

ANTÔNIO PEDRO SOARES

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, HISTOQUÍMICA E RELAÇÃO
GONADOSSOMÁTICA E HEPATOSSOMÁTICA DO HEPATOPÂNCREAS E
OVÁRIOS DE *Panulirus echinatus* DURANTE O DESENVOLVIMENTO
REPRODUTIVO**

RECIFE

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

ANTONIO PEDRO SOARES

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, HISTOQUÍMICA E RELAÇÃO
GONADOSSOMÁTICA E HEPATOSSOMÁTICA DO HEPATOPÂNCREAS E
OVÁRIOS DE *Panulirus echinatus* DURANTE O DESENVOLVIMENTO
REPRODUTIVO

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciência Veterinária da
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do título
de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO

RECIFE

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

Tese de doutorado elaborada por:

ANTONIO PEDRO SOARES

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto – Presidente
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / UFRPE

Prof. Dr. Manuel de Jesus Simões
Departamento de Morfologia / UNIFESP-EPM-SP

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio
Departamento de Histologia e Embriologia / CCB/UFPE

Profa. Dra. Juliana Pinto de Medeiros
Departamento de Histologia e Embriologia / CCB/UFPE

Profa. Dra. Lígia Reis de Moura Estevão
PNPD / PPGBA / UFRPE

RECIFE
2014

Dedico este trabalho à minha mãe:

MARIA DO CARMO SOARES – Que se encontra no Paraíso. Obrigado pela vida,
amor e educação.
Eternas saudades!

AGRADECIMENTOS

À DEUS PELA VIDA, SAPIÊNCIA, PACIÊNCIA, INTELIGÊNCIA, CONHECIMENTO E PELA PROTEÇÃO DIVINA DURANTE MINHA CAMINHADA.

À CHIARA LUBICH FUNDADORA DO MOVIMENTO DOS FOCOLARI (Através do qual renasci).

A MEU ORIENTADOR E AMIGO Prof. Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO PELA CONFIANÇA MAIS UMA VEZ E ORIENTAÇÃO. O QUE POSSIBILITOU MINHA INCLUSÃO SOCIAL ACADÊMICA EM NÍVEL *STRICTO SENSU*.

A MINHA COLABORADORA E AMIGA MARIA EDNA GOMES DE BARROS – TÉCNICA DA ÁREA DE HISTOLOGIA E DOUTORANDA DO PROGRAMA DE BIOCÊNCIA ANIMAL. PELO ESTÍMULO COLABORAÇÃO E ARTE NA TÉCNICA HISTOLÓGICA.

A Profa. Dra. MARIA GORETTI SOARES PELO ESTÍMULO, COLABORAÇÃO E CUMPLICIDADE.

A Profa.Dra. LIRIANE BARATELLA EVÊNCIO, Pelo estímulo.

AOS PESCADORES DA COLÔNIA DE TAMANDARÉ PELA CORAGEM DE ENFRENTAR OS DESAFIOS DO MAR PARA FAZER AS CAPTURAS DAS LAGOSTAS, MESMO EM CONDIÇÕES DESFAVORÁVEIS.

AOS MEMBROS DA BANCA DO TRABALHO DE QUALIFICAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO: Prof. Dr. FABRÍCIO BEZERRA DE SÁ E Prof. Dr. MOACIR BEZERRA DE ANDRADE. Pela colaboração e estímulo.

AO COODERNADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA/UFRPE – Prof. Dr. HÉLIO CORDEIRO MANSO FILHO. Obrigado pela acolhida neste Programa.

A LANA CLAUDIA BEZERRA - SECRETÁRIA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA. Pelo ótimo atendimento.

AOS PROFESSORES (AS) DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA.

AOS COLEGAS DE TURMA DO PROGRAMA DE CIÊNCIA VETERINÁRIA PELA FORÇA. SUCESSO PARA TODOS.

AO SUPERVISOR DA ÁREA DE HISTOLOGIA – Prof. Dr. FÁBIO DE SOUZA MENDONÇA. Pela disponibilidade do Laboratório.

A DIREÇÃO DO CENAPESQ/UFRPE – Pelo uso dos Laboratórios.

A COODERNADORA DO LABORATÓRIO DE BIOATIVOS/DMFA/UFRPE.

A ÁREA DE FISIOLOGIA/DMFA/UFRPE – Pela disponibilidade do Laboratório.

AOS COLEGAS PÓS-GRADUANDOS E ORIENTANDOS DO Prof. Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO. Obrigado pela cumplicidade.

AO PROF. JOSÉ KÁSSIMO. Eternas saudades. Obrigado pela colaboração.

AOS COLEGAS PROFESSORES DA FAMASUL.

AOS FUNCIONÁRIOS ADMINISTRATIVOS DA FAMASUL/AEMASUL.

AOS MEUS CAROS ALUNOS PELO ESTÍMULO.

A FACULDADE DE FORMAÇÃO DE PROFESSORES DA MATA SUL – FAMASUL/AEMASUL.

A UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO.

A GESTORA DA GRE MATA SUL /PALMARES.

AOS COLEGAS PROFESSORES DA ESCOLA ALFREDO BRADÃO.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS:

AO MEU PAI: JOSÉ PEDRO SOARES (PEDRINHO) Pela vida, educação e pelo exemplo de dignidade e fé. Eternas saudades!

A MINHA ESPOSA: ÉRICA BRUNA DE ANDRADE SOARES – Pela cumplicidade, paciência, colaboração e amor.

AOS MEUS FILHOS(AS): HENRIQUE, GORETTI, ANDRÉ, ANINHA, PAULHINHO, CAROL E *Aplysia*. Pela amizade, paciência, amor e carinho. Sinto-me orgulhoso de vocês.

AOS MEUS NETOS (AS): LELÊ, MALU, BÓ, BIEL, SOFIA, HIPÁTIA, BIA E SINCINHO. Amo todos e cada um individualmente.

AOS MEUS IRMÃOS: BIU, FÁTIMA, CARMINHA, NECO E AOS QUE JÁ ESTÃO EM OUTRA DIMENSÃO.

AOS(AS): SOBRINHOS, SOBRINHAS, TIOS E TIAS. Um grande abraço.

A IVONE E LUIZA - Que contribuíram com minha graduação. Muito obrigado.

AS AMIGOS (AS): ADAUTO, JOEL, PAULO, QUINHO, BIBI, ZEZA, ALZIRA, CRISTIANA, JOYCE, VERA e LAURA.

EM NOME DO SR. EDVALDO JOSÉ DE ANDRADE. Agradeço a família Andrade.

“sonho com o dia em que todas as pessoas levantar-se-ão e compreenderão que foram feitas para viverem como irmãos”

Nelson Mandela

“BEM AVENTURADOS OS QUE TÊM
FOME E SEDE DE JUSTIÇA
PORQUE SERÃO SACIADOS.”

Mateus 5:6

“Precisamos vencer a fome,
a miséria e a exclusão social.
Nossa guerra não é para matar ninguém.
É para salvar vidas.”
LUIZ INÁCIO LULA DA SILVA

RESUMO

Este trabalho objetivou caracterizar a morfologia e analisar a histoquímica do hepatopâncreas e ovários e relacionar com os índices gonadossomático e hepatossomático de *Panulirus echinatus* durante o desenvolvimento reprodutivo. Para tanto, foram coletadas 165 fêmeas, entre os meses de março de 2011 a fevereiro de 2012 nas Praias de Carneiros e Tamandaré no município de Tamandaré, litoral Sul do Estado de Pernambuco. Os animais foram transportados em caixas de isopor com gelo até o Laboratório de Histologia do DMFA/UFRPE. Onde foram pesadas, medidas e retirados o hepatopâncreas, e as gônadas para análise histológica. As gônadas e o hepatopâncreas foram fixados em formaldeído a 10% neutro em água do mar para inclusão em parafina e glutaraldeído a 4% para inclusão em historresina. Após a inclusão em parafina o material foi cortado em micrótomo manual ajustado para 5µm. Os cortes foram corados pela técnica da Hematoxilina/Eosina e pelo Tricrômico de Gomori. O material incluído em historresina foi cortado em micrótomo apropriado ajustado para 3µm. Os cortes foram corados pela Hematoxilina /floxina, Ponceau de xilidina, PAS+Hematoxilina, Alcian Blue pH 2.5 e pH 0,5 e Sudan Black. Após as colorações os cortes histológicos foram observados em microscópio de luz e fotografados. Foram determinados os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos utilizando o teste de análise de variância a um critério (one-way ANOVA), sendo utilizado o post-hoc de Tukey. Como resultados produziu-se dois trabalhos: (1) Relação dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos de *Panulirus echinatus* durante o desenvolvimento reprodutivo e (2) Análise Histoquímica dos ovários e hepatopâncreas de *Panulirus echinatus* durante o período de maturação. Após análise dos resultados conclui-se que: A espécie estudada, apresenta uma desova parcelada durante o ano inteiro, com pico reprodutivo no verão.

Palavras - Chave: Hepatopâncreas, ovários, *Panulirus echinatus*, desenvolvimento reprodutivo.

ABSTRACT

This study aimed to characterize the morphology and immunohistochemistry to examine the ovaries and hepatopancreas and relate to the gonadosomatic and hepatosomatic index of *Panulirus echinatus* during reproductive development. For this, 165 females were collected between the months of March 2011 through February 2012 in Beaches and Sheep in the city of Tamandaré Tamandaré, South coast of the state of Pernambuco. The animals were transported in coolers with ice to the Laboratory of Histology DMFA/UFRPE. Where were weighed, measured and removed the hepatopancreas and gonads for histological analysis. The gonads and hepatopancreas were fixed in 10% neutral formalin in seawater for paraffin and a 4% glutaraldehyde for inclusion in historesin. After paraffin embedded material was cut into manual microtome set to 5 μ m. The sections were stained with hematoxylin/eosin and by Masson's trichrome. The material included in historesin was cut into appropriate microtome set to 3 μ m. The sections were stained with hematoxylin/phloxine, of Ponceau xyloidine, PAS + hematoxylin, Alcian Blue pH 2.5 and pH 0.5 and Sudan Black. After staining the sections were observed under light microscope and photographed. Were determined gonadossomáticos hepatossomáticos and indexes using the analysis of variance with a criterion (one-way ANOVA), being used for post - hoc Tukey. The results produced two papers: (1) Ratio of gonadossomáticos indexes and hepatossomáticos of *Panulirus echinatus* at during reproductive development and (2) Histochemistry Analysis of ovaries and hepatopancreas of *Panulirus echinatus* during the maturation period. After analyzing the results it is concluded that: The species studied, presents a fractional spawning throughout the year, with reproductive peak in summer.

Keywords: Hepatopancreas, ovaries, *Panulirus echinatus*, reproductive development.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Aparelho reprodutor feminino	16
2.2. Hepatopâncreas.....	19
3. OBJETIVOS.....	23
3.1. Objetivo Geral	23
3.2. Objetivos Específicos	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1. Descrição da Área de Coleta	24
4.2. Coleta do Material	24
4.3. Animais.....	24
4.4. Análises microscópicas	24
REFERÊNCIAS	26
ARTIGO I.....	30
Relação dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos de <i>Panulirus echinatus</i> durante o desenvolvimento reprodutivo.....	30
ARTIGO II	49
Análise Histoquímica dos ovários e hepatopâncreas de <i>Panulirus echinatus</i> durante o período de maturação.....	49

1. INTRODUÇÃO

A costa brasileira abriga um mosaico de ecossistemas de alta relevância ambiental. Ao longo do litoral brasileiro podem ser encontrados manguezais, restingas, dunas, praias, ilhas, costões rochosos, baías, brejos, falésias, estuários, recifes de corais e outros ambientes importantes do ponto de vista ecológico, todos apresentando diferentes espécies animais e vegetais. Isso se deve, basicamente, às diferenças climáticas e geológicas da costa brasileira. Além do mais, é na zona costeira que se localizam as maiores presenças residuais de Mata Atlântica

De 2010 a 2011, houve um aumento de mais de 300 toneladas nas vendas da lagosta viva. Com isso, a receita obtida na modalidade saltou de US\$ 1.606.567 (2010) para US\$ 7.490.206 (2011). Esses resultados fazem parte do trabalho do Projeto Lagosta Viva, desenvolvido pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA).

Os crustáceos representam um dos grupos de invertebrados mais populares, mesmo entre pessoas externas à área biológica, uma vez que incluem alguns dos itens alimentares mais apreciados por gastrônomos, como lagostas, os caranguejos e os camarões. Há mais de 67.000 espécies descritas de crustáceos da fauna atual, e provavelmente um número 5 ou 10 vezes maior de espécies estão ainda para serem descobertas e catalogadas. Os crustáceos mais pesados são provavelmente as lagostas americanas (*Homarus americanus*) (BRUSCA & BRUSCA, 2007).

A classe Malacostraca pertencente ao filo crustácea compreende mais da metade das 45.000 espécies de crustáceos (MARGULIS, 2001). Entre os malacostracos encontra-se a ordem Decapoda representada aproximadamente por 10.000 espécies. Fazendo parte desta ordem, as lagostas são organismos bentônicos habitantes de todos os oceanos. Podem ser reconhecidas através de seu tegumento, pereiópodos e por seu

abdômen, que possui uma musculatura forte, que permite sua flexão e seu deslocamento (PHILLIPS *et al.*, 1980).

Taxonomicamente foram descritas cerca de 163 espécies de lagostas, agrupadas em quatro famílias: Nephropidae, Synaxidae, Scyllaridae e Palinuridae, o gênero *Panulirus*, pertencente a família Palinuridae, compreende 19 espécies, sendo 3 delas encontradas na plataforma continental brasileira: *Panulirus argus*, *Panulirus laevicauda* e *Panulirus echinatus*. Estas espécies são encontradas em águas tropicais do Atlântico, com registros desde Cuba até o Rio de Janeiro e no nordeste brasileiro é encontrada em abundância (FONTELES-FILHO, 1979).

Ecologicamente os palinurídeos formam elos dominantes na cadeia alimentar de uma grande variedade de habitat bentônicos, devido ao seu tamanho e abundância. Pelo seu comportamento predatório seletivo estas lagostas são consideradas responsáveis por efeitos na composição de espécies e frequências de distribuição de vários invertebrados bentônicos como equinodermas, moluscos, pequenos crustáceos e anelídeos (HEYDORN, 1969; HERRNKIND *et al.*, 1975; EDGAR, 1980; TEGNER & LEVIN, 1983). Ao mesmo tempo os palinurídeos servem como presas de grandes peixes e moluscos (COBB & WANG, 1985; HERRNKIND & BUTLER, 1986; EGGLESSTON *et al.*, 1992).

Giraldes (2007), ao estudar os recifes costeiros do litoral do Nordeste do Brasil, fez um levantamento faunístico e apresentou um total de 71 diferentes espécies de decápodos para área estudada. Durante os censos visuais, foram observados em toda bancada recifal um total de 6.280 indivíduos de 37 diferentes espécies, com uma média de 5,4 (+ou - 0,9) espécies por ponto. As espécies mais abundantes e frequentes foram *Cinetorhynchus rigens*, seguido por *Mithraculus fórceps* e *Panulirus echinatus*.

A busca do conhecimento da biologia reprodutiva de *Panulirus echinatus* Smith, 1869 foi decorrente de sua exploração nos recifes costeiros do Nordeste do Brasil e, em particular, em Tamandaré-Pernambuco (BARRETO, 2008).

No Brasil, três espécies de lagostas são colhidas: *Panulirus argus*, *P. laevicauda* e *P. echinatus*. Duas destas (*P. argus* e *P. laevicauda*) têm regulamentação da pesca, tais como o tamanho mínimo de captura e os prazos de captura, apenas *P. echinatus* não tem gestão jurídica, devido à falta de informação biológica reprodutiva da espécie (GÓES & LINS-OLIVEIRA, 2009).

É urgente a produção de trabalhos científicos que venham colaborar na determinação do período reprodutivo da espécie estudada, para que se possa solicitar dos órgãos competentes o seu defeso.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aparelho reprodutor feminino

Nos decápodos, o aparelho reprodutor das fêmeas é constituído por um par de ovários associados aos ovidutos que se abrem nos gonóporos localizados na base do terceiro par de pereiópodos (KROLL *et al.*, 1992). Os carídeos retêm seus ovos nos pleópodos, localizados abaixo do abdômen onde serão mantidos por longo período de incubação até a sua eclosão (CHOY, 1986). Desta forma, fêmeas maduras de *Macrobrachium rosenbergii* apresentam uma câmara de ovos formada pela primeira, segunda e terceira pleuras abdominais. Camarões do gênero *Macrobrachium* apresentam cerdas reprodutivas, no tórax e nos pleópodos, funcionalmente distintas e denominadas cerdas de ovoposição e ovígeras, respectivamente. As cerdas de ovoposição são permanentes e são encontradas nos últimos pares de pereiópodos. Essas cerdas apresentam a função de guiar e fixar os ovos em direção à câmara ovígera nos

pleópodos, durante a desova. Estas cerdas são encontradas nos pleópodos após a muda de pré-desova e, assim retêm os ovos durante o desenvolvimento embrionário das larvas (NAGAMINE & KNIGHT, 1980).

Segundo Izquierdo *et al.* (1987), o ciclo biológico das lagostas espinhosas compreende cinco fases: embrionária, larval, pós-larval, juvenil e adulto. Os indivíduos, quando se encontram próximos da sua primeira maturação migram para as regiões mais profundas e de temperaturas mais baixas, na borda do talude continental. Onde completam a sua maturação gonadal, se acasalam, desovam, incubam os ovos e as larvas (filosomas) eclodem. As filosomas são planctônicas e, inicialmente, são encontradas nas camadas superficiais oceânicas, nos estágios mais avançados se concentram em regiões mais profundas. Após uma drástica metamorfose, atinge o estágio pós-larval (puerulus) que migra em direção a costa. Em águas costeiras, os puerulus permanecem algum tempo em áreas protegidas por vegetação marinha, quando então adquirem a coloração típica da espécie e assumem o hábito bentônico, transformando-se em jovens iniciais. Os jovens habitam as formações rochosas próximas da costa.

Durante a cópula dos lagostins e das lagostas, os machos viram as fêmeas para que o ventre fique para cima e prende os quelípedes dela com os seus. Os primeiros dois pares de pleópodos são então rebaixados e mantidos nessa posição. Nas bases dos últimos dois pares de pernas são frequentemente observados como “manchas de piche” nas fêmeas das lagostas-espinhosas (*Panulirus*) (RUPPERT & BARNES, 2005).

No que se refere à morfologia do aparelho reprodutor, vários autores fizeram descrições das gônadas dos Reptantia. Segundo Mclaughlin (1983), as gônadas são pares e se localizam no cefalotórax, dorsal ou lateralmente ao intestino e frequentemente estão rodeadas pelos cecos do intestino médio ou os lobos da glândula

digestiva (hepatopâncreas). Os ovários dos decápodos passam por mudanças em tamanho e coloração desde o seu desenvolvimento inicial até a maturidade, e por sucessivos ciclos de vitelogênese e oviposição (AIKEN & WADDY, 1980). Os peneídeos liberam seus ovos diretamente na água (ISMAEL & NEW, 2000).

O aparelho reprodutivo da fêmea de *P. echinatus* localiza-se na região dorsal e mediana do cefalotórax, consistindo de um par de ovários, em forma de H, unidos por uma comissura, com dois lobos anteriores e posteriores; os lobos posteriores diferem um pouco em comprimento, sendo o esquerdo geralmente maior. Os ovários iniciam abaixo do pedúnculo ocular e ladeiam o estômago. Avançam abaixo do coração e seguem contornando o intestino, alcançando o segundo segmento abdominal. Um curto ducto delgado e transparente, o oviduto, desemboca no gonóporo, que é uma abertura genital situada na base da coxa do quinto par de pereiópodos. Os ovários de *P. echinatus* alcançaram, no máximo, até o segundo segmento abdominal e ao longo do seu desenvolvimento alteram sua coloração, tamanho, volume na cavidade torácica e peso caracterizando cinco estádios macroscópicos (BARRETO *et al.*, 2008).

Huiling *et al.* (2009), ao estudar *Panulirus homarus* descrevem que os ovários tem forma de H e se posicionam dorsalmente ao aparelho digestivo, com coloração variando gradativamente de branco leite, laranja claro e laranja para rosa salmão e que o processo de ovogênese foi dividida em 4 fases: fase de multiplicação (oogônio); fase pré-vitelogênese; fase de vitelogênese e estágio de maturação.

Analisando cortes histológicos de ovários de *Panulirus echinatus*, Barreto *et al.* (2008), encontraram cinco estágios de maturação: imaturo (I), em desenvolvimento (II), pré-maturação (III), maturo (IV) e pós-desova (V). Os ovários de *Panulirus echinatus*, estão revestidos por tecido epitelial simples plano, com tecido conjuntivo abaixo do epitélio. No parênquima encontram-se folículos ovarianos onde estão as células

germinativas em diferentes estágios de maturação ovogônias, ovócitos I, ovócitos II e ovócitos maduros (SOARES, 2010).

Nakamura (1990) descreveu o desenvolvimento dos ovócitos de *P. japonicus* em três fases: fase de não vitelogênese, cujo citoplasma é basófilo; fase de vitelogênese primária, quando o citoplasma torna-se eosinófilo e vitelogênese secundária, onde ocorre grande quantidade de grânulos de vitelo eosinófilos.

O desenvolvimento das gônadas de uma espécie pode ser avaliado pela determinação do índice gonadossomático e hepatossomático. O hepatopâncreas é o maior centro de reservas em decápodos e essas reservas podem ser transferidas para as gônadas durante o seu desenvolvimento (CASTIGLIONI, 2006).

2.2. Hepatopâncreas

O hepatopâncreas recebe diferentes denominações como fígado, pâncreas, glândula do intestino médio, glândula gástrica, glândula digestiva, cecos anteriores, divertículo digestivo, órgão digestivo, glândula intestinal média e hepatopâncreas (GIBSON & BARKER, 1979). Este órgão, na maioria dos crustáceos, está associado ao intestino médio e apresenta diferentes níveis de complexidade dentre as espécies estudadas. Dentre os decápodos, o hepatopâncreas é particularmente bem desenvolvido e forma uma rede complexa de ductos e túbulos em fundo cego que ocupa a maior parte da cavidade cefalotorácica (GIBSON & BARKER, 1979).

Esta glândula consiste de duas metades que se dispõem uma de cada lado da linha horizontal média do corpo animal. Cada metade apresenta três lobos que são conectados separadamente ao estômago e intestino médio por um ducto primário, que se divide em ductos secundários em cada lóbulo. Os ductos secundários se ramificam amplamente em dúctulos, sendo que cada um termina em um complexo de túbulos em fundo cego (FACTOR, 1981; FRANCESCHINI-VICENTINI *et al.*, 2006).

O hepatopâncreas é morfológicamente similar na maioria dos decápodos (GIBSON & BARKER, 1979), Entretanto o hepatopâncreas do *Astacus astacus* não é um órgão compacto como nos demais decápodos. Este órgão está dividido em duas metades, que não se conectam (VOGT *et al.*, 1989). Os túbulos digestivos estão imersos e suportados em tecido conjuntivo constituído por fibras colágenas bem definidas, que apresentam uma variedade de estruturas características, incluindo sinusóides hemolinfáticos, células circulantes da hemolinfa e fibroblastos (FACTOR & NAAR, 1985; 1990; FRANCESCHINI-VICENTINI *et al.*, 2006).

Em crustáceos as concentrações de lipídios são bastante elevadas, apesar de não existir um tecido adiposo diferenciado, os principais locais de armazenamento de lipídios são o músculo e o hepatopâncreas (O'CONNOR & GILBERT 1968; CHANG & O'CONNOR 1983; HERREID & FULL 1988; KUCHARSKI & DA SILVA 1991). Herreid & Full (1988) verificaram que os níveis de lipídios no hepatopâncreas de braquiúros excediam em dez vezes os níveis de glicogênio. Os principais tecidos de reserva de glicogênio em crustáceos são o músculo, o hepatopâncreas, as brânquias e os hemócitos, porém o local de armazenamento deste polissacarídeo varia conforme a espécie (PARVATHY 1971; JOHNSTON & DAVIES; 1972; HERREID & FULL 1988).

O glicogênio armazenado é utilizado nos processos de muda, hipóxia e/ou anoxia, osmorregulação, crescimento, diferentes estágios de reprodução e durante períodos de jejum (CHANG & O'CONNOR, 1983; KUCHARSKI & DA SILVA, 1991; KUCHARSKI & DA SILVA, 1991; ROSA & NUNES, 2003a; OLIVEIRA *et al.*, 2001; 2004).

Diversos estudos têm demonstrado que durante períodos de grande demanda energética, como a muda e a gametogênese, ocorre uma marcante mobilização de

lipídios, principalmente aqueles presentes no hepatopâncreas. No caranguejo *Chasmagnathus granulata*, foi evidenciada uma variação sazonal dos níveis de lipídios musculares, sendo estes mais elevados no verão, porém os níveis de lipídios totais no hepatopâncreas somente diminuem no período reprodutivo (KUCHARSKI & DA SILVA, 1991).

O hepatopâncreas é uma glândula pertencente ao intestino médio que apresenta a função de metabolizar produtos de reserva energética (GARCIA *et al.*, 2002). Essa reserva é utilizada durante a maturação ovariana (MILLAMENA & PASCUAL, 1990; CAVALLI *et al.*, 2001). Desta forma o conhecimento das células hepatopancreáticas é importante para o entendimento do processo reprodutivo em camarões. Existem cinco tipos celulares que compõem o epitélio secretor do túbulo hepatopancreático, as quais se distribuem ao longo do comprimento destes túbulos, conforme foi descrito para os demais decápodos (AL-MOHANNA *et al.*, 1985; AL-MOHANNA & NOTT, 1989; JOHNSTON *et al.*, 1998; SOUZA & PETRIELLA, 2000; CORREA *et al.*, 2002), e para *Macrobrachium amazonicum* (FRANCESCHINI-VICENTINI *et al.*, 2006). Segundo Gunamalai *et al.* (2006), a síntese de estradiol e progesterona em crustáceos pode ocorrer nas células foliculares ovarianas, sendo os hormônios liberados na hemolinfa visando alcançar o hepatopâncreas, e então estimular a síntese de vitelo e o metabolismo de lipídios. As características morfológicas dos ovócitos e a correlação entre os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos ao longo do ciclo reprodutivo de *Macrobrachium amazonicum* indicam a presença de vitelogênese endógena e exógena (RIBEIRO, 2006).

Algumas modificações bioquímicas observadas na dinâmica e nos níveis de lipídios totais durante o ciclo reprodutivo, principalmente, no tecido das gônadas e hepatopâncreas foram analisadas em algumas espécies de crustáceos braquiúros

(PILLAY & NAIR, 1973) e em camarões (READ & CAULTON, 1980; CASTILLE & LAWRENCE, 1989; ROSA & NUNES, 2003a) sendo este último identificado como o maior centro de reservas orgânicas e inorgânicas em crustáceos decápodos (GIBSON & BARKER, 1979). Gibson & Barker (1979), verificaram ainda, um aumento do índice gonadossomático e uma diminuição no índice hepatossomático ao longo do ano. Rosa & Nunes (2003a) analisando duas espécies de camarões e uma espécie de lagosta, concluíram que as reservas orgânicas do hepatopâncreas seriam mobilizadas para o desenvolvimento do ovário.

O índice gonadossomático tem sido utilizado para determinar a sazonalidade dos ciclos reprodutivos das espécies (GRANT & TYLER, 1983) e padronizar o peso das gônadas para avaliar seus estágios de desenvolvimento. O índice hepatossomático vem sendo aplicado para verificar a relação de transferências das reservas do hepatopâncreas para a gônada durante o período de maturação. Esses índices, em investigações da biologia reprodutiva, constituem uma importante ferramenta na interpretação de mudanças biológicas durante o ciclo reprodutivo e vem sendo aplicados em pesquisas bioquímicas do metabolismo intermediário.

Rosa & Nunes (2003b) estudando *Aristeus antennatus* (RISSO, 1816), *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) e *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758), da costa de Portugal, verificaram um aumento marcante dos níveis de lipídios totais e de colesterol no tecido das gônadas, estando este aumento correlacionado com o grau de maturação dos ovários. Neste mesmo estudo, os autores constataram através da determinação do índice hepatossomático e gonadossomático, que o aumento do conteúdo de lipídios totais e de colesterol nos ovários não estava correlacionado a uma diminuição da reserva de gordura no tecido hepatossomático, sugerindo assim a dieta

como fonte de lipídios e o tecido muscular como fonte de colesterol para o desenvolvimento ovariano.

O músculo parece ser a principal fonte de proteínas nos crustáceos e, em decápodos os níveis de aminoácidos livres nos tecidos atingem valores dez vezes superiores que aqueles encontrados em vertebrados. Diversos trabalhos sugerem que estes aminoácidos estariam envolvidos nos processos de osmorregulação, estando principalmente ligados ao controle do volume celular (GILLES, 1982; CHANG & O'CONNOR, 1983). Alguns estudos mostram uma variação no conteúdo de proteínas durante o desenvolvimento ovariano de crustáceos, podendo resultar de um aumento na biossíntese de varias proteínas incluindo, hormônios, enzimas e lipoproteínas envolvidas com a maturação das gônadas (YEHEZKEL *et al.*, 2000; ROSA & NUNES, 2003a).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Caracterizar a morfologia, a histoquímica e a relação com os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos do hepatopâncreas e ovários de *Panulirus echinatus* durante o desenvolvimento reprodutivo.

3.2. Objetivos Específicos

- Analisar por meio de microscopia de luz os diferentes estágios de maturação ovocitária em *Panulirus echinatus*;
- Caracterizar por meio de microscopia de luz a organização do hepatopâncreas em fêmeas de *Panulirus echinatus*;
- Fazer análise histoquímica dos ovários e hepatopâncreas de *Panulirus echinatus*;
- Correlacionar as características morfológicas e histoquímicas com os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos de *Panulirus echinatus*;
- Verificar a influência do hepatopâncreas na vitelogênese de *Panulirus echinatus*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Descrição da Área de Coleta

A Praia de Tamandaré fica distante 120 km a sul da cidade do Recife, entre as latitudes 008° 45' 26,3"S, e longitudes 034° 06' 00,5"O. Tendo como limites ao norte com o município de Rio Formoso, ao sul com o município de São José da Coroa Grande, e a leste com Oceano Atlântico.

4.2. Coleta do Material

As amostras biológicas foram coletadas mensalmente, por um período de 12 meses entre os meses de março de 2011 a fevereiro de 2012, nas Praias de Carneiros em Tamandaré no município de Tamandaré, litoral Sul do Estado de Pernambuco.

4.3. Animais

Foram coletadas 165 fêmeas de *P. echinatus* capturadas utilizando-se redes de espera colocadas na área recifal e transportados em caixas de isopor com gelo até o Laboratório de Histologia do DMFA/UFRPE. No laboratório os animais foram pesados em uma balança eletrônica (BEL SSR600/ precisão de 0,001g) e mensurados com um paquímetro digital (precisão de 0,01 mm) quanto ao comprimento do animal. O hepatopâncreas, e as gônadas foram retirados para análise histológica.

4.4. Análises microscópicas

Para a realização da análise histológica pela microscopia de luz, as gônadas e os hepatopâncreas foram retirados através de uma abertura na região dorso-mediana do cefalotórax, pesados para verificação dos Índices Gonodossomáticos e Hepatossomáticos; fixados em formaldeído a 10% neutro em água do mar (do local da coleta) para inclusão em parafina e glutaraldeído a 4% para inclusão em historesina e processados pelos procedimentos de rotina nos Laboratórios de Histologia do DMFA/UFRPE e Laboratório de Microscopia do CENAPESQ/UFRPE. Após a inclusão em parafina o material foi cortado em micrótomo manual ajustado para 5µm. Os cortes foram corados pela técnica da Hematoxilina/Eosina e pelo Tricrômico de Gomori (TOLOSA, 2003). O material incluído em historesina foi cortado em micrótomo semiautomático ajustado para 3µm. Os cortes foram corados pela Hematoxilina/floxina, Ponceau de xilidina, PAS+Hematoxilina, Alcian Blue pH 2.5 e pH 0,5 e Sudan Black

(TOLOSA *et al.*, 2003; CERRI & SASSO-CERRI, 2003). Após as colorações, os cortes histológicos foram observados e fotografados em Microscópio Trinocular Nikon Eclipse 50i acoplado ao sistema de vídeo e captura VT 480.

Os índices gonadossomático e hepatossômático foram determinados segundo Grant & Tyler (1983), Vazzoler (1996) e Castiglioni (2006), pelas seguintes equações, $IG = (PG/PA) \times 100$ e $IH = (PH/PA) \times 100$, onde PG é o peso da gônada, PA é o peso do animal e PH é o peso do hepatopâncreas. Para os resultados dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos foi aplicada análise de centralidade e dispersão (média \pm desvio) utilizando o teste de análise de variância a um critério (one-way ANOVA), sendo utilizado o post-hoc de Tukey, quando observado uma diferença entre as médias amostrais. O nível de significância adotado foi de 5% e as análises estatísticas foram realizadas no programa GraphPad Software, Inc. ("GraphPad") InStat versão 2003.

REFERÊNCIAS

- AL-MOHANNA, S.Y.; NOTT, J.A.; LANE, D.J.W. M-“midget” cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan 1844 (Crustacea: Natantia). **Crustaceana**, v. 48. p. 260-268. 1985
- AL-MOHANNA, S.Y.; NOTT, J.D. Function cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. **Marine Biological**, v. 101. p. 535-544. 1989.
- BARRETO, A.V.; SILVA, J.R.F.; KATSURAGAWA, M.; RAPOSO, M.C.F. Desenvolvimento dos ovários da lagosta *Panulirus echinatus* (Crustacea: Palinuridae) baseados nas análises macroscópica, microscópica e relação gonadossomática (RGS) - **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 25 (4). p. 689–695. 2008.
- BRUNO W. GIRALDES, **Comunidade de Crustáceos Decápodos Infralitorâneos dos Recifes da Praia de Porto de Galinhas (PE)**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Oceanografia da UFPE, Recife, 2007.
- BRUSCA R.C.; BRUSCA G.J. **Invetebrados**, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007.
- CASTIGLIONI, D.S. **Biologia reprodutiva do lagostim *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Decapoda: Parastacidae) da Bacia do Rio Gravataí, Rio Grande do Sul** - Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
- CASTILLE, F.L.; LAWRENCE, A.L. Relationship between maturation and biochemical composition of the shrimps *Penaeus aztecus* and *Penaeus setiferus* (L.). **J. Crustacea Biology**. v. 9, p. 202-211. 1989.
- CAVALLI, R.O.; MONTAKAN, T.; LAVENS, P.; SORGELOOS, 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.
- CERRI, P.S.; SASSO-CERRI, E. Staining methods applied to glycol methacrylate embedded tissue sections. **Micron**. v. 34. p. 365–372. 2003.
- CHANG, E.S.; O'CONNOR, J.D. Metabolism and transport of carbohydrates and lipids. **The biology of Crustacea**, v. 5, p. 263-287. 1983.
- CHOY, S.C. Natural diet feeding habits of the crabs *Leocarcinus puber* and *L. hosatus* (Decapoda, Brachiura, portunidae). **Marine Ecology Progress Series**. v. 31. p. 87-99. 1986.
- CORRÊA JR, J.D.; FARINA, M.; ALLODI, S. Cytoarchitectural features of *Ucides Cordatus* (Crustacea: Decapoda) hepatopancreas: structure and elemental composition of electron-dense granules. **Tissue e Cell**, v. 34(5). p. 315-325. 2002.
- FACTOR, J.R. Development and metamorphosis of the digestive system of larval lobsters, *Homarus americanus* (Decapoda: Nephropidae). **Journal of Morphology**, v. 169. p. 225-242. 1981.

FACTOR, J.R.; E NAAR, M. The digestive system of the lobsters, *Homarus americanus*: 1. Connective tissue of the digestive gland. **Journal of Morphology**, v. 184. p. 311-321. 1985.

FACTOR, J.R.; NAAR, M. The digestive system of the lobsters, *Homarus americanus*: 2. Terminal arterioles of the digestive gland. **Journal of Morphology**, v. 206. p. 283-291. 1990.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G.H. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biology Chemical**. v. 226, p. 497-509, 1957.

FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; RIBEIRO, K.; PAPA, L.P.; MARQUES JUNIOR, J.; VICENTINI, C.A. Histoarchitectural features of the hepatopancreas of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, Alemanha. 2006.

GARCIA, F.; GONZÁLEZ-BARÓ M.; POLERO, R. Transfer of lipids between hemolymph and hepatopancreas in the shrimp *Macrobrachium borelli*. **Journal of General Physiology**. Online, Lipids. v. 37(6). p. 581-585. 2002.

GIBSON, R.; BARKER, P.L. The decapod hepatopancreas. **Oceanografic Marine Biology Annual Revision**, v. 17. p. 285-346. 1979.

GIBSON, R.; BARKER, P.L. The decapods hepatopancreas. **Oceanografic Marine Biology Annual Revision**. v. 17, p.285-346, 1979.

GILLES, R. Osmoregulatory processes in molluscs and crustacean from media with fluctuating salinity regime. **Boletim Fisiologia Animal, USP**. v. 6. p. 1-36. 1982.

GÓES, C.A.; LINS-OLIVEIRA, J.E. Natural diet of the spiny lobster, *Panulirus echinatus* Smith, 1869 (Crustacea: Decapoda: Palinuridae), from São Pedro and São Paulo Archipelago, Brazil. **Brazilian Journal Biology**. v. 69(1). p. 143-148. 2009.

GÓES, C.A.; CARVALHO, M., **Análise da distribuição de larvas de lagostas (CRUSTACEA: DECAPODA: PALINURIDAE) na costa do Nordeste do Brasil utilizando Sistema de Informações Geográficas**. Anais XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Goiânia, Brasil, 16-21 abril 2005, INPE, p. 2195-2202

GRANT, A.; TYLER, P.A. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. I. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices. **International Journal of Invertebrate Reproduction**, Amsterdam, v. 6, p. 259-269, 1983.

GUNAMALAI, V.; KIRUBAGARAN, R.; SUBRAMONIAM, T. Vertebrate steroids and the control of female reproduction in two decapod crustacean, *Emerita asiatica* and *Macrobrachium rosenbergii*. **Current Science**. v. 90. p. 119-123. 2006.

HERREID C.F.; Full, R.J. **Energetics and Locomotion**. In. BURGREN, W.W.; MCMAHON, B.R (Eds.), *Biology of the Land Crabs*, Cambridge University Press, Cambridge), p. 333-377. 1988.

HUILING, L. et. al, Ovary anatomy and histology in lobster *Panulirus homarus*. **Editorial Board of Journal of Fisheries Science** (Dalian). v.28: 7, p.387-390. 2009.

IBAMA. **Estatística da pesca**, Brasil – Grande Regiões e Unidades da Federação. Brasília – DF. p. 136, 2005.

ISMAEL, D; NEW, M.B. **Biology**. In: New, M.B.; Valenti, W.C. (eds). Freshwater Prawn Culture: The farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science, Osney:Mead, Oxford, England, p. 18-39. 2000.

JOHNSTON, D.S.; ALEXANDER, C.G. Epithelial cytology and function in the digestive gland of *Thenus orientalis* (Decapoda, Scyllaridae). **Journal Crustacean Biology**, v. 18(12). p. 271-278. 1998.

KROLL, R.M.; HAWKINS, W.E.; OVERSTREET, R.M. Reproductive Components. Microscopic Anatomy of Invertebrates. **Decapod Crustacea**, v. 10. p. 295-343. 1992.

KUCHARSKI, L.C.R; DA SILVA, R.S.M. Effect of diet composition on the carbohydrate and lipid metabolism in an estuarine crab, *C. granulata* (Dana, 1851). **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 99. p. 215–218.1991.

MILLAMENA, O.M.; PASCUAL, F.P. Tissue lipid content and fatty acid composition of *Peneaus monodon fabricus* broodstock from the wild. **Journal of the World Aquaculture Society**. 21:116-161. 1990.

NAGAMINE, C.M.; KNIGHT, A.W. Development, maturation and function of some sexually dimorphic structures of the Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Decapod, Palaemonidae). **Crustaceana**, v.39. p. 141-152. 1980.

O'CONNOR, J.D.; LAWRENCE, G.I. Aspects of lipid metabolism in crustaceans. **American zoologist**. v. 8, n. 3. p. 529-539. 1968.

OLIVEIRA, G.T.; EICHELER P.; ROSSI, I.C.; DA SILVA, R.S.M. Hepatopancreas gluconeogenesis during anoxia and post anoxia recovery in *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high- -protein or carbohydrate rich diets. **Journal of Experimental Zoology**, v. 301A. p. 240-248. 2004.

OLIVEIRA, G.T.; ROSSI, I.C.; DA SILVA, R.S.M. Carbohydrate metabolism during anoxia and post anoxia recovery in *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on ligh- ptotein or carbohydrate diets. **Marine Biology**, v. 139. p. 335-342. 2001.

PARVATHY, K. Glycogen storage in relation to the moult cycle in two crustaceans *Emerita asiatica* and *Ligia exotica*. **Marine Biology**. v. 10, p. 82– 86. 1971.

PILLAY, K.K.; NAIR, N.B. Observations on the biochemical changes in gonads and other organs of *Uca annulipes*, *Portunus pelagicus* and *Metapenaeus affinis* (Decapoda: Crustacea) during the reproductive cycle. **Marine Biology**. v.18. p. 167-198. 1973.

READ, G.H.I.; CAULTON, M.S. Changes in mass and chemical composition during the molt cycle and ovarian development in immature and mature *Penaeus indicus* Milne Edwards. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 66A, p. 431-437. 1980.

RIBEIRO, K. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal.** Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Aqüicultura da Unesp. 2006.

ROSA, R.; NUNES, M. L. Seasonal changes in nucleic acids, amino acids and protein content in juvenile Norway lobster (*Nephrops norvegicus*). **Marine Biology**. v. 143(3). p. 565-572. 2003.a.

ROSA, R.; NUNES, M. L. Changes in organ indices and lipid dynamics during the reproductive cycle of *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris*, and *Nephrops norvegicus* (DECAPODA) from the portuguese south coast. **Crustaceana**. v. 75(9), p. 1095-1105. 2003.b.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 7ª Edição, São Paulo. Ed. Rocca Ltda. 1122 P. 2005

SOARES, A.P. **Caracterização do ciclo de vitelogênese da lagosta pintada (*Panulirus echinatus*, Smith, 1869), do litoral sul de Pernambuco.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SOUZA, L.G; PETRIELLA, A.M. Histology of the hepatopancreas of the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus* (crustacean, caridea). **Biocell**. v. 24(3): p. 189-195. 2000.

TOLOSA, E.M.C.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O.A.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patologia**. Manole, São Paulo, 341P, 2003.

VAZZOLER, A.E.A. DE M. **Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e Prática**. CNPq e Nupelia (UEM), São Paulo, p. 169. 1996.

VOGT, G.; STOCKER, W.; ZWILLING, R. Biosynthesis of *Astacus* proteases: a digestive enzyme from crayfish. **Histochemistry**, v. 91. p. 373-381. 1989.

YEHEZKEL, G.; CHAYOTH, R., ABDU, U., KHALAILA, I., SAGI, A. High-density lipoprotein associated with secondary vitellogenesis in the hemolymph of the crayfish *Cherax quadricarinatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 127B, p. 411-421. 2000.

1. ARTIGO I

Relação dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos de *Panulirus echinatus* durante o desenvolvimento reprodutivo

Antônio Pedro Soares ⁽¹⁾ & Joaquim Evêncio-Neto ⁽²⁾

¹⁾Prof. Adjunto da Faculdade de Formação de Professores da Mata Sul (FAMASUL).

Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da UFRPE

E-mail: pedrohistologia@hotmail.com

⁽²⁾Prof. Dr. Associado do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal–UFRPE. E-

mail: evencio@dmfa.ufrpe.br

Resumo

Este trabalho teve como objetivo comparar os aspectos macroscópicos, microscópicos e relacionar com os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos nos diferentes estágios de maturação e vitelogênese de *P. echinatus* do litoral sul de Pernambuco. Após serem capturados, os animais foram eutanasiados por hipóxia, os ovários e hepatopâncreas foram coletados e pesados individualmente, fixados em formaldeído a 10% em água do mar para inclusão em parafina e em glutaraldeído à 4% para inclusão em historesina. Após as inclusões, os blocos foram cortados em micrótomos apropriados e ajustados para 5µm e 3µm, respectivamente, e corados em Hematoxilina/Eosina, Tricrômico de Gomori e Hematoxilina/Floxina. A análise macroscópica dos ovários em seus diferentes estágios maturacionais, mostrou que os mesmos apresentam forma da letra H e colorações variando de creme, amarelo e laranja. Nos meses de maio, junho, julho e agosto predominaram ovários com as cores creme e amarela, com um percentual menor de fêmeas ovadas e ovócitos em maturação. No entanto, nos meses de setembro, outubro, novembro, dezembro, janeiro e fevereiro a cor predominante dos ovários foi laranja, com um percentual elevado de fêmeas ovadas, presença de massa espermatofórica e ovócitos em maturação. O hepatopâncreas apresentou-se como um órgão maciço, friável, de coloração entre amarela, mostarda, marrom e tabaco. Revestido por tecido conjuntivo com parênquima formado por túbulos constituídos por epitélio pseudo-estratificado. As fêmeas ovadas com massa espermatofóricas, ovários de cor alaranjada e ovócitos maduros, apresentaram índices gonadossomáticos maiores que os índices hepatossomáticos em relação as fêmeas não ovadas, com ovários de coloração creme e amarela. Concluimos que: a espécie estudada, apresenta uma desova parcelada durante o ano inteiro, com pico reprodutivo no verão.

Termos para indexação: ciclo reprodutivo, hepatopâncreas, lagosta.

Summary

This study aimed to compare the macroscopic, microscopic aspects and relate to gonadosomáticos and hepatossomáticos indices at different stages of maturation and vitellogenesis of *P. echinatus* southern coast of Pernambuco. After being caught, the animals were euthanized by heat shock, the ovaries and hepatopancreas were collected and individually weighed, fixed in 10% formaldehyde in seawater and glutaraldehyde at 4 % for inclusion in paraffin and historesin, respectively. After the additions the blocks were cut into appropriate microtomes and adjusted to 5 μm and 3 μm , respectively, and stained with hematoxylin/eosin, Masson's trichrome and hematoxylin/Phloxine, The macroscopic examination of the ovaries at different stages maturational, it was found that showed the same shapes letter H and colorations ranging from cream, yellow and orange. In the months of May, June, July and August predominated ovaries with cream and yellow colors with a lower percentage of gravid females and maturing oocytes. However, in the months of September, October, November, December, January and February the predominant color of the ovaries was orange, with a high percentage of gravid females, presence of espermatoforic mass and maturing oocytes. The hepatopancreas was presented as massive body a, friable, color between yellow, mustard, brown and tobacco. Coated tissue formed by tubules with parenchyma composed of pseudostratified epithelium. In gravid females with espermatofóricas mass, ovaries of orange color and mature oocytes showed higher rates gonadosomatics that rates compared with females not ovate ovaries coloring cream and yellow. Conclude that the species studied, presents a fractional spawning throughout the year, with reproductive peak in summer.

Index terms: reproductive cycle, hepatopancreas, lobster.

Introdução

A família *Palinuridae* é formada por lagostas que habitam mares de águas tropicais e temperadas e compreende 49 espécies (PHILLIPS et al., 1980). Cerca de 30 espécies desta família têm valor comercial (WILLIAMS, 1988).

Segundo Melo (1999) e Fao (1991), *Panulirus echinatus* habita preferencialmente as cavidades dos recifes de corais e substratos rochosos, que vão desde as regiões mais costeiras até 35m, porém, preferencialmente, menos que 25m de profundidade e exige uma pesca mais direcionada para a sua captura.

Com uma produção média anual de 4.800 toneladas e uma receita média de US\$ 48,2 milhões, a lagosta representa, ainda hoje, um dos mais importantes recursos pesqueiros do nordeste, levando o país a se destacar como sétimo produtor mundial desse crustáceo. As duas principais espécies, que perfazem 95% da produção de lagostas da região, são a lagosta vermelha (*Panulirus argus*), com 75%, e a lagosta verde (*Panulirus laevicauda*), com 20%, ficando o restante representado pela lagosta-pintada (*Panulirus echinatus*) e por espécies da família *Scyllaridae* (*Scyllarus spp.*) (IBAMA, 2005).

Na IN n.º 206/08 ficou estabelecido o período de defeso das lagostas das espécies *P. argus* (lagosta vermelha) e *P. laevicauda* (lagosta cabo verde) proibindo, nas águas sob-jurisdição brasileira, o exercício da pesca, anualmente, no período de 01 de dezembro a 31 de maio. Não há gestão jurídica da pesca de *P. echinatus* devido à falta de informação biológica (SILVA et al., 2001; GÓES & LINS-OLIVEIRA, 2009).

A reprodução das lagostas ocorre por acasalamento emparelhado do macho com a fêmea, numa posição frontal, com a deposição da massa espermática sobre o esterno da fêmea. Os óvulos fecundados ficam aderidos à parte ventral do abdômen da fêmea, através dos pleópodos, característica responsável pela alta taxa de fertilização e que, em

parte, explica a grande capacidade de resistência das populações de lagostas à predação e à pesca. As pós-larvas planctônicas, com cerca de 1 ano de idade, são levadas para a zona costeira por correntes marinhas, onde assumem um habitat bentônico e se desenvolvem até atingir o estágio juvenil. Num processo de recrutamento desde as áreas costeiras até às áreas de pesca propriamente ditas, mais afastadas da costa e mais profundas, onde se tornam adultos e desenvolvem capacidade reprodutiva (LOURENÇO, 2006).

Segundo Berry & Heydorn (1970), Radha & Subramoniam (1985) e Martin et al. (1987), que estudaram as lagostas da família *Palinuridae*, os espermatozoides são transferidos através do espermatóforo, que é uma massa complexa consistindo de duas componentes: um tubo espermatofórico envolto em uma matriz acelular adesiva basal e uma matriz gelatinosa protetora. Estes autores concluíram que os espermatóforos são especializados para o transporte, manutenção e lançamento de espermatozoides e que as variações nas estruturas espermatofóricas refletem diferenças no mecanismo de fertilização dentro dos crustáceos.

Nas lagostas da família *Palinuridae*, durante o acasalamento, o macho transfere o espermatóforo sobre a superfície ventral das fêmeas, próximo à abertura do oviduto, portanto a fecundação é externa (BARRETO & KATSURAGAWA, 2008).

Huiling et al. (2009), observando *Panulirus homarus* mostrou que os ovários tem forma de H e que se posicionam dorsalmente ao aparelho digestivo, com coloração variando gradativamente de branco leite, laranja claro e laranja para rosa salmão e que o processo de ovogênese é dividido em 4 fases: fase de multiplicação (oogônio); fase pré-vitelogênese; fase de vitelogênese e estágio de maturação.

Nakamura (1990) descreveu o desenvolvimento dos ovócitos de *P. japonicus* em três fases e em seis estádios: fase de não vitelogênese, cujo citoplasma é basófilo; fase

de vitelogênese primária, quando o citoplasma torna-se eosinófilo e vitelogênese secundária, onde ocorre grande quantidade de grânulos de vitelo eosinófilos.

O desenvolvimento das gônadas de uma espécie pode ser avaliado pela determinação do índice gonadossomático e hepatossomático. O hepatopâncreas é o maior centro de reservas em decápodos e, essas reservas podem ser transferidas para as gônadas durante o seu desenvolvimento (CASTIGLIONI, 2006). O hepatopâncreas é uma glândula pertencente ao intestino médio que apresenta a função de metabolizar produtos de reserva energética (GARCIA et al., 2002). Essa reserva é utilizada durante a maturação ovariana (MILLAMENA & PASCUAL, 1990; CAVALLI et al., 2001). Desta forma o conhecimento das células hepatopancreáticas é importante para o entendimento do processo reprodutivo em crustáceos.

Segundo Gunamalai et al. (2006) a síntese de estradiol e progesterona em crustáceos pode ocorrer nas células foliculares ovarianas, sendo os hormônios liberados na hemolinfa visando alcançar o hepatopâncreas, e então estimular a síntese de vitelo e o metabolismo de lipídios.

As características morfológicas dos ovócitos e a correlação entre os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos ao longo do ciclo reprodutivo de *Macrobrachium amazonicum* indicam a presença de vitelogênese endógena e exógena (RIBEIRO, 2006).

O hepatopâncreas é morfológicamente similar na maioria dos decápodes (GIBSON & BARKER, 1979), apesar do número de lobos poderem variar nas diferentes espécies (ICELY & NOTT, 1992).

O hepatopâncreas é um órgão maciço, friável, de coloração amarelo-acastanhada, e está revestido por uma cápsula de tecido conjuntivo. Este órgão ocupa grande parte da cavidade cefalotorácica e está organizado em lobos direito e esquerdo. Cada lobo é constituído por uma série de túbulos secretores ou lóbulos

hepatopancreáticos que se iniciam em fundo cego, cujo 36lumens correm em direção à abertura do hepatopâncreas no estômago, denominada túbulo principal (RIBEIRO, 2006).

Este trabalho objetivou Comparar os aspectos macroscópicos e microscópicos do hepatopâncreas e gônadas e relacionar com os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos nos diferentes estágios de maturação e vitelogênese de *P. echinatus* do litoral sul de Pernambuco.

Material e Métodos

Foram coletados 165 animais por um período de 12 meses entre março de 2011 à fevereiro de 2012, na praia dos Carneiros e Tamandaré no município de Tamandaré - PE, Litoral Sul do Estado de Pernambuco. Os animais coletados foram identificados, fotografados, refrigerados e transportados para o laboratório de Histologia do DMFA/UFRPE. Onde foram medidos, pesados e tiveram suas gônadas e hepatopâncreas retirados através de uma abertura feita na região dorso-mediana do cefalotórax. As gônadas e o hepatopâncreas foram pesados individualmente para verificação dos Índices Gonadossomáticos e Hepatossomáticos; fixados em formaldeído a 10% neutro em água do mar (do local da coleta) para inclusão em parafina e em glutaraldeído a 4% para inclusão em historesina.

Após as inclusões os blocos foram cortados em micrótomos apropriados e ajustados para 5 μ m e 3 μ m, respectivamente. Os cortes foram corados em Hematoxilina/Eosina, Hematoxilina/Floxina, PAS+Hematoxilina, PAS+Alcian Blue pH 2.5 e Alcian blue pH 0,5 e Sudan Black. (TOLOSA et al., 2003; CERRI & SASSO-CERRI, 2003). Após as colorações os cortes histológicos foram observados em

microscópio de luz comum e fotografados em Microscópio Biológico Trinocular Nikon Eclipse 50i com videomicroscopia VT 480.

Os índices gonadossomático e hepatossomático foram determinados segundo Grant & Tyler (1983), Vazzoler (1996) e Castiglioni (2006), pelas seguintes equações, $IG = (PG/PA) \times 100$ e $IH = (PH/PA) \times 100$, onde PG é o peso da gônada, PA é o peso do animal e PH é o peso do hepatopâncreas. Para os resultados dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos foi aplicada análise de centralidade e dispersão (média \pm desvio) utilizando o teste de análise de variância a um critério (one-way ANOVA), sendo utilizado o post-hoc de Tuckey, quando observado uma diferença entre as médias amostrais. O nível de significância adotado foi de 5% e as análises estatísticas foram realizadas no programa GraphPad Software, Inc. ("GraphPad") InStat versão 2003.

Resultados e Discussões

Ao analisar os aspectos macroscópicos dos ovários em seus diferentes estágios maturacionais, verificou-se que os mesmos apresentaram formas da letra H e colorações variando de creme, amarelo e laranja. Resultados estes já verificados por Barreto et al. (2008) ao estudar *Panulirus echinatus* no litoral sul de PE e Huiling et al. (2009) estudando *P. homarus* (figura 1A).

Ao analisar macroscopicamente as fêmeas colhidas nos meses de maio, junho, julho e agosto, observou-se um percentual menor de fêmeas ovadas com óvulos fecundados aderidos ao abdômen através dos pleópodos. Os ovários apresentaram as cores creme e amarela, nos meses de junho e julho predominou a cor creme (figura 1B). Quando observados ao microscópico, os ovários apresentaram um percentual menor de ovócitos em maturação. No entanto, nos meses de setembro, outubro, novembro, dezembro, janeiro e fevereiro a cor predominante dos ovários foi laranja, apresentando

um percentual elevado de fêmeas ovadas, com presença de massa espermatofórica na região ventral do cefalotórax (figura 1B2 e 1B3). A análise microscópica registrou um percentual elevado de ovócitos em maturação. Estes resultados estão em acordo com os resultados descritos por Lourenço (2006).

Neste trabalho, foi verificado quatro estádios maturacionais: Desenvolvimento, pré-maturação, maturação e pós-desova (figura 2). Estes resultados confirmam os resultados encontrados por Soares (2010) e Barreto et al. (2008) quando estudaram ovários de *P. echinatus* e caracterizaram cinco estádios maturacionais: imaturo, desenvolvimento, pré-maturação, maturação e pós-desova. O estágio imaturo ocorre raramente na área recifal, local que foram coletados os animais desta pesquisa.

Quanto aos comprimentos totais dos animais, não verificamos diferenças significativas entre os tamanhos dos animais pesquisados (gráfico 1).

Ribeiro (2006), ao estudar os aspectos estruturais do hepatopâncreas, de *Macrobrachium amazonicum* afirma que é um órgão maciço friável de coloração amarelo-acastanhada, constituídos por uma série de túbulos revestidos por um epitélio pseudo-estratificado. Em *P. echinatus*, encontramos semelhança nesta organização estrutural, sendo que a coloração do hepatopâncreas variou entre amarela, mostarda, marrom e tabaco. Predominando as cores mostardas e marrons dependendo do período de coleta. Microscopicamente evidenciou-se um revestimento capsular de tecido conjuntivo emitindo septos para o interior do órgão, onde se encontrou um parênquima formado por túbulos constituídos por epitélio pseudo-estratificado que se apóia na membrana basal com vários tipos celulares: as células cilíndricas com borda em escova no ápice, núcleo grande e arredondado e citoplasma com intensa basofilia quando comparado a dos demais tipos celulares e células com formato globular com núcleo

basal achatado, apresentando vários vacúolos citoplasmáticos indicando o armazenamento de substâncias (figura 3).

Castiglioni (2006), afirma que o desenvolvimento das gônadas de uma espécie pode ser avaliado pela determinação do índice gonadossomático e hepatossomático e que o hepatopâncreas é o maior centro de reservas em decápodos e, essas reservas podem ser transferidas para as gônadas durante o seu desenvolvimento. Após análise estatística Barreto et al. (2008), concluíram que a Relação Gonadossomática pode ser utilizada como indicadora dos estádios maturacionais. Ao relacionarmos os caracteres macroscópicos, microscópicos com os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos, observamos que as fêmeas ovadas com massa espermatofóricas ou com vestígios de massa espermatofóricas apresentaram ovários de cor alaranjada e predominaram os ovócitos maduros. E que seus índices gonadossomáticos foram maiores que os índices hepatossomáticos em relação às fêmeas não ovadas com ovários de coloração creme e amarela. (gráfico 2).

Conclusão:

Baseados em nossos resultados concluímos que:

A *Panulirus echinatus* apresenta uma desova parcelada durante o ano inteiro. No entanto, no período da primavera entre setembro a novembro e do verão entre dezembro a março ocorre um pico reprodutivo. Haja vista, que no outono entre março e maio e no inverno entre junho a agosto os animais encontram-se armazenando reservas energéticas para reprodução.

Agradecimentos

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA/UFRPE- Pela acolhida e oportunidade

AO DMFA/ UFRPE pelo apoio e oportunidade.

A FAMASUL/AEMASUL pelo apoio.

A GRE mata sul/Palmares pelo apoio.

REFERÊNCIAS

BARRETO, A.V.; SILVA, J.R.F; KATSURAGAWA, M.; RAPOSO, M.C.F. Desenvolvimento dos ovários da lagosta *Panulirus echinatus* (Crustacea: Palinuridae) baseados nas análises macroscópica, microscópica e relação gonadossomática (RGS) - Revista Brasileira de Zoologia. v. 25 (4). p. 689–695. 2008.

BARRETO, A.V.; KATSURAGAWA, M. Estádios de desenvolvimento dos órgãos reprodutivos dos machos de *Panulirus echinatus* Smith (Decapoda: Palinuridae) Revista Brasileira de Zoologia. v. 25, n. 1, p. 74–82, Março, 2008

BERRY, P.F.; HEYDORN, A.E.F. A comparison of the spermatophoric masses and mechanisms of fertilization in Southern African spiny lobsters (Palinuridae). Investigational Report Division of Sea Fisheries South Africa. v.25, p. 1-18, 1970.

CASTIGLIONI, D.S. Biologia reprodutiva do lagostim *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Decapoda: Parastacidae) da Baía do Rio Gravataí, Rio Grande do Sul - Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

CAVALLI, R.O.; MONTAKAN, T.; LAVENS, P.; SORGELOOS, 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.

CERRI, P.S.; SASSO-CERRI, E. Staining methods applied to glycol methacrylate embedded tissue sections. **Micron**. v. 34. p. 365–372. 2003.

FAO. Western Central Atlantic Fisheries Commission (WECAFC). Comisión de Pesca para el Atlántico Centro-Occidental (COPACO). National reports and selected papers presented at the sixth session of the Working Party on Assessment of Marine Fishery Resources. FAO Fish. Rep. 1991.

GARCIA, F.; GONZÁLEZ-BARÓ M.; POLERO, R. Transfer of lipids between hemolymph and hepatopancreas in the shrimp *Macrobrachium borelli*. **Journal of General Physiology**. Online, Lipids. v. 37(6). p. 581-585. 2002.

GIBSON, R.; BARKER, P.L. The decapod hepatopancreas. *Oceanografic Marine. Biology Annual Revision*, v. 17. p.285-346, 1979.

GRANT, A.; TYLER, P.A.. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction.I. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, Amsterdam, v. 6. p. 259-269. 1983.

GUNAMALAI, V.; KIRUBAGARAN, R.; SUBRAMONIAM, T. Vertebrate steroids and the control of female reproduction in two decapod crustacean, *Emerita asiatica* and *Macrobrachium rosenbergii*. *Current Science*. v. 90. p. 119-123. 2006.

HUILING, L. et. al, Ovary anatomy and histology in lobster *Panulirus homarus*. *Editorial Board of Journal of Fisheries Science* (Dalian). v. 28: 7. p. 387-390. 2009.

IBAMA. Estatística da pesca, Brasil – Grande Regiões e Unidades da Federação. Brasília – DF. p. 136. 2005.

ICELY, J.D.; NOTT, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. *Microscopic Anatomy of Invertebrates: Decapod Crustacea*. v. 10. p.147-201. 1992.

LOURENÇO, J.A. **Desenvolvimento de juvenis recentes de lagosta espinhosa *Panulirus argus* (Latreille, 1804) (Crustacea, Decapoda, Palinuridae) submetidos a diferentes temperaturas em condições de laboratório.** Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, p. 147. 2006.

MARTIN, G.G.; HERZIG, C; NARIMATSU, G. Fine structure and histochemistry of the freshly extruded and hardened spermatophore of the spiny lobster, *Panulirus interruptus*. *Journal of Morphology*. v. 192. p. 237-246. 1987.

MELO, G.A.S. **Manual de identificação dos crustacea decapoda do litoral brasileiro: anomura, thalassinidea, palinuridea, astacitea.** São Paulo: PIÍade/FAPESP, 551p. 1999.

MILLAMENA, O.M.; PASCUAL, F.P. Tissue lipid content and fatty acid composition of *Peneaus monodon fabricus* broodstock from the wild . *Journal of the World Aquaculture Society*. v. 21. p. 116-161. 1990.

NAKAMURA, K. Maturation of the Spiny lobster *Panulirus japonicus*. *Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University*. v. 39. p. 129-135. 1990.

PHILLIPS, B. F.; COBB, J. S.; GEORGE, R. W. General Biology. In: COBB, J. S.; PHILLIPS, B. F. (ed.). *The Biology and Management of Lobsters: physiology and behavior*. V. 1. New York: **Academic Press**. p. 2-72. 1980.

RADHA, T.; SUBRAMONIAM, T. Origin and nature of spermatophoric mass of the spiny lobster *Panulirus homarus*. *Marine Biology*. v. 86, n.1, p.13-19

RIBEIRO, K. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as**

fases de maturação gonadal. Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Aquicultura da Unesp. 2006.

SOARES, A.P. **Caracterização do ciclo de vitelogênese da lagosta pintada (*Panulirus echinatus*, Smith, 1869), do litoral sul de Pernambuco.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SILVA, M.B.; CAMPOS, C.E.C.; TARGINO, S.G.; MELO, C.E.D.C.A. Aspectos populacionais da lagosta pintada *Panulirus echinatus* Smith, 1869 na Reserva Biológica do Atol das Rocas – **Brasil. Holo environ.** v. 1(2). p. 187-198. 2001.

TOLOSA, E.M.C.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O.A.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patologia.** Manole, São Paulo, 341p. 2003.

VAZZOLER, A.E.A. DE M. **Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e Prática.** CNPq e Nupelia (UEM), São Paulo, p. 169. 1996.

WILLIAMS, A.B. Lobster identification, world distribution and U.S. trade. **Marine Fisheries Review.** v. 48, n. 2, p. 1-36. 1988.

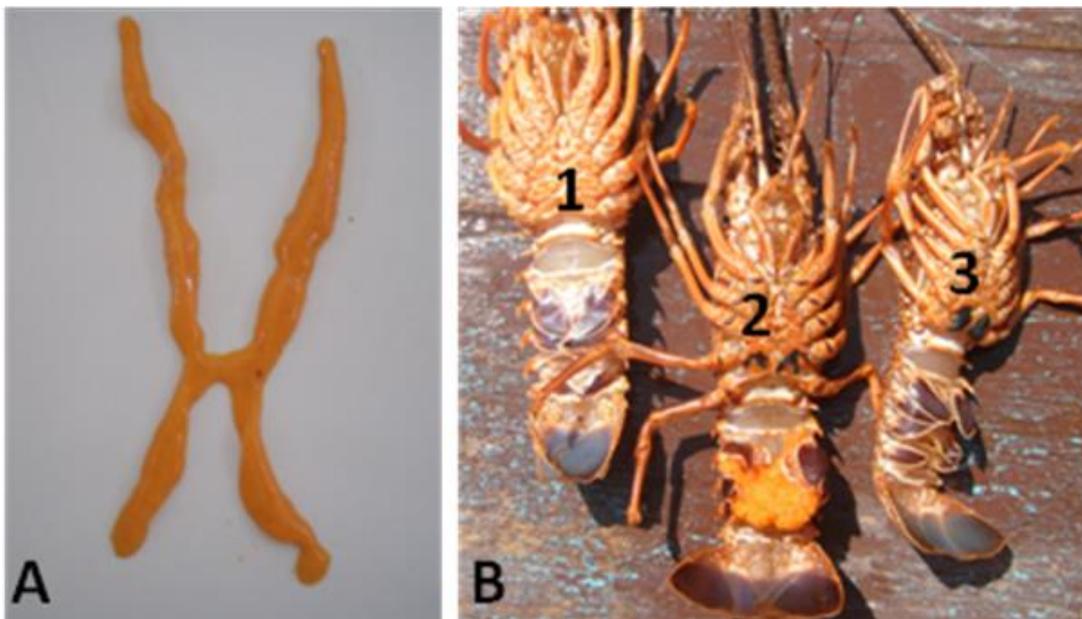


Figura 1: Foto macroscópica do ovário. A) Ovário em maturação de *P. echinatus*. B) Fêmeas de *P. echinatus* em diferentes estágios de maturação de desenvolvimento: 1- não ovada e sem massa espermatófera; 2- ovada e com resquícios de massa espermatófera; 3- não ovada e com massa espermatófera íntegra.

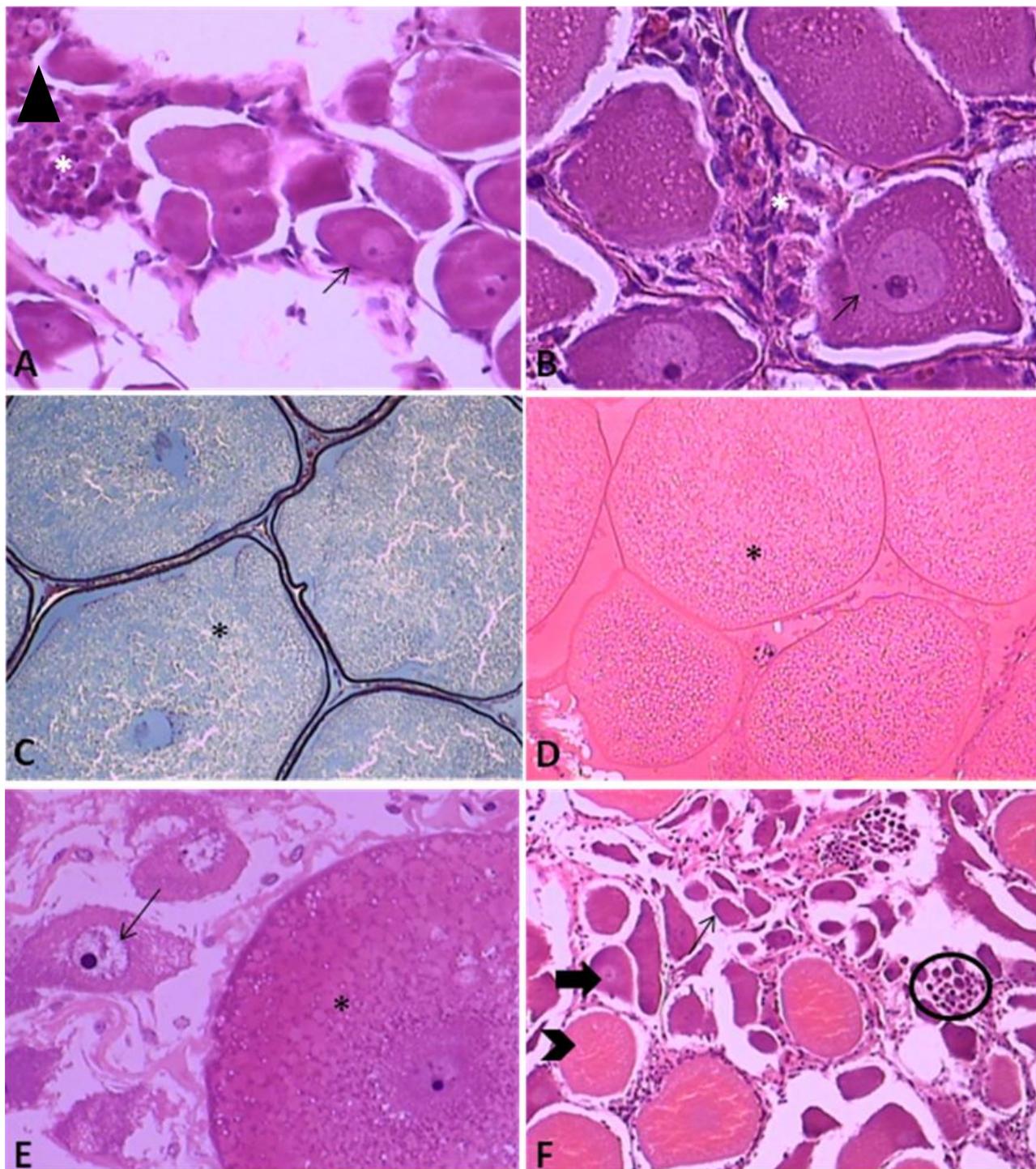
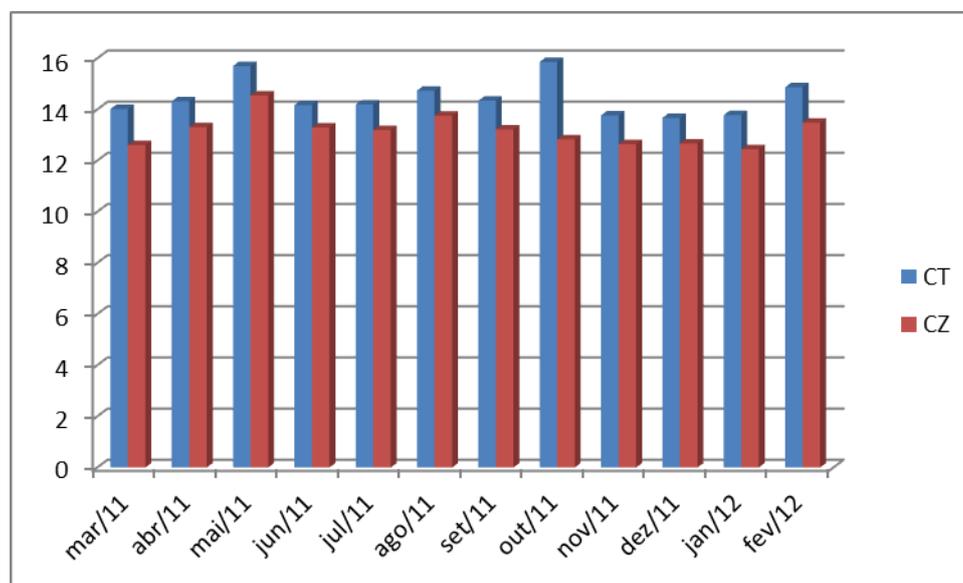


Figura 2: Fotomicrografia de ovário de *P. echinatus*. A) Ovário em desenvolvimento. Cabeça de seta: ovogônias; seta: ovócito II. 280x. HE. B) Ovário em pré-maturação, mostrando ovócito II (seta) e estroma conjuntivo (*). 560x. HE. C) Ovário em maturação com ovócito maduro (*). 140x. Tricrômico de Gomori. D) Ovário em maturação com ovócito maduro (*). 140x. HF. E) Ovário em maturação. Seta: ovócito II. (*) citoplasma do ovócito maduro. 280x. HF. F) Ovário em pós-desova. Circulo: ninho de ovogônias; seta: ovócito I; seta cheia: ovócito II; cabeça de seta: ovócito maduro. 140x. HE.

Gráfico 1: Comprimento total do animal e comprimento zoológico entre os meses março de 2011 e fevereiro de 2012, na praia de Tamandaré-PE.



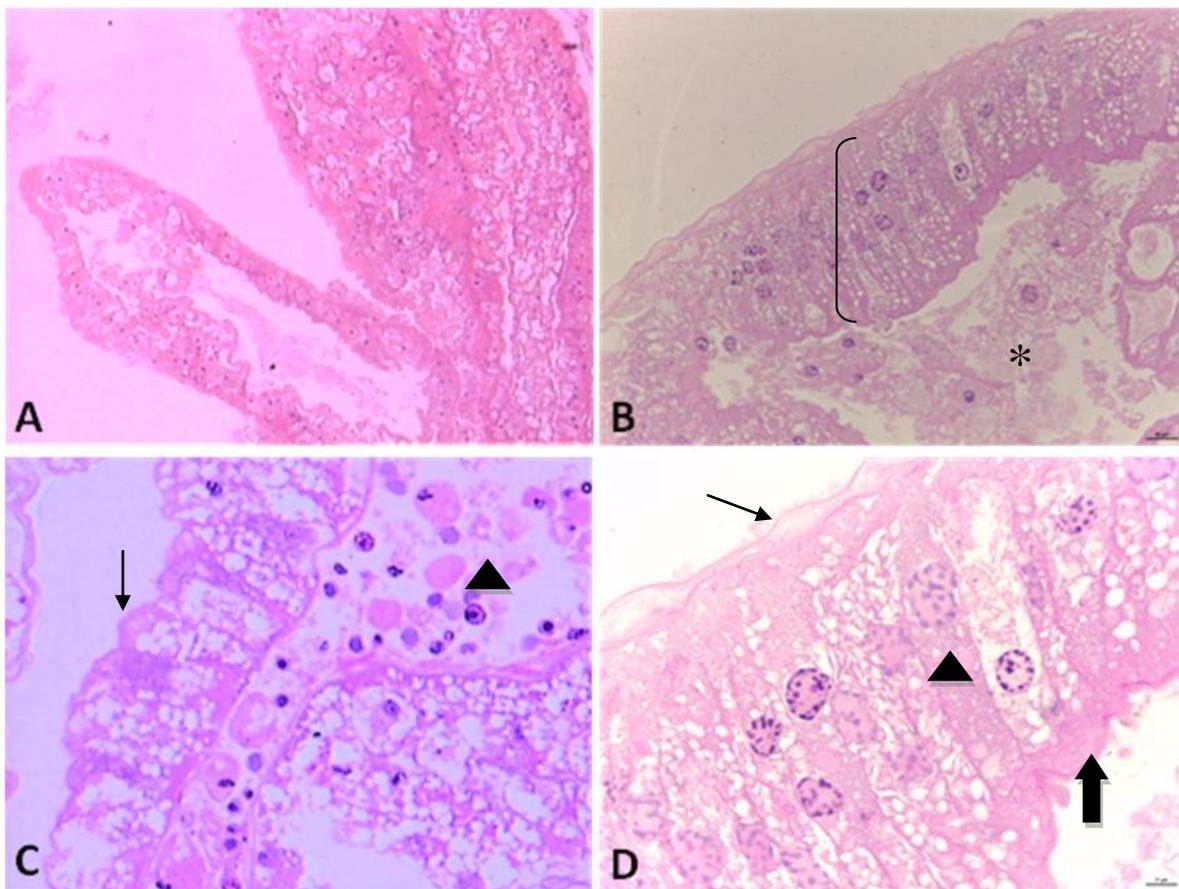
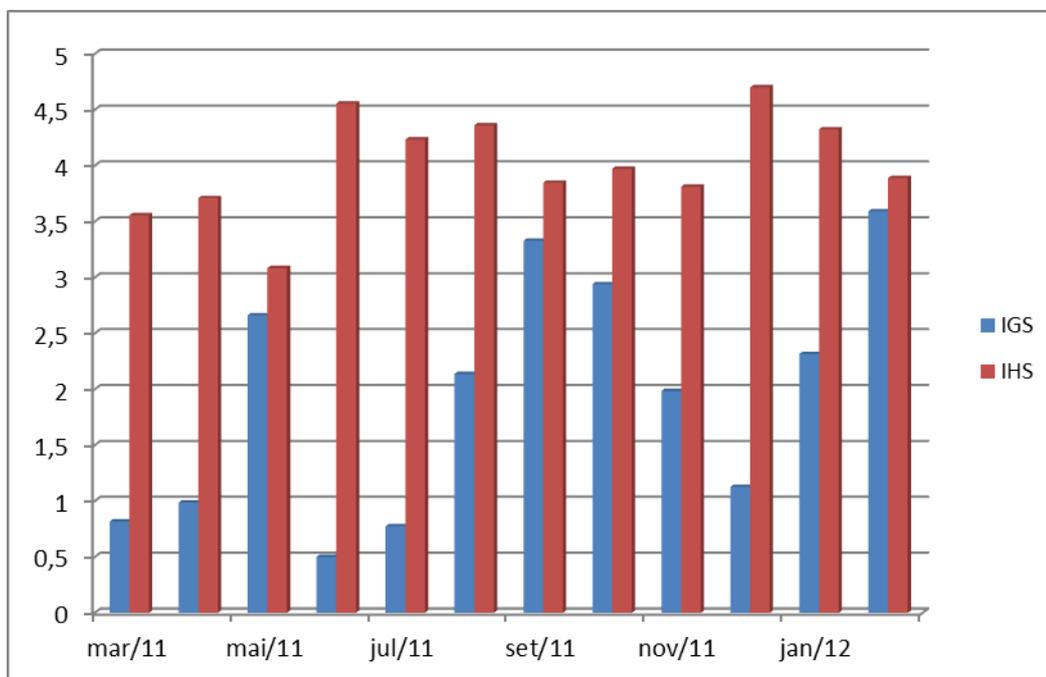


Figura 3. Fotomicrografias do hepatopâncreas de *P. echinatus* corados por HF. A) Fotomicrografia panorâmica mostrando os túbulos hepatopancreáticos. 40x. B) Fotomicrografia do epitélio pseudoestratificado (colchete) do túbulo hepatopancreático e luz com resíduo de secreções (*). 140x. C) Fotomicrografia do epitélio pseudoestratificado (seta) com tecido hemolinfático adjacente (cabeça de seta). 280x. D) Fotomicrografia do epitélio pseudoestratificado do túbulo hepatopancreático evidenciando a lâmina basal (seta), onde repousam células basais, células cilíndricas com citoplasma basófilo (cabeça de seta), vacúolos citoplasmáticos e borda em escova (seta cheia). 560x.

Tabela 1: Médias e desvio padrão dos Índices Gonodossomático e Hepatosomáticos de *P. echinatus* no período de marços de 2011 a fevereiro de 2012, oriundos da praia dos carneiros em Tamandaré-PE.

MESES	ÍNDICE	Nº ANIMAIS	MÉDIAS	DESVIO PADRÃO	MESES	ÍNDICE	Nº ANIMAIS	MÉDIAS	DESVIO PADRÃO
mar/11	IGS	20	0,817015	0,22205753	mar/11	IHS	20	3,556019	0,46350814
abr/11	IGS	10	0,9860586	0,05561837	abr/11	IHS	10	3,708897	0,64886789
mai/11	IGS	4	2,6607498	0,25373873	mai/11	IHS	4	3,083394	0,58045483
jun/11	IGS	15	0,4996964	0,22198732	jun/11	IHS	15	4,554579	0,61308411
jul/11	IGS	6	0,7741236	0,32063164	jul/11	IHS	6	4,233021	0,71697446
ago/11	IGS	5	2,1360442	1,7542607	ago/11	IHS	5	4,360036	0,65638302
set/11	IGS	15	3,3279021	1,52048739	set/11	IHS	15	3,846222	0,50667037
out/11	IGS	23	2,9388855	1,2606857	out/11	IHS	23	3,970738	0,48663857
nov/11	IGS	20	1,9842575	1,90263632	nov/11	IHS	20	3,810501	0,45261084
dez/11	IGS	16	1,1262075	1,25884364	dez/11	IHS	16	4,700057	0,56298879
jan/12	IGS	19	2,3143498	1,34132277	jan/12	IHS	19	4,324226	0,45216697
fev/12	IGS	12	3,591388	1,59962285	fev/12	IHS	12	3,888907	0,34763317

Gráfico 2: Médias dos Índices Gonodossomático e Hepatosomáticos de *P. echinatus* no período de marcos de 2011 a fevereiro de 2012, oriundos da praia dos carneiros em Tamandaré-PE.



ARTIGO II**Análise Histoquímica dos ovários e hepatopâncreas de *Panulirus echinatus* durante o período de maturação.**

Antônio Pedro Soares ⁽¹⁾, Joaquim Evêncio Neto ⁽²⁾

¹⁾Prof. Assistente, Faculdade de Formação de Professores da Mata Sul (FAMASUL).

Aluno do Doutorado em Ciências Veterinária da UFRPE

E-mail: pedrohistologia@hotmail.com

⁽²⁾Prof. Dr. Associado do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal–UFRPE.

E-mail: evencio@dmfa.ufrpe.br

Resumo - Este trabalho teve como objetivo identificar os componentes armazenados no vitelo em *P. echinatus* durante o período de maturação, através de métodos histoquímicos. Após serem capturados os animais foram eutanasiados por choque térmico, ovários e hepatopâncreas foram coletados e pesados individualmente, fixados em formaldeído a 10% em água do mar para inclusão em parafina e em glutaraldeído à 4% para inclusão em historesina. Após as inclusões os blocos foram cortados em micrótomos apropriados e ajustados para 5µm e 3µm respectivamente e corados em Hematoxilina/Eosina, Hematoxilina/Floxina, Ponceau de xilidina, PAS+Hematoxilina, Controle PAS, Alcian Blue pH 2.5 e pH 0,5 e Sudan Black. A análise histológica revelou três fases ovocitárias: não vitelogênica, cujo citoplasma é basófilo; fase de vitelogênese primária, quando o citoplasma torna-se eosinófilo e vitelogênese secundária, onde ocorre grande quantidade de grânulos de vitelo eosinófilos. Na análise histoquímica verificou-se ainda que nos ovócitos maduros o citoplasma é fortemente PAS positivo e presença de gotículas de lipídios positivas ao Sudan. No hepatopâncreas, observou-se a lâmina basal dos túbulos hepatopancreáticos positiva ao PAS e acúmulo de glicogênio no ápice das células colunares. Estes resultados indicam a presença de Mucopolissacarídeos neutros e lipídios armazenados nos ovócitos durante o período reprodutivo da espécie estudada.

Termos para indexação: ciclo reprodutivo, vitelogênese, lagosta.

Summary - This study aimed to identify the components stored in the calf in *P. echinatus* during maturation through immunohistochemical methods. After being caught, the animals were euthanized by heat shock, ovaries and hepatopancreas were collected and individually weighed, fixed in 10% formaldehyde in seawater for paraffin and glutaraldehyde at 4 % for inclusion in historesin. After the additions the blocks were cut into appropriate microtomes and adjusted to 5 µm or 3µm respectively and stained with hematoxylin/eosin, hematoxylin/Phloxine, of Ponceau xyloidine, PAS + hematoxylin, PAS Control, Alcian Blue pH 2.5 and pH 0, 5 and Sudan Black. Histological analysis revealed three phases ovocitárias: no vitellogenic, whose cytoplasm is basophil; primary vitellogenesis phase when the cytoplasm becomes eosinophilic and secondary vitellogenesis, where a large amount of yolk granules of eosinophils occurs. It was also found that the mature oocyte cytoplasm is strongly PAS-positive droplets and the presence of lipids positive for Sudan. In hepatopancreas, observed the basal lamina of the tubules hepatopancreáticos positive PAS and glycogen accumulation in the apex of the columnar cells. These results indicate the presence of mucopolysaccharides and neutral lipids stored in oocytes during the reproductive period of the species studied.

Index terms: reproductive cycle, vitellogenesis, lobster.

Introdução

A família *Palinuridae* é formada por lagostas que habitam mares de águas tropicais e temperadas e compreende 49 espécies (PHILLIPS et al., 1980). Cerca de 30 espécies desta família têm valor comercial (WILLIAMS, 1988).

Segundo Melo (1999) e Fao (1991), *Panulirus echinatus* habita preferencialmente as cavidades dos recifes de corais e substratos rochosos, que vão desde as regiões mais costeiras até 35m, porém preferencialmente menos que 25m de profundidade e exige uma pesca mais direcionada para a sua captura.

O aparelho reprodutivo da fêmea de *P. echinatus* localiza-se na região dorsal e mediana do cefalotórax, consistindo de um par de ovários, em forma de H, unidos por uma comissura, com dois lobos anteriores e posteriores; os lobos posteriores diferem um pouco em comprimento, sendo o esquerdo geralmente maior. Os ovários iniciam abaixo do pedúnculo ocular e ladeiam o estômago. Avançam abaixo do coração e seguem contornando o intestino, alcançando o segundo segmento abdominal. Um curto ducto delgado e transparente, o oviduto, desemboca no gonóporo, que é uma abertura genital situada na base da coxa do quinto par de pereiópodos. Os ovários de *P. echinatus* alcançaram, no máximo, até o segundo segmento abdominal e ao longo do seu desenvolvimento alteram sua coloração, tamanho, volume na cavidade torácica e peso caracterizando cinco estádios macroscópicos (BARRETO et al., 2008).

A reprodução das lagostas ocorre por acasalamento emparelhado do macho com a fêmea, numa posição frontal, com a deposição da massa espermatófera sobre o esterno da fêmea. Os óvulos fecundados ficam aderidos à parte ventral do abdômen da fêmea, através dos pleópodos, característica responsável pela alta taxa de fertilização e que, em parte, explica a grande capacidade de resistência das populações de lagostas à predação e à pesca. As pós-larvas planctônicas, com cerca de 1 ano de idade, são levadas para a

zona costeira por correntes marinhas, onde assumem um habitat bentônico e se desenvolvem até atingir o estágio juvenil. Num processo de recrutamento, desde as áreas costeiras em direção às áreas de pesca propriamente ditas, mais afastadas da costa e mais profundas, onde se tornam adultos e desenvolvem capacidade reprodutiva (LOURENÇO, 2006).

Segundo Berry & Heydorn (1970), Radha & Subramoniam (1985) e Martin et al. (1987) que estudaram as lagostas da família *Palinuridae*, os espermatozoides são transferidos através do espermatóforo, que é uma massa complexa consistindo de três componentes: um tubo espermatofórico envolto em uma matriz acelular adesiva basal e uma matriz gelatinosa protetora. Estes autores concluíram que os espermatóforos são especializados para o transporte, manutenção e lançamento de espermatozoides e que as variações nas estruturas espermatofóricas refletem diferenças no mecanismo de fertilização dentro dos crustáceos.

Huiling et al. (2009), observando *Panulirus homarus* mostrou que os ovários tem forma de H e que se posicionam dorsalmente ao aparelho digestivo, com coloração variando gradativamente de branco leite, laranja claro e laranja para rosa salmão e que o processo de ovogênese é dividido em 4 fases: fase de multiplicação (ovogônia); fase pré-vitelogênese; fase de vitelogênese e estágio de maturação.

Charniaux-Cotton & Payen (1988), descreveu a vitelogênese primária e secundária a partir do desenvolvimento do retículo endoplasmático rugoso e acúmulo de glicoproteínas endógenas em seu interior.

De acordo com a revisão de Harrison (1990) para crustáceos decápodes, a vitelogênese inclui ainda, a produção da substância precursora do vitelo (vitelogenina), a principal lipoproteína do vitelo (lipovitelina), e acúmulo tanto de substâncias orgânicas como inorgânicas constituintes do vitelo. O mesmo autor identificou nesse

processo dois estágios: primário e secundário. Estes correspondendo às fontes endógena (intraoplásmica) e exógena (extraovariana), respectivamente da proteína do vitelo (SANTANA, 2005).

Santana (2005) estudando ovário de Camarão (*Farfantepenaeus subtilis*) descreveu os seguintes estágios das células da linhagem germinativa: oogônias, oócitos em pré-vitelogênese inicial, ovócitos em pré-vitelogênese final, ovócitos vitelogênicos e ovócitos maduros. E concluiu que estes tipos celulares apresentaram características próprias nos diferentes estágios de maturação. E que as análises histoquímicas evidenciaram mudanças nos componentes citoplasmáticos à medida que as células amadurecem.

Nakamura (1990) descreveu o desenvolvimento dos ovócitos de *P. japonicus* em três fases e em seis estádios: fase de não vitelogênese, cujo citoplasma é basófilo; fase de vitelogênese primária, quando o citoplasma torna-se eosinófilo e vitelogênese secundária, onde ocorre grande quantidade de grânulos de vitelo eosinófilos.

O desenvolvimento das gônadas de uma espécie pode ser avaliado pela determinação do índice gonadossomático e hepatossomático. O hepatopâncreas é o maior centro de reservas em decápodos e, essas reservas podem ser transferidas para as gônadas durante o seu desenvolvimento (CASTIGLIONI, 2006). O hepatopâncreas é uma glândula pertencente ao intestino médio que apresenta a função de metabolizar produtos de reserva energética (GARCIA et al., 2002). Essa reserva é utilizada durante a maturação ovariana (MILLAMENA & PASCUAL, 1990; CAVALLI et al., 2001). Desta forma o conhecimento das células hepatopancreáticas é importante para o entendimento do processo reprodutivo em crustáceos.

Segundo Gunamalai et al. (2006), a síntese de estradiol e progesterona em crustáceos pode ocorrer nas células foliculares ovarianas, sendo os hormônios liberados

na hemolinfa visando alcançar o hepatopâncreas, e então estimular a síntese de vitelo e o metabolismo de lipídios.

As características morfológicas dos ovócitos e a correlação entre os índices gonadossomáticos e hepatossomáticos ao longo do ciclo reprodutivo de *Macrobrachium amazonicum* indicam a presença de vitelogênese endógena e exógena (RIBEIRO, 2006).

O hepatopâncreas é morfológicamente similar na maioria dos decápodes (GIBSON & BARKER, 1979), apesar do número de lobos poderem variar nas diferentes espécies (ICELY & NOTT, 1992).

O hepatopâncreas é um órgão maciço, friável, de coloração amarelo-acastanhada, e está revestido por uma cápsula de tecido conjuntivo. Este órgão ocupa grande parte da cavidade cefalotorácica e está organizado em lobos direito e esquerdo. Cada lobo é constituído por uma série de túbulos secretores ou lóbulos hepatopancreáticos que se iniciam em fundo cego, cujo lúmen corre em direção à abertura do hepatopâncreas no estômago, denominada túbulo principal (RIBEIRO, 2006).

Na IN n.º 206/08 ficou estabelecido o período de defeso das lagostas das espécies *P. argus* (lagosta vermelha) e *P. laevicauda* (lagosta cabo verde) proibindo, nas águas sob jurisdição brasileira, o exercício da pesca, anualmente, no período de 01 de dezembro a 31 de maio. Não há gestão jurídica da pesca de *Panulirus echinatus* devido à falta de informação biológica (SILVA et al., 2001; GÓES & LINS-OLIVEIRA, 2009). Este trabalho teve como objetivo identificar os componentes armazenados no vitelo em *P. echinatus* do litoral sul de Pernambuco através de métodos histoquímicos.

Material e Métodos

Foram coletados 165 fêmeas entre os meses de março de 2011 à fevereiro de 2012, na praia dos carneiros e Tamandaré no município de Tamandaré -PE, Litoral Sul do Estado de Pernambuco. Os animais coletados foram armazenados em isopor com gelo e transportados para os Laboratórios de Histologia do DMFA/UFRPE. Onde foram identificados, medidos, pesados e retirados suas gônadas e hepatopâncreas através de uma abertura feita na região dorso-mediana do cefalotórax. As gônadas e hepatopâncreas foram pesados individualmente para verificação dos Índices Gonadossomáticos e Hepatossomáticos; fixados em formaldeído a 10% neutro em água do mar (do local da coleta) para inclusão em parafina e em glutaraldeído a 4% para inclusão em historresina.

Após as inclusões os blocos foram cortados em micrótomos apropriados e ajustados para 5 μ m e 3 μ m, respectivamente. Os cortes foram corados em Hematoxilina/Eosina, Hematoxilina/Floxina, Ponceau de xilidina, PAS+Hematoxilina, Alcian Blue pH 2.5 e pH 0,5 e Sudan Black (Tolosa et al., 2003; Cerri & Sasso-Cerri, 2003). Após as colorações os cortes histológicos foram observados em microscópio de luz comum e fotografados em Microscópio Biológico Trinocular Nikon Eclipse 50i com videomicroscopia VT 480.

Os índices gonadossomático e hepatossomático foram determinados segundo Grant & Tyler (1983), Vazzoler (1996) e Castiglioni (2006), pelas seguintes equações, $IG = (PG/PA) \times 100$ e $IH = (PH/PA) \times 100$, onde PG é o peso da gônada, PA é o peso do animal e PH é o peso do hepatopâncreas. Para os resultados dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos foi aplicada análise de centralidade e dispersão (média \pm desvio) utilizando o teste de análise de variância a um critério (one-way ANOVA), sendo utilizado o post-hoc de Tukey, quando observado uma diferença entre

as médias amostrais. O nível de significância adotado foi de 5% e as análises estatísticas foram realizadas no programa GraphPad Software, Inc. ("GraphPad") InStat versão 2003.

Resultados e Discussões

A análise histológica revelou três fases ovocitárias: não vitelogênese, cujo citoplasma é basófilo; fase de vitelogênese primária, quando o citoplasma torna-se eosinófilo e vitelogênese secundária, onde ocorre grande quantidade de grânulos de vitelo eosinófilos (figuras 1A; 1B; 1C; 1D). Estando de acordo com os resultados encontrados por Nakamura (1990) ao descrever o desenvolvimento dos ovócitos de *P. japonicus*.

Analisando ovócitos em maturação cortados em parafina, quando submetidos ao Periodic Acid-Schiff (PAS), o citoplasma apresentou-se fortemente PAS positivo (figura 2A), já nos cortes em historresina, apenas parte dos grânulos de vitelo apresentaram reação positiva ao PAS, indicativo da presença de polissacarídeos neutros associados a proteínas. Figura (2B). Nos cortes por historresina corados pelo Alcian Blue pH 2,5, os grânulos de vitelo dos ovócitos maduros, não apresentaram reação positiva para polissacarídeos ácidos carboxilados (figura 2C). Quando submetidos estes ovócitos ao corante de Alcian blue pH 0,5, ouve ligeira reação em alguns grânulos de vitelo, indicando a presença de polissacarídeos sulfatados também associados a proteínas (figura 2D). Os grânulos de vitelo dos ovócitos apresentaram forte coloração alaranjada quando corados pelo Ponceau de xilidina indicativo da presença de proteínas inespecíficas, provavelmente vitelogenina conforme, Harrison (1990) (figura 2E). Cerri, & Sasso-Cerri (2003) obtiveram bons resultados utilizando Sudan Black com inclusão em historresina e Harrison (1990) ao estudar crustáceo decápoda descreveu que o vitelo

apresentava como principal proteína a lipovitelina. Neste trabalho, adaptou-se esta técnica e observamos os grânulos de vitelo na periferia dos ovócitos em maturação. Indicativo de lipoproteínas armazenada para reprodução (figura 2F).

No hepatopâncreas, observou-se a lâmina basal do epitélio pseudoestratificado dos túbulos hepatopancreáticos positiva ao PAS; acúmulo de glicogênio no ápice das células colunares e borda em escova também positiva ao PAS características da presença de microvilosidades das células absorptivas deste órgão (figura 3).

Gunamalai et al. (2006), afirmam que a síntese de estradiol e progesterona em crustáceos pode ocorrer nas células foliculares ovarianas, sendo os hormônios liberados na hemolinfa visando alcançar o hepatopâncreas, e então estimular a síntese de vitelo e o metabolismo de lipídios. e Ribeiro (2006) estudando *Macrobrachium amazonicum*, cita a correlação dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos na vitelogênese exógena. Castiglioni (2006) estudando a Biologia reprodutiva do lagostim (*Parastacus varicosus*) da Bacia do Rio Gravataí – Rio Grande do Sul, verificou um aumento do índice gonadossomático e uma diminuição do índice hepatossomático, no período de passagem da primavera para o verão indicando uma maior atividade reprodutiva no verão e uma possível transferência das reservas do hepatopâncreas para a gônada nesse período e Barreto et.al. (2008) afirmam que a relação gonadossomática pode ser utilizada como indicadora dos estádios de maturação,

Baseados nas médias dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos encontrados neste trabalho (tabela 01) verificou-se que em *P.echinatus*, os animais com gônadas em desenvolvimento, pré-maturação e em desova apresentaram os menores índices gonadossomáticos e os que estavam com as gônadas em maturação os maiores índices. Houve diferença estatística? Em relação aos índices hepatossomáticos, ocorreu o inverso, os animais com gônadas em maturação apresentaram os menores índices,

enquanto os animais em desenvolvimento, pré-maturação e pós-desova, apresentaram os maiores índices. (gráfico 1) Apesar de se tratar de espécies diferentes e de terem habitat diferentes, os resultados indicam existir uma correlação entre os ovários e hepatopâncreas no processo de vitelogênese exógena. Já que a vitelogênese endógena é de responsabilidade das células foliculares.

Conclusões

Conclui-se que:

A presença de polissacarídeos neutros associados a proteínas e lipoproteínas encontrados nos ovócitos maduros de *P.echinatus* indicam reserva energética para o período reprodutivo.

A presença de borda em escova PAS positiva em células do epitélio pseudo estratificado dos túbulos hepatopancreáticos indicam uma característica absorptiva deste órgão no processo de vitelogênese.

Os resultados índices gonadossomáticos e hepatossomáticos indicam uma possível transferência de vitelo do hepatopâncreas para os ovócitos no período de reprodução da espécie estudada.

Agradecimentos

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA/UFRPE- Pela acolhida e oportunidade

AO DMFA/ UFRPE pelo apoio e oportunidade.

A FAMASUL/AEMASUL pelo apoio.

A GRE mata sul/Palmares pelo apoio.

REFERÊNCIAS

- BARRETO, A.V.; SILVA, J.R.F.; KATSURAGAWA, M.; RAPOSO, M.C.F. Desenvolvimento dos ovários da lagosta *Panulirus echinatus* (Crustacea: Palinuridae) baseados nas análises macroscópica, microscópica e relação gonadossomática (RGS) - **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 25 (4). p. 689–695. 2008.
- BARRETO, A.V.; KATSURAGAWA, M. Estádios de desenvolvimento dos órgãos reprodutivos dos machos de *Panulirus echinatus* Smith (Decapoda: Palinuridae) **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 25, n. 1, p. 74–82, Março, 2008
- BERRY, P.F.; HEYDORN, A.E.F. A comparison of the spermatophoric masses and mechanisms of fertilization in Southern African spiny lobsters (Palinuridae). **Investigational Report Division of Sea Fisheries South Africa**. v.25, p. 1-18, 1970.
- CASTIGLIONI, D.S. **Biologia reprodutiva do lagostim *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Decapoda: Parastacidae) da Bacia do Rio Gravataí, Rio Grande do Sul** - Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
- CAVALLI, R.O.; MONTAKAN, T.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P. Variatons in lipid classes and fatty acid content in tissues of wild *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) females during maturation. **Aquaculture**, 193:311-324. 2001.
- CERRI, P.S.; SASSO-CERRI, E. Staining methods applied to glycol methacrylate embedded tissue sections, **Micron**. v. 34. p. 365–372.2003.
- CHARNIAUX-COTTON, H.; PAYEN, G. **Crustacean Reproduction**. In: LAUFER, H.; DOWNER, R.G.H. Invertebrate Endocrinology: Endocrinology of Selected Invertebrate Types. New York: Alan R. Liss. v. 2. p. 279-303. 1988.
- FAO. Western Central Atlantic Fisheries Commission (WECAFC). Comisión de Pesca para el Atlantico Centro-Occidental (COPACO). National reports and selected papers presented at the sixth session of the Working Party on Assessment of Marine Fishery Resources. FAO Fish. Rep. 1991.
- GARCIA, F.; GONZÁLEZ-BARÓ M.; POLERO, R. Transfer of lipids between hemolymph andhepatopancreas in the shrimp *Macrobrachium borelli*. **Journal of General Physiology**. Online, Lipids. v. 37(6). p. 581-585. 2002.
- GÓES, C.A.; LINS-OLIVEIRA, J.E. Natural diet of the spiny lobster, *Panulirus echinatus* Smith, 1869 (Crustacea: Decapoda: Palinuridae), from São Pedro and São Paulo Archipelago, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 69(1). p. 143-148. 2009.
- GIBSON, R.; BARKER, P.L. The decapod hepatopancreas. **Oceanografic Marine. Biology Annual Revision**, v. 17, p.285-346, 1979.
- GRANT, A.; TYLER, P.A. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction.I. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices. **International Journal of Invertebrate Reproduction**, Amsterdam, v. 6. p. 259-269.

GUNAMALAI, V.; KIRUBAGARAN, R.; SUBRAMONIAM, T. Vertebrate steroids and the control of female reproduction in two decapod crustacean, *Emerita asiatica* and *Macrobrachium rosenbergii*. **Current Science**. v. 90. p. 119-123. 2006.

HARRISON, K. E. The Role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustacean: a review. **Journal Shellfish. Research**. v. 9 (9). p. 1-28. 1990.

HUILING, L. et. al, Ovary anatomy and histology in lobster *Panulirus homarus*. **Editorial Board of Journal of Fisheries Science** (Dalian). v. 28: 7. p. 387-390. 2009.

IBAMA. Estatística da pesca, Brasil – Grande Regiões e Unidades da Federação. Brasília – DF. p. 136, 2005.

ICELY, J.D.; NOTT, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. **Microscopic Anatomy of Invertebrates. Decapod Crustacea**, v. 10. p.147-201. 1992.

LOURENÇO, J.A. Desenvolvimento de juvenis recentes de lagosta espinhosa *Panulirus argus* (Latreille, 1804) (Crustacea, Decapoda, Palinuridae) submetidos a diferentes temperaturas em condições de laboratório. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, p. 147. 2006.

MARTIN, G.G.; HERZIG, C; NARIMATSU, G. Fine structure and histochemistry of the freshly extruded and hardened spermatophore of the spiny lobster, *Panulirus interruptus*. **Journal of Morphology**. v. 192. p. 237-246.1987.

MELO, G. A. S. Manual de identificação dos crustacea decapoda do litoral brasileiro: *anomura*, *thalassinidea*, *palinuridea*, *astacitea*. São Paulo: Plíade/FAPESP, 551p. 1999.

MILLAMENA, O.M.; PASCUAL, F.P. Tissue lipid content and fatty acid composition of *Peneaus monodon fabricus* broodstock from the wild . **Journal of the World Aquaculture Society**. v. 21. p. 116-161. 1990.

NAKAMURA, K. Maturation of the Spiny lobster *Panulirus japonicus*. **Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University**. v. 39. p. 129-135. 1990.

PHILLIPS, B. F.; COBB, J. S.; GEORGE, R. W. General Biology. In: COBB, J. S.; PHILLIPS, B. F. (ed.). The Biology and Management of Lobsters: physiology and behavior. New York: **Academic Press**. v. 1. p. 2-72. 1980.

RADHA, T.; SUBRAMONIAM, T. Origin and nature of spermatophoric mass of the spiny lobster *Panulirus homarus*. **Marine Biology**. v. 86, n.1, p.13-19. 1985.

RIBEIRO, K. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal**. Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Aqüicultura da Unesp. 2006.

SANTANA, I.C.H. **Estudo Morfológico do Sistema Reprodutor Feminino do Camarão Farfantepenaeus subtilis (Pérez-Farfante, 1967), do Litoral Cearense.** Dissertação submetida à coordenação do Curso de Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará. 2005.

SOARES, A.P. **Caracterização do ciclo de vitelogênese da lagosta pintada (*Panulirus echinatus*, Smith, 1869), do litoral sul de Pernambuco.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SILVA, M.B.; CAMPOS, C.E.C.; TARGINO, S.G.; MELO, C.E.D.C.A. Aspectos populacionais da lagosta pintada *Panulirus echinatus* Smith, 1869 na Reserva Biológica do Atol das Rocas – Brasil. **Holos environ.** v. 1(2). p. 187- 198. 2001.

TOLOSA, E.M.C.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O.A.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patologia.** Manole, São Paulo, 341p, 2003.

VAZZOLER, A.E.A. DE M. **Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e Prática.** CNPq e Nupelia (UEM), São Paulo. p. 169. 1996.

WILLIAMS, A. B. Lobster identification, world distribution and U.S. trade. **Marine Fisheries Review.** v. 48, n. 2, p. 1 - 36, 1988.

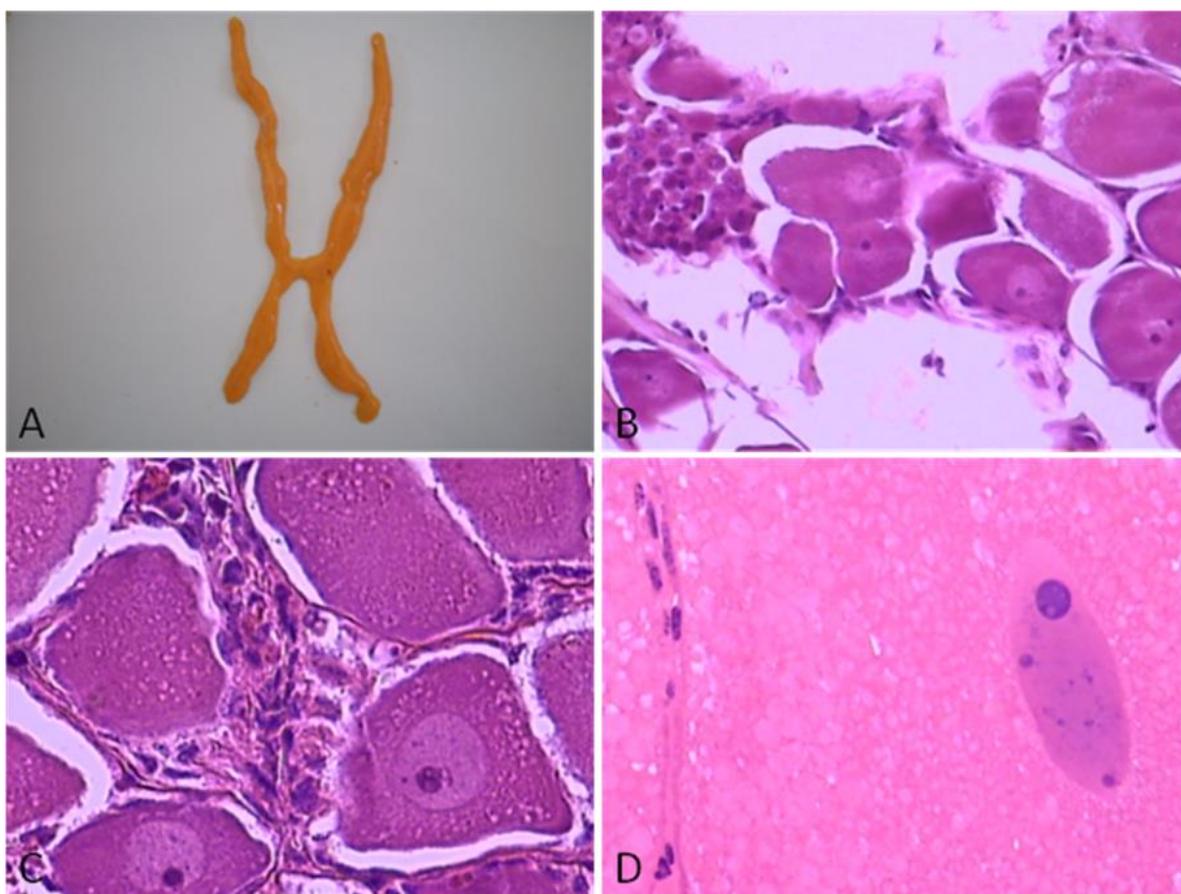


Figura 1. A) Foto macroscópica de ovário maduro de *P. echinatus*. B) Fotomicrografia de ovócitos em fase não vitelogênica. 140x. HE. C) Fotomicrografia de ovócitos em fase de vitelogênese primária. 280x. HE. D) Fotomicrografia de ovócitos em fase de vitelogênese secundária. 560x. HF.

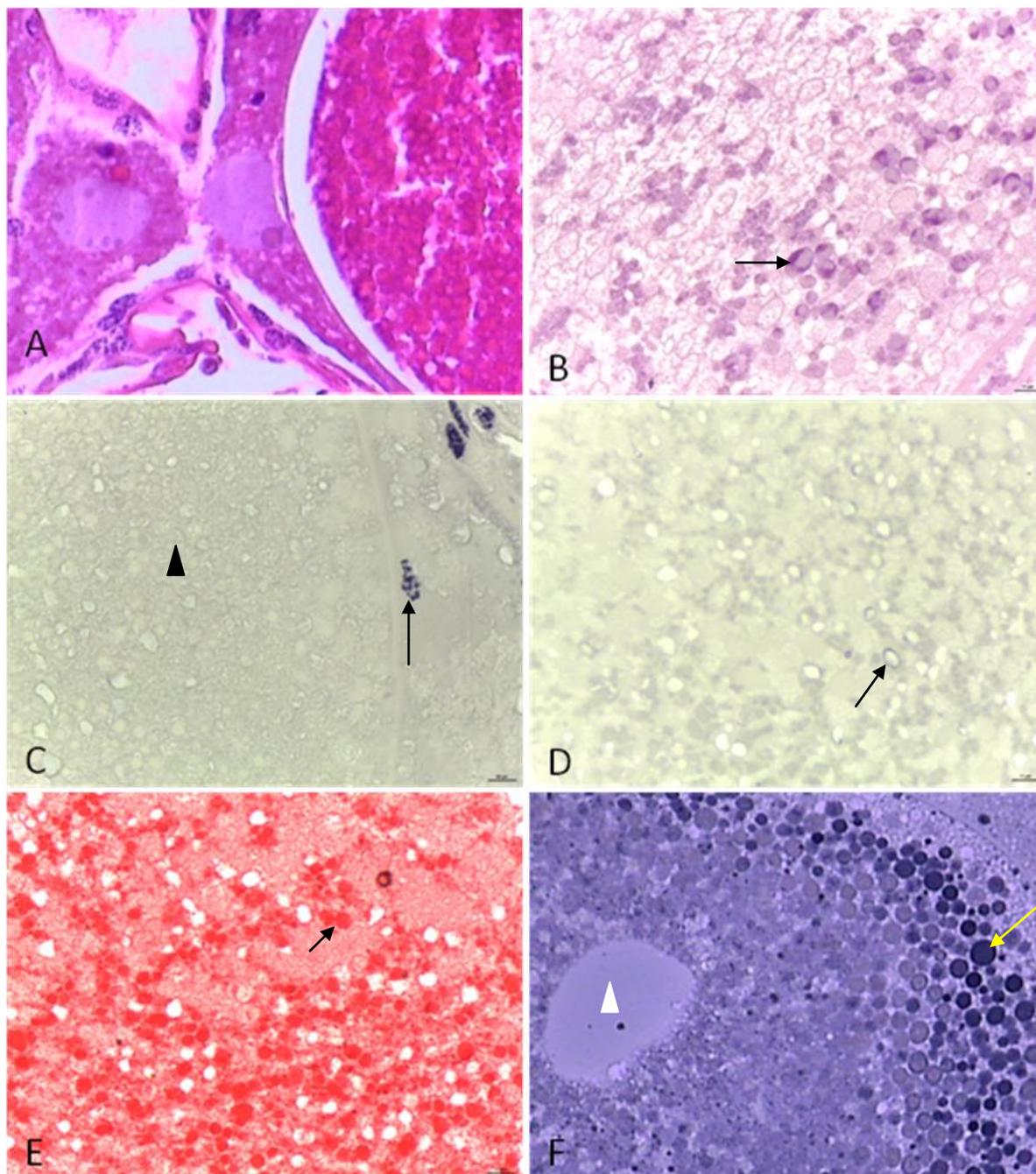


Figura 2. Fotomicrografias de ovócitos de *P. echinatus* em maturação. A) Corte em parafina corado pelo PAS+Hematoxilina. 560x. B) Corte em historesina evidenciando grânulos de vitelo corado pelo PAS (seta). 1400x. C) Corte em historesina corado pelo Alcian Blue pH 2,5. Seta: células foliculares; cabeça de seta: citoplasma. 1400x. D) Corte em historesina evidenciando grânulos de vitelo levemente corado pelo Alcian Blue pH 0,5 (seta). 1400x. E) Corte em historesina corado pelo Ponceau de Xilidina evidenciando o conteúdo proteico dos grânulos de vitelo (seta). 1400x. F) Corte em historesina corado pelo Sudan Black evidenciando o conteúdo lipídico em grânulos de vitelo periféricos (seta), com núcleo do ovócito central (cabeça de seta). 560x.

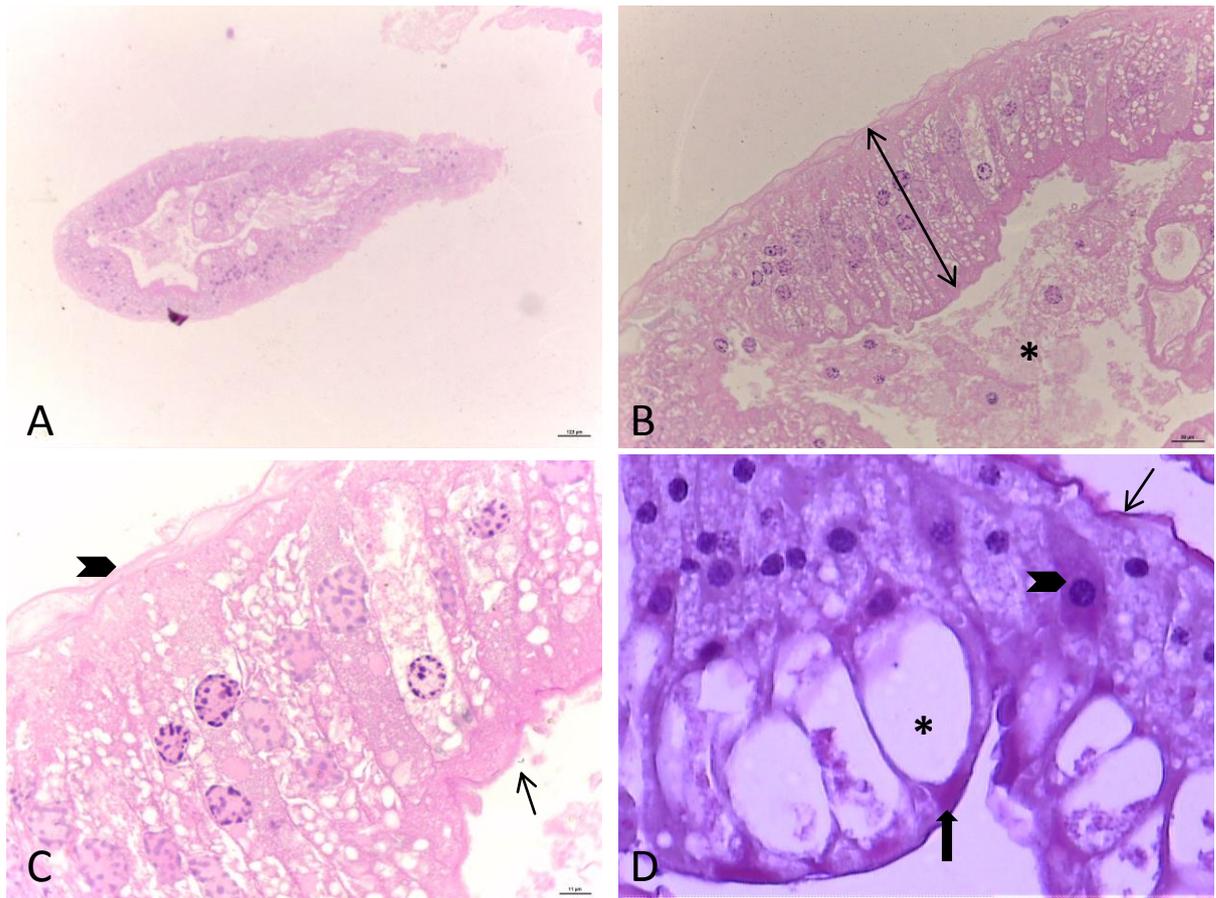


Figura 3: Fotomicrografias do hepatopâncreas de *P. echinatus*. A) Fotomicrografia panorâmica do túbulo hepatopancreático. 40x. HF. B) Fotomicrografia do epitélio pseudoestratificado do túbulo hepatopancreático. (*) luz do túbulo, seta dupla: epitélio. 140x. HF. C) Fotomicrografia do epitélio do túbulo hepatopancreático. Seta: borda em escova; cabeça de seta: lâmina basal. 560x. HF. D) Fotomicrografia do epitélio pseudoestratificado do túbulo hepatopancreático. seta: lâmina basal; seta cheia: borda em escova; cabeça de seta: célula cilíndrica com citoplasma basófilo; (*) vacúolo no ápice celular. 560x. PAS.

Tabela 01. Análise comparativa entre os índices gonadossomáticos e índices hepatossomáticos de *Panulirus echinatus* nos períodos de maturação gonadal.

ÍNDICE	ESTÁDIO DE MATURAÇÃO	Nº ANIMAIS	MÉDIAS	DESVIO PADRÃO
IGS	DESENVOLVIMENTO	08	0,5646	±0,1726
IHS	DESENVOLVIMENTO	08	4,022	±0,7765
IGS	PRÉ-MATURAÇÃO	16	0,5411	±0,2053
IHS	PRÉ-MATURAÇÃO	16	3,960	±0,7995
IGS	MATURAÇÃO	104	2,866	±1,962
IHS	MATURAÇÃO	104	3,708	±0,7563
IGS	PÓS-DESOVA	45	0,5694	±0,4077
IHS	PÓS-DESOVA	45	4,147	±0,7733

Gráfico 01. Análise comparativa entre os índices gonadossomáticos e índices hepatossomáticos de *Panulirus echinatus* nos períodos de maturação gonadal.

