proteína bruta e 4,01 % de lipídios), farinha de lula (58,69% proteína bruta e 5,46 % de lipídios) e ração comercial para camarões marinhos.

CAVALLI et al. (2001) observaram que o nível total de lipídios no ovário de *Macrobrachium rosenbergii* aumenta com a maturação, sendo o requerimento de lipídeos para o desenvolvimento do ovário dependente da imediata ingestão de dietas com esse nutriente. Em geral, os resultados obtidos pelos autores demonstram substancial aumento dos níveis de lipídios com o aumento do índice gonadosomático.

Sendo os lipídios importante fonte de energia para os crustáceos, dietas com altos níveis desse composto, como no caso do alimento lipídico testado, podem não conter quantidades suficientes de carboidratos como fonte de glicose, que é ainda mais necessária quando há síntese de quitina. Essa deficiência seria contornada pela via da gliconeogênese, que, a partir do oxalato, forma glicose, o que poderia explicar o aumento deste nutriente quando utilizado o alimento lipídico a 20°C.

No processo da maturação ovariana, independentemente dos alimentos oferecidos, observou-se que os níveis de proteínas totais mantêm-se altos na hemolinfa nos estádios de maturação (II) e maduro (III). Esses níveis altos corroboram o mencionado por HARRISON (1990), que indica haver uma necessidade de estocagem desse nutriente no ovário para o início da vitelogênese (II). Quando a vitelogênese está avançada (III), ocorre transporte de vitelogenina exógena, geralmente do hepatopâncreas para o ovário.

A influência dos alimentos lipídico e protéico, induzindo altos níveis de glicose na temperatura de 20°C, pode ser devida a deficiências de carboidratos nos camarões, que são supridas por proteínas e lipídios, pois os esqueletos de carbono dos aminoácidos não essenciais asseguram a formação de glicose, bem como ácidos graxos.

Os níveis altos de lipídios na hemolinfa, encontrados nos presentes experimentos, a 30°C, por efeito do alimento comercial, poderiam sugerir que esse alimento não conteria quantidades adequadas desse nutriente (balanceamento inadequado para *M. acanthurus*) ou não seriam de boa qualidade, induzindo os carboidratos presentes a formarem lipídios (via liponeogênese). Isso se nota mais no período em que o camarão se alimenta, tornando necessária a estocagem de nutrientes, sobretudo de lipídios, que são fundamentais para dar continuidade aos processos tanto da muda como da maturação gonadal.

Segundo HARRISON (1990), parte da dieta lipídica e protéica absorvida é diretamente metabolizada pelas células “M” do hepatopâncreas, reestruturada e liberada na hemolinfa como lipoproteínas. A glicose pode ser absorvida diretamente do estômago. Esses nutrientes, por efeito da maturação, se estocariam no ovário na fase de pré-vitelogênese para formar as glicoproteínas e atuariam também como precursores no metabolismo intermediário na produção de aminoácidos não essenciais e energia. No caso da muda, os níveis de glicose circulante são maiores no início da pré-muda como precursor para síntese de quitina (PASSANO, 1960).

O acúmulo de reservas nutritivas, em relação à muda, inicia-se com a alimentação nos estágios B2 tardio e C1. Todo nutriente que não é utilizado se armazena no hepatopâncreas. Nesse caso, o glicogênio triplica, as reservas protéicas aumentam e os lipídios passam a constituir, em geral, a maior parte do material estocado.

No processo da maturação, o acúmulo das reservas no ovário se inicia no estágio de maturação II,1. Nos estágios de muda citados, segundo PASSANO (1960), a água, absorvida no início da pós-muda começa a ser substituída por tecido e o conteúdo de água baixa de 80% para 68% no corpo dos decápodes. Nesse período, a quantidade e a qualidade do alimento ingerido durante o período de alimentação é fundamental e os alimentos ingeridos são a principal fonte dos nutrientes. Tendo em vista as condições do presente experimento, em que não se permitiu o aproveitamento de alimentos naturais, a observação de mudas, o desenvolvimento gonadal, assim como o crescimento das fêmeas estudadas permitem admitir que os alimentos ingeridos foram eficientes para suprir os nutrientes adequados na fase em que os animais se alimentavam.

No estágio de muda D2, os decápodes deixam de se alimentar até o início do estágio B2. Nesse período, as reservas do hepatopâncreas são utilizadas para formar o novo exoesqueleto e cobrir todas as necessidades metabólicas (PASSANO, 1960).

No caso da maturação ovariana, a estocagem dos nutrientes nos ovários propicia o início do processo de vitelogênese durante o período em que os animais não se alimentam, havendo também necessidade de nutrientes exógenos serem transportados para dar continuidade à maturação. Os níveis de nutrientes estudados flutuaram em função dos diferentes estágios de muda e estádios de maturação, o aumento ou diminuição de determinados nutrientes na hemolinfa permitiu identificar a fase de desenvolvimento e o estado nutricional em que as fêmeas de *M. acanthurus* se encontravam.

CONCLUSÕES

Os alimentos processados influenciaram nos níveis de nutrientes na hemolinfa, favorecendo a síntese de tecido ovariano e a produção de quitina. O alimento lipídico induziu um aumento de glicose e proteínas totais na hemolinfa, já o alimento protéico aumentou os níveis de glicose e lipídios totais, enquanto o alimento comercial produziu um aumento de lipídios totais. O alimento lipídico é mais eficiente para a muda e maturação ovariana.

A temperatura alta acelera o crescimento, aumentando os níveis de proteínas totais na hemolinfa. Os níveis de glicose aumentam no início da maturação ovariana e nos estágios finais da muda. Os níveis de lipídios totais e proteínas totais são maiores nos estádios de maturação e estágios de muda mais avançados.

REFERÊNCIAS

- ADYODI, R.G. Reproduction and this control. In: BLISS, D. E., MANTEL, L.H. (Eds). **The biology of crustacean**. New York: Academic Press. 1985. V.9 p. 147-215
- ALBERTONI, E. F., PALMA-SILVA, C., ESTEVES, F. A. Natural diet of three species of shrimp in a tropical coastal lagoon. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 3, p. 395-403, 2003.
- ARAÚJO, M. C., VALENTI, W.C. Efeito da intensidade luminosa no desenvolvimento larval do camarão-da-amazônia, *Macrobrachium amazonicum*. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 37, n. 2, p. 155-164, 2011.
- AQUACOP. Constitution of broodstock, maturation spawning and hatching system penaeid shrimp in the centre oceanologique du pacifique. In: J. P. McVEY (Ed). **CRC Handbook of Mariculture**, New York: Academic Press 1986. v.1, Crustacean Aquaculture. CRC Press Boca Raton. FL. USA. pp. 105-121.
- BEHANAN, L., MATHEW, S. Nucleic Acid and Protein Concentrations in the Muscle of *Macrobrachium rosenbergii* Juveniles at Different Periods of Growth. **Asian Fisheries Science**, v. 17, p. 111-119, 2004.
- CARVALHO, H. A., PEREIRA, M. C. G. Descrição dos estádios ovarianos de *Macrobrachium acanthurus* (Weigmann, 1836) (Crustacea, Palaemonidae) durante o ciclo reprodutivo. **Ciência e cultura**, v. 3. n. 10, p. 1353-1359. 1981.
- CAVALLI, R., TAMTIN, M., LAVENS, P., SORGELOSS, P. Variations in lipid classes and fatty acid content in tissues of wild *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) females during maturation. **Aquaculture**, v. 193, p. 311-324, 2001.
- CAVALLI, R.O., LAVENS, P. AND SORGELOOS, P.

- Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. **Aquaculture**, v. 179, p. 387–402, 1999.
- CHAND, R. K., SAHOO, P. K. Effect of nitrite on the immune response of freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* and its susceptibility to *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture**, v. 258, p. 150–156. 2006.
- CHANG, E., O'CONNOR, J. Metabolism and transport of carbohydrates and lipids. In: BLISS, D. E., MANTEL, L. H. (Eds). **The Biology of Crustacea**. New York, Academic Press. 1983. pp 263-289
- CHAVES, P. T., MAGALHÃES, C. O desenvolvimento ovocitário em *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae), camarão dulcicoladaregião Amazônica. **Acta amazônica**, v. 23, n. 1, p. 17-23, 1993.
- CHAVEZ, J. C., AIDA, K., HANYU, I. Effects of photoperiod and temperature on molting, reproduction and growth of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v. 57, n. 2, p. 209-217, 1991.
- CHENG, W., LIU, C. H., KUO, C. M. Effects of dissolved oxygen on hemolymph parameters of freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). **Aquaculture**, v. 220, p. 834-856, 2003a.
- CHENG, W., CHEN, S.M., WANG, F.E.I., HSU, P.I., LIU, C. H., CHEN, J.C. Effects of temperature, pH, salinity and ammonia on the phagocytic activity and clearance efficiency of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to *Lactococcus garvieae*. **Aquaculture**, v. 219, p. 111– 121. 2003b.
- CHENG, W., LIU, C. H., CHENG, C. H. CHEN, J.C. Hemolymph oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels of *Macrobrachium rosenbergii* in relation to size and molt stage. **Aquaculture**, v. 198, p.387-400, 2001.
- CHOWDHURY, M. A. K.,GODA, A.M. A.S.,EL-HAROUN, E. R., WAFI, M. A., EL-DIN, S.Effect of dietary protein and feeding time on growth performance and feed utilization of post larval freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man1879). **Journal Fish Aquatic Sciences**, v, 3, p. 1-11, 2008.
- CHEN, S. M., CHEN, J. C. Effects of pH on survival, growth, molting and feeding of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, v. 218, p. 613–623, 2003.
- CUNHA, C. H., OSHIRO, L. M. Y. The influence of eyestalk ablation on the reproduction of the freshwater *Macrobrachium acanthurus* shrimp in captivity. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 3, p. 217-221, 2010.
- D'ABRAMO, L. R., CORTNEY, L. O., FONDREN, M. W., STEEBY, J.A., POSADAS, B. C. **Culture of Freshwater Prawns in Temperate Climates: Management Practices and Economics**. Mississipp: Division of Agriculture, Forestry, and Veterinary Medicine, 2003. 23p.
- DAVASSI, L. A. Survival and growth of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in relation to different nutrients composition. **Journal of fisheries and Aquatic Science**, v.6, n.6, p.649-654. 2011.
- GARCÍA-GUERRERO, M. U., RACOTTA, I., VILLARREAL, H. Effect of temperature on lipids, proteins, and carbohydrates levels during development from egg extrusion to juvenile stage of *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.135, n. 1, p.147–154, 2003.
- GARCÍA-GUERRERO, M. U. Effect of Temperature on Consumption Rate of Main Yolk Components during Embryo Development of the Prawn *Macrobrachium americanum* (Crustacea: Decapoda:Palaemonidae). **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, p. 84-92, 2010.
- GONZALES-BARO, M., POLLERO, R. J. Lipid characterization and distribution among tissues of the freshwater crustacean *Macrobrachium rosenbergii* during an annual cycle. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 918, n.4, p. 711-715. 1988.
- HABASHY, M. M. Growth and body composition of juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* fed different dietary protein/starch ratios. **Global Veterinaria**, v. 3, n. 1. p. 45-50, 2009.
- HARRISON, K. E. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: A review. **Journal of Shellfish Research**, v.9, n. 1, p.:1-28.1990.
- HAYD, L. A., ANGER, K., VALENTI, W. C. The moulting cycle of larval Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* reared in the laboratory. **Nauplius**, v. 16, n. 2, p. 55-63, 2008.
- HUONG, D. T., WANG, T., BAYLEY, M., PHUONG, N. T. Osmoregulation, growth and moulting cycles of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) at different salinities. **Aquaculture Research**, v. 41, p.35-143, 2010.
- LOBÃO, V. L., ROVERSO, E. A., LACE, M., HORTENCIO, E. Ciclo de muda e crescimento em *Macrobrachium amazonicum* HELLER, 1862 e *Macrobrachium rosenbergii* De MAN (Decapoda, Palaemonidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 23, p. 31-45, 1996.
- MANTEL, L., BLISS, D., SHEEHAN, S., MARTINEZ, E. Physiology of hemolymph, gut fluid, and hepatopancreas of the land crab *Gregarcinus lateralis* (Fremenville) in various neuroendocrine states. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 51, p. 663 - 671. 1975.
- MANUSH, S. M., PAL, K. T. D., MUKHERJEE, S. The influence of temperatures ranging from 25 to 36 C on developmental rates, morphometrics and survival of

- freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) embryos. **Aquaculture**, v. 256, p. 529–536, 2006.
- MITRA, G., MUKHOPADHYAY, P. K. Nutrition and feeding in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) farming. **Aqua feeds: Formulation & Beyond**, v. 1, n. 1, p. 17-19, 2005.
- NEW, M. B. **Farming freshwater prawns a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)**. Roma: FAO, 2002. Disponível em http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Macrobrachium_rosenbergii/en, acesso em janeiro, 2009.
- NEWMAN, M. W., LUTZ, P. L., SNEDAKER, S. C. Temperature effects on feed ingestion and assimilation efficiency of nutrients by the Malaysian prawn. **Journal World Mariculture Society**, v. 13, p. 93-103.1982.
- PASSANO, L. M. Molting and its control. In: WATERMAN, T. H. (Ed). **The physiology of crustacea**. New York: Academic Press, 1960. p. 515-545.
- PAULRAJ, A., PEIXOTO, S., VASUMATHI. C., ALTA, K. Ovarian histology of stunted pond-reared *Macrobrachium rosenbergii* females. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 64-69. 2008.
- PINHEIRO, H. A. C. Reprodução do pitu *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) subsídio às atividades de cultivo. Influência da temperatura. **Boletim de Fisiologia Animal**, v.7, p.95-101. 1983.
- SAMUEL, M. J., KANNUPANDI, T., SOUNDARAPANDIAN, P. Nutritional effects on male reproductive performance in the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* (H. Milne Edwards). **Aquaculture**, v. 172, p.327-333, 1999.
- SHANJUN, S., GERALDINE, P. Quantitative protein profile of three *Macrobrachium* species during reproductive cycle. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, n. 7, p. 731-737, 2011.
- SORIA, F., SIERRA, C., BOUQUELET, S., BRASSART, C., AGUNDIS, C., ZENTENE, E., VAZQUEZ, L. The effect of sugars and free amino acids from the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* hemolymph on lectin activity and on oxidative burst. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.142, p. 212-219, 2006.
- TIDWELL1, J. H., D'ABRAMO, L. R., COYLE1, S. D., YASHARIAN, D. Overview of recent research and development in temperate culture of the freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii* De Man) in the South Central United States. **Aquaculture Research**, v. 36, p. 264-277, 2005.
- VENKATARAMANI, V. K., RAJAGOPALSAMY, C.B.T., RAVI, D. Effect of Formulated Feeds on the Growth and Broodstock Development in *Macrobrachium rosenbergii*. **Asian Fisheries Science**, v. 15, p. 357-364, 2002.
- WILDER, M. N., HUONG, D. T. T., JASMANI, S., JAYASANKAR, V., KANEKO, T., AIDA, K., HATTA, T., NEMOTO, S., WIGGINTON, A. Hemolymph osmolality, ion concentrations and calcium in the structural organization of the cuticle of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: Changes with the molt cycle. **Aquaculture**, v. 292, p. 104-110, 2009.
- WOUTERS, R., MOLINA, C., LAVENS, P., CALDERÓN, J. Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation. **Aquaculture**, v. 198, p. 307-323, 2001.
- ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**, 1.ed. New Jersey: Prentice Hall Inc. 1974.

Protocolado em: 11 fev. 2009. Aceito em: 08 jul. 2011