

ANTÔNIO PEDRO SOARES

**CARACTERIZAÇÃO DO CICLO DE VITELOGÊNESE  
DA LAGOSTA PINTADA (*Panulirus echinatus* SMITH,  
1869), DO LITORAL SUL DE PERNAMBUCO**

RECIFE  
2010



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**ANTÔNIO PEDRO SOARES**

**CARACTERIZAÇÃO DO CICLO DE  
VITELOGÊNESE DA LAGOSTA PINTADA (*Panulirus  
echinatus* SMITH, 1869), DO LITORAL SUL DE  
PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Biociência Animal da UFRPE. Como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociência Animal, na área de concentração de Morfofisiologia Animal

Orientador: Prof. Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO  
Co-Orientadora: Profa. Dra. LIRIANE BARATELLA EVÊNCIO  
Co-orientador: Prof.Dr. VALDEMIRO AMARO DA SILVA JUNIOR

RECIFE  
2010



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**CARACTERIZAÇÃO DO CICLO DE VITELOGÊNESE DA  
LAGOSTA PINTADA (*Panulirus echinatus* SMITH, 1869), DO LITORAL  
SUL DE PERNAMBUCO**

Dissertação de Mestrado elaborada por

**ANTÔNIO PEDRO SOARES**

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

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO - Presidente**  
**Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE**

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. LIRIANE BARATELLA EVÊNCIO**  
**Departamento de Histologia e Embriologia - UFPE**

**Prof. Dr. FABRÍCIO BEZERRA DE SÁ**  
**Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE**

**Prof. Dr. MANUEL DE JESUS SIMÕES**  
**Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP-EPM-SP**

Dedico este trabalho à minha eterna professora e mãe:

**MARIA DA CONCEIÇÃO LINS DE ALBUQUERQUE  
ALMEIDA ( CONCITA)**

Pelo início de todo conhecimento na Técnica Histológica, na Vida Universitária e pela Inclusão Social, reconheço que sem a sua acolhida, educação e estímulo, dificilmente teria chegado até aqui.

**O meu muito obrigado**

## AGRADECIMENTOS

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

A CHIARA LUBRICH FUNDADORA DO MOVIMENTO DOS FOCOLARI (Através do qual renasci )

A Prof<sup>ª</sup>. Dra. HELENA SIMÕES DUARTE PELA CONFIANÇA, PACIENCIA E ESTÍMULO

A MEU ORIENTADOR E AMIGO **Prof. Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO** PELA CUMPLICIDADE NA VIDA, PELA CONFIANÇA ALÉM DO IMAGINÁVEL, PELA ORIENTAÇÃO E PELA INCLUSÃO SOCIAL ACADÊMICA EM NÍVEL *STRICTO SENSU*.

A MINHA CO-ORIENTADORA: Prof<sup>ª</sup> Dra. LIRIANE BARATELA EVÊNCIO PELA ORIENTAÇÃO E ESTÍMULO.

AO MEU CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. VALDEMIRO AMARO DA SILVA JUNIOR PELA ORIENTAÇÃO, CONFIANÇA, APOIO LOGISTICO E ESTÍMULO.

A MINHA CO-ORIENTADORA OFICIOSA E FILHA MARIA GORETTI SOARES (GÓ) PELO ESTÍMULO, ORIENTAÇÃO E CUMPLICIDADE.

A MINHA COLABORADORA MARIA EDNA GOMES DE BARROS BOLSISTA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FACEPE/CNPq - PELA ARTE NA TÉCNICA HISTOLÓGIA.

A JOÃO FELIPE CÂNDIDO AGUIAR PELA COLABORAÇÃO NAS COLETAS E PELO INCENTIVO RUBRO-NEGRO.

A MINHA AMIGA SANDRA MARIA DE TORRES – PELA FORÇA E COLABORAÇÃO.

AOS PESCADORES 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 EXAME GERAL DE QUALIFICAÇÃO:  
Prof. Dr. VALDEMIRO AMARO DA SILVA JUNIOR e Prof. Dr. FÁBIO DE SOUZA MENDONÇA.

AO COODERNADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL: Prof. Dr. ROMILDO DE ALBUQUERQUE NOGUEIRA. Obrigado por existir este Programa, sem o qual dificilmente teria retomado meus estudos de Pós-Graduação.

A Prof<sup>a</sup> Dra. ANA LÚCIA FIGUEIREDO PORTO DIRETORA DO DMFA E VICE-COORDENADORA DO PPGBA PELO APÓIO E ESTÍMULO.

EM NOME DE FERREIRA AGRADEÇO A TODOS OS FUNCIONÁRIOS TÉCNICOS ADMINISTRATIVOS QUE FAZEM O DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL.

AOS PROFESSORES (AS) DO PROGRAMA DE BIOCÊNCIA ANIMAL MEU MUITO OBRIGADO.

AOS COLEGAS E AMIGOS DA PRIMEIRA TURMA DO PROGRAMA DE BIOCÊNCIA ANIMAL –VALEU PELA FORÇA. SUCESSO PARA TODOS.

EM NOME DE JULIANA e LIGIA AGRADEÇO A TODOS OS ORIENTANDOS DO DR. EVÊNCIO.

AO PROF. JOSÉ CASSIMO (Amigo e Professor de Inglês) pelo estímulo e colaboração.

AOS COLEGAS PROFESSORES DA FAMASUL E EM ESPECIAL DO DEPT<sup>O</sup> DE BIOLOGIA.

AOS FUNCIONÁRIOS ADMINISTRATIVOS DA 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 GREE MATA SUL /PALMARES Prof<sup>a</sup>. LÚCIA DE FÁTIMA

#### **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS:**

AO MEU PAI: PEDRINHO PELA VIDA, EDUCAÇÃO E PELO EXEMPLO DE DIGNIDADE E FÉ.

A MINHA MÃE : DONA CARMINHA PELA VIDA INTRA E EXTRA UTERINA PELO AMOR,CARINHO E EDUCAÇÃO.

A MINHA ESPOSA: ÉRICA BRUNA DE ANDRADE SOARES – PELA CUMPRICIDADE, PACIÊNCIA, COLABORAÇÃO E AMOR.

AOS MEUS FILHOS(AS): HENRIQUE, GORETTI, ANDRÉ, ANINHA E PAULHINHO PELA AMIZADE, PACIÊNCIA, AMOR E CARINHO. Sinto-me orgulhoso por vocês.

AS MINHAS FILHINHAS: CAROL E *Aplysia* pela pureza, leveza e inspiração para recomeçar na vida.

AOS MEUS FILHOS ADOTIVOS E EX-MONITORES: BINHO E FRATERNAL PELA COLABORAÇÃO E ESTÍMULOS.

AOS MEUS NETOS (AS): LETÍCIA, LUIZA, BÓ, BIEL , SOFIA e ANA Beatriz – (*amor dos netos são os mais puros*)

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

EM NOME DE ALEXANDRE SAÚDO TODOS SOBRINHOS.

EM NOME DE TIO JOÃO DE DEUS SAÚDO TODOS OS TIOS.

A IVONE E LUIZA QUE CONTRIBUÍRAM COM MINHA GRADUAÇÃO O MEU MUITO OBRIGADO.

EM NOME DE VAL AGRADEÇO A FAMÍLIA ANDRADE.

A SOCORRO PELOS CUIADOS COM CAROL E *Aplysia*

AO MEU AMIGO FRANCELINO E DONA EMILIA PELA HOSPITALIDADE E CUIDADOS NO REINÍCIO DOS ESTUDOS.

AO MEU AMIGO GILVAN PIO E ANA MARIA PELA HOSPITALIDADE E ESTÍMULO NA VIDA.

AO MEU AMIGO Prof. SILVIO BERNARDES REPRESENTANDO A FAFIS, OBRIGADO PELO INSENTIVO.

AS MINHAS AMIGAS: SANDRA SUELY, NÁDJA E IRENILDA SOUSA PELA CUMPRICIDADE NA VIDA.

"TALVEZ NÃO TENHAMOS CONSEGUIDO FAZER O MELHOR, MAS LUTAMOS PARA QUE O MELHOR FOSSE FEITO. NÃO SOMOS O QUE DEVERÍAMOS SER; NÃO SOMOS O QUE IREMOS SER. MAS, GRAÇAS A DEUS, NÃO SOMOS O QUE ÉRAMOS".

**MARTIN LUTHER KING**

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

Mateus 5:6

## RESUMO

Este trabalho objetivou caracterizar histologicamente o ciclo de vitelogênese da lagosta pintada *Panulirus echinatus* do litoral sul de Pernambuco, nos diferentes estágios de maturação. Foram coletados 173 animais fêmeas por um período de 12 meses entre os meses de dezembro de 2007 a novembro de 2008, uma média de 15 animais por mês, na Praia de Tamandaré, Litoral Sul do Estado de Pernambuco. A coleta foi realizada utilizando-se rede de espera e as amostras foram obtidas de forma aleatória. Após serem capturados os animais foram ortonasiados por choque térmico, ovários e hepatopâncreas foram coletados e pesados individualmente, fixados em formaldeído a 10% em água do local da captura para inclusão em parafina e em glutaraldeído à 4% tamponado para inclusão em historresina . Os blocos foram cortados e corados pela Hematoxilina/Eosina, Tricrômico de Gomori, Hematoxilina/Floxina, PAS+Hematoxilina, Controle PAS, PAS+Alcian Blue pH 2.5 e Sudan Black. As análises histológicas revelaram quatro estágios de maturação: Desenvolvimento (estágio II); Pré-maturação (estágio III); Maturação (estágio IV) e Pós-desova (estágio V) e três fases ovocitárias: não vitelogênica, fase de vitelogênese primária, e vitelogênese secundária . Nos ovócitos maduros o citoplasma apresentou-se PAS positivo e presença de gotículas de lipídios positivas ao Sudan. Os índices gonodossomáticos e hepatossomáticos demonstraram uma correlação inversa nos diferentes estágios de maturação gonadal indicando uma possibilidade de transferência de vitelo do hepatopâncreas para os ovários durante o período reprodutivo.

**Termos para indexação:** ciclo reprodutivo, hepatopâncreas, ovários, vitelogênese e *Panulirus echinatus*

### ABSTRACT

This study aimed to characterize histologically the cycle of vitellogenesis of painted lobster *Panulirus echinatus* from Southern Coast of Pernambuco, in different stages of maturation. 173 females animals were collected from for a period of 12 months between the months of December 2007 to November 2008, an average of 15 animals per month, Tamandaré Beach, South Coast of Pernambuco State. Data collection was performed using gillnets and the samples were taken at random. After being captured the animals were euthanized by heat shock, ovaries and hepatopancreas were collected and individually weighed, fixed in 10% formaldehyde in water from the site of capture for paraffin and the 4% buffered glutaraldehyde for inclusion in historesine. The blocks were cuted and stained with hematoxylin-eosin, Gomori's trichrome, hematoxylin / phloxine, PAS + hematoxylin, Control, PAS, PAS + Alcian Blue pH 2.5 and Sudan Black. Histological analysis revealed four maturation stages: development (stage II) Pre-maturity (stage III), maturation (stage IV) and post-spawning (stage V) and three-stage oocytes, no vitellogenic, vitellogenic primary phase, and secondary vitellogenesis. In mature oocytes the cytoplasm is PAS positive and presence of lipid droplets positive for Sudan. Gonadossomatic and hepatossomatic indexes showed an inverse correlation in the different stages of maturation indicating a possibility of transfer of yolk from hepatopancreas to the ovaries during the reproductive period.

**Index Terms:** reproductive cycle, hepatopancreas, ovary, vitellogenesis and *Panulirus echinatus*

## SUMÁRIO

<u>RESUMO .....</u>	<u>x</u>
<u>ABSTRACT .....</u>	<u>xi</u>
<u>ABSTRACT .....</u>	<u>xi</u>
<u>1.INTRODUÇÃO .....</u>	<u>15</u>
<u>2.REVISÃO DE LITERATURA .....</u>	<u>21</u>
<u>2.1.Aparelho reprodutor feminino .....</u>	<u>21</u>
<u>2.2.Hepatopâncreas .....</u>	<u>23</u>
<u>3.OBJETIVOS .....</u>	<u>28</u>
<u>3.1. Objetivo geral .....</u>	<u>28</u>
<u>3.2.Objetivos específicos .....</u>	<u>28</u>
<u>3.2.Objetivos específicos .....</u>	<u>28</u>
<u>4. Referências .....</u>	<u>29</u>
<u>5.PRIMEIRO ARTIGO .....</u>	<u>34</u>
<u>5.1.Relação hepatossomática e gonadossomática em fêmeas de <i>Panulirus echinatus</i> (SMITH, 1869) do litoral de Pernambuco .....</u>	<u>34</u>
<u>6.SEGUNDO ARTIGO .....</u>	<u>47</u>
<u>6.1.Histoquímica. dos ovários e hepatopâncreas de <i>Panulirus echinatus</i> (SMITH, 1869) do litoral sul de Pernambuco .....</u>	<u>47</u>

## LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRO ARTIGO .....	34
1. Fotomicrografia do ovário em estágio II .....	46
2. Fotomicrografia do ovário em estágio III .....	46
3. Fotomicrografia do ovário em estágio IV .....	46
4. Fotomicrografia do ovário em estágio V .....	46
5. Fotomicrografia do ovário em estágio IV .....	46
6. Fotomicrografia do hepatopâncreas .....	46
SEGUNDO ARTIGO .....	47
1. Fotomicrografia de ovário não vitelogênico .....	58
2. Fotomicrografia de ovário em vitelogênese primária .....	58
3. Fotomicrografia de ovário em vitelogênese secundária .....	58
4. Fotomicrografia de ovário maduro .....	58
5. Fotomicrografia de ovário maduro .....	58
6. Fotomicrografia de hepatopâncreas .....	58

## LISTA DE TABELAS

PRIMEIRO ARTIGO .....	34
1. Análise das médias e desvio padrão dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos de <i>Panulirus echinatus</i> nos meses de dezemb de 2007 a novembro de 2008 .....	45
2. Análise comparativa entre os índices gonadossomáticos e índices hepatossomáticos de <i>Panulirus echinatus</i> nos períodos de maturação gonadal .....	42
SEGUNDO ARTIGO .....	47
1. Análise comparativa entre os índices gonadossomáticos e índices hepatossomáticos de <i>Panulirus echinatus</i> nos períodos de maturação gonadal .....	57

## INTRODUÇÃO

O filo crustácea se diferencia dos outros artrópodes, por apresentar dois pares de antenas na cabeça. A classe malacostraca compreende mais da metade das 45.000 espécies de crustáceos (MARGULIS, 2001). Entre os malacostracos encontra-se a ordem decápoda 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. Muitas espécies constituem recursos pesqueiros economicamente importantes (PHILLIPS *et al.*, 1980).

Lagosta é o nome vulgar dado a crustáceos decápodos pertencentes a classe Malacostraca e às infra-ordens Astacidea e Palinura. O grupo Astacidae reúne lagostas e lagostins com os primeiros três pares de pernas modificados em garras, sendo o primeiro par bastante desenvolvido. Os organismos agrupados dentro dessa infra-ordem apresenta hábitos marinho e dulcícola e são comumente encontrados em regiões temperadas. Já a infra-ordem palinura agrupa representantes exclusivamente marinhos, predominantes em mares tropicais e subtropicais (RUPERT & BARNES, 1996; MARTIN & DAVIS, 2001).

Taxonomicamente foram descritas cerca de 163 espécies de lagostas, agrupadas em quatro famílias: Nephropidae, Synaxidae, Scyllaridae e Palinuridae, a lagosta pintada (*Panulirus echinatus*, SMITH, 1869) é uma espécie do gênero *Panulirus*, pertencente a família Palinuridae. Segundo Gray (1992), esta família está dividida em nove gêneros, com cerca de cinquenta espécies.

Elas são popularmente conhecidas como lagostas espinhosas (“spiny lobsters”) pelo fato de possuírem muitos espinhos no cefalotórax e nos segmentos basais do segundo par

de antenas, ou lagostas de rocha (“rock lobsters”) por viverem em substratos rochosos, sendo encontradas em oceanos tropicais, subtropicais e em regiões temperadas desde as águas mais profundas até os habitats litorâneos de águas rasas e quentes. Portanto, estas lagostas possuem mecanismos de adaptação para ambientes com intensa luminosidade, águas turbulentas e baixo teor de oxigênio (PHILLIPS *et al.*, 1980). O gênero *Panulirus*, contém 19 espécies, sendo 3 delas encontradas na plataforma continental brasileira: *Panulirus argus*, *Panulirus laevicauda* e *Panulirus echinatus*.

As três espécies de lagostas espinhosas (*Panulirus argus*, *P. echinatus* e *P. laevicauda*) que ocorrem na costa nordeste do Brasil, constituem a principal fonte de renda dos municípios pesqueiros daquela região, sendo que *P. argus* (lagosta vermelha) e *P. laevicauda* (lagosta verde) são as duas principais espécies capturadas, participando em 75% e 20% das capturas, respectivamente (GÓES & CARVALHO, 2005)

A espécie (*Panulirus echinatus*) é encontrada em águas tropicais do Atlântico, com registros desde Cuba até o Rio de Janeiro (CHACE JR. & DUMONT, 1949). No nordeste brasileiro é encontrada em abundância (FONTELES-FILHO, 1979).

De acordo com Paiva e Fonteles-Filho (1968), a existência de formações rochosas e coralinas na plataforma continental do nordeste do Brasil, aliada às condições hidrobiológicas estáveis resultantes das altas temperaturas e salinidades, devido ao baixo volume de deságüe fluvial, compõem um ambiente favorável ao abrigo, alimentação e desenvolvimento das lagostas. Por outro lado, a presença de bancos de algas calcáreas, representadas pelos gêneros *Lythothamnium* e *halimeda*, se constituem em um elemento vital no processo de ecdise, pois formam grandes concentrações de carbonato de cálcio, garantindo também um excelente desenvolvimento de suas populações (CRUZ, 1988).

Ecologicamente os palinurídeos formam elos dominantes na cadeia alimentar de uma grande variedade de habitats 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). *P. echinatus* pode ser corretamente classificada como sendo uma espécie onívora e generalista, uma vez que se alimenta de uma grande diversidade de organismos em diferentes níveis tróficos. Esta espécie apresenta um comportamento oportunista, alimentando-se principalmente de presas disponíveis no substrato (GÓES & LINS-OLIVEIRA, 2009).

Além de sua importância ecológica como um dos principais forrageadores do ambiente marinho, principalmente do ecossistema recifal, as lagostas também possuem importante apelo econômico e, por consequência, social (FONTELES FILHO, 1994; LINS OLIVEIRA, 2006).

O Brasil destaca-se como terceiro maior produtor mundial de lagostas espinhosas, ficando atrás apenas da Austrália e de Cuba (KANCIRUK, 1980; FONTELES FILHO, 2005).

A pesca de lagosta já foi o principal recurso pesqueiro da Região Nordeste e o primeiro produto de exportação nacional, em valor, tendo gerado cerca de 750 milhões de dólares de 1955 a 1991 (20,3 milhões de dólares/ano, em média) (FONTELES FILHO, 1994). Dados mais recente mostram que lagostas foram o segundo produto pesqueiro

exportado pelo Brasil, em valores, no período entre 2001 e 2003, perdendo apenas para o produto camarões congelados. Somente no ano de 2003 a exportação de lagostas gerou cerca de 65,5 milhões de dólares (OLIVEIRA & FILHO, 2005).

No Brasil, três espécies de lagostas (Palinuridae) são colhidas: *Panulirus argus*), *P. laevicauda* e *P. echinatus*. Dois destes (*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)

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. Aí, completam a sua maturação gonadal, se acasalam, desovam, incubam os ovos e finalmente suas larvas eclodem. As larvas (filosoma) são planctônicas sendo inicialmente encontradas nas camadas superficiais oceânicas, concentrando-se em regiões mais profundas nos estágios mais avançados. 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.

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 freqüentemente 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).

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.

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 (SILVA-CASTIGLIONI, 2006).

O hepatopâncreas é uma glândula pertencente ao intestino medio 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.

Nos decápodos em geral, os túbulos do hepatopâncreas apresentam cinco tipos celulares que compõem o epitélio secretor, as quais se distribuem ao longo do comprimento destes túbulos, conforme foi descrito por (AL-MOHANNA *et al.*, 1985; ALMOHANNA & 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 gonadosomáticos e hepatossomáticos ao longo do ciclo reprodutivo de *Macrobrachium amazonicum* indicam a presença de vitelogênese endógena e exógena (RIBEIRO, 2006).

Barreto *et al.* (2008), analisando as relações gonadosomáticas nos estádios de maturação de *Panulirus echinatus*, verificou que a variabilidade foi mínima no estágio II, quintuplicando no estágio III, alcançando o máximo valor no estágio IV (maturo) e regredindo significativamente no estágio V. Foi observado que seus valores aumentaram com o desenvolvimento até alcançar valor máximo no estágio IV.

## REVISÃO DE LITERATURA

### **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). Algumas fêmeas apresentam estruturas especializadas para receber o esperma, como a espermateca em decápodos (KROLL et al., 1992). A espermateca pode ser caracterizada como invaginação do exoesqueleto, modificação do oviduto ou ainda, simplesmente um canal para armazenar ou receber o espermatóforo (ADIYOD & SUBRAMONIAM, 1983). Em *Inachus falangeus* a espermateca é conectada ao oviduto e está ligada ao ovário e à camada externa do corpo (DIESEL, 1990). Os carídeos retêm seus ovos nos pleópodos, localizados abaixo do abdômem 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).

Os peneídeos liberam seus ovos diretamente na água (ISMAEL & NEW, 2000). Huiling, L. 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 foi dividida em 4 fases (8 sub-estágios): fase de multiplicação (oogônio); fase pré-vitelogênese; fase de vitelogênese e estágio de maturação.

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 cranial e caudal; 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).

Analisando cortes histológicos de ovários de *Panulirus echinatus*, Barreto *et al.* (2008) encontrou 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 localizam-se células germinativas em diferentes estágios de maturação ovogônias, ovócitos I, ovócitos II e ovócitos maduros (SOARES, 2004).

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 (SILVA-CASTIGLIONI, 2006).

### **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 morfologicamente similar na maioria dos decápodos

(GIBSON & BARKER, 1979), apesar do número de lobos poder variar nas diferentes espécies (ICELY & NOTT, 1992). As espécies *Penaeus* ssp (VOGT, 1985; LOVETT & FELDER, 1989) e *Caridina laevis* (PILLAI, 1960) apresentam apenas um lobo em cada metade do hepatopâncreas. 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-se sinusóides hemolinfáticos, células circulantes da hemolinfa e fibroblastos (FACTOR & NAAR, 1985; 1990; FRANCESCHINI-VICENTINI *et al.*, 2006).

O hepatopâncreas é uma glândula pertencente ao intestino medio 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 hepatossomático foram analisadas em algumas espécies de crustáceos braquiúros (PILLAY & NAIR, 1973) e em camarões (READ & CAULTON, 1980; CASTILLE & LAWRENCE, 1989; ROSA & NUNES, 2003a). Gibson & Barker (1979) verificaram em decapoda, um aumento do índice gonadossomático e uma diminuição no índice hepatossomático ao longo do ano. Rosa & Nunes (2003a) analisaram em duas espécies de camarões e uma espécie de lagosta 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, pois segundo Gibson & Barker (1979) o hepatopâncreas é identificado como o maior centro de reservas orgânicas e inorgânicas em crustáceos decápodos. 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.

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. 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).

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 várias proteínas incluindo, hormônios, enzimas e lipoproteínas envolvidas com a maturação das gônadas (ROSA & NUNES 2003a, YEHEZKEL *et al.* 2000).

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 (JOHNSTON & DAVIES, 1972, HERREID & FULL 1988, PARVATHY 1971). 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, ROSA & NUNES 2003a, OLIVEIRA *et al.* 2001 2004). A ausência de um depósito central de glicogênio parece ser, segundo Hochachka & Somero (1984), uma adaptação de várias classes de animais a mudanças nos fatores ambientais. Nery & Santos (1993) sugerem que esta independência em relação aos depósitos centrais de glicose seria muito importante em animais de circulação aberta, já que seu fluxo sanguíneo é lento e se dá sob baixa pressão, o que conduziria a uma distribuição menos efetiva da glicose para os tecidos.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral

Caracterizar histologicamente o ciclo de vitelogênese da lagosta espinhosa *Panulirus echinatus* do litoral sul de Pernambuco.

### Objetivos específicos

- Caracterizar histologicamente o ciclo reprodutivo da lagosta espinhosa (*Panulirus echinatus*) do litoral do estado de Pernambuco;
- Identificar os componentes do vitelo armazenado no ovário de *Panulirus echinatus*, através de métodos histoquímicos;
- Caracterizar morfológica e histoquimicamente o hepatopâncreas de *Panulirus echinatus*;
- Verificar a relação do hepatopâncreas na vitelogênese de *Panulirus echinatus* através da relação gonadossomático e hepatossomático.

## REFERÊNCIAS

- AIKEN, D. E.; WADDY, S. L. Reproductive Biology. The biology and management of lobsters, v. 1. New York: **Academic Press**, 1980. p. 215-276.
- 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**, 2008. 25 (4): 689–695
- BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de Citologia e Histologia**. V. 1. Rio de Janeiro. 1976. 305p.
- BEHMER, A.; CASTRO DE TOLOSA, E. M.; NETO, A. G. F. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. São Paulo : Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo / Departamento de Cirurgia, 1976. 255p.
- 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. & A.L. LAWRENCE 1989. Relationship between maturation and biochemical composition of the shrimps *Penaeus aztecus* and *Penaeus setiferus* (L.) **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, **9**: 202-211.
- CHANG, E. & J.D. O'CONNOR. 1983. Metabolism and transport of carbohydrates and lipids. Pp 263-287. In: L. H. MANTELL (Ed.). **The biology of Crustacea, vol 5**. Internal anatomy and physiological regulation. New York., Academic Press:
- COBB, J. S.; PHILLIPS, B. F. Preface. In : COBB, J. S.; PHILLIPS, B. F. The biology and management of lobsters. New York : **Academic Press**, 1980, v. I, p. xi-xiii.
- COBB, J. S.; WANG, D. Fisheries biology of lobsters and crayfisheries. In: PROVENZANO, JR., A. J. (ed.). The biology of crustacea. V. 10. New York: **Academic Press**, 1985. p. 167-247.
- CRUZ, M. G. T. **A pesca da lagosta no nordeste – um enfoque informativo como processo de extensão universitária**. Fortaleza, 35p. Monografia (graduação em engenharia de pesca) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, 1988.
- EDGAR, G. J. Predator-prey interactions in seagrass beds. III. Impacts of the western rock lobster *Panulirus cygnus* George on epifaunal gastropod populations. **Journal of Experimental marine Biology and Ecology**, Amsterdam, 1980. v. 139, 33-42.

EGGLESTON, D. B.; LIPICUS, R. N.; MILLER, D. L. Artificial shelters and survival of juvenile Caribbean spiny lobster *Panulirus argus*: spatial, habitat, and lobster size effects. **Fisheries Bulletin.**, 1992.v. 90, p. 691-701.

FONTELES-FILHO, A. A biologia pesqueira e dinâmica populacional da lagosta *Panulirus laeviscauda* (Latreille), no nordeste setentrional do Brasil. **Arquivos de ciências do mar**, Fortaleza, 1979. v. 19, n. 1, p. 1-43.

GIBSON, R. & P.L. BARKER. 1979. The decapod hepatopancreas. **Oceanography and Marine Biology**, Aberdeen, **17**: 285-346.

GILLES, R. 1982. Osmoregulatory processes in molluscs and crustacean from media with fluctuating salinity regime. **Boletim de Fisiologia Animal**, São Paulo, **6**: 1-36.

GEORGE, R. W.; MAIN, A. R. The evolution of spiny lobsters (PALINURIDAE) : a study of evolution in the marine environment. **Evolution**, 1967. v. 21, p. 803-820.

GLAESNER, M. F. The fossil decapoda crustaceae of New Zealand the evolution of the order decapoda. **Paleontological Bulletin**, 1960.v. 31, p. 1-79.

GRANT, A. & P.A. TYLER. 1983. 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, **6**: 259-269.

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** Braz. J. Biol., , 2009. 69(1): 143-148.

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, 2005, INPE, p. 2195-2202

HARTNOL, R. G. In: BLISS, D. E. The Biology of Crustacea. London, **Academic Press**, 1982, v. 2, p. 111-196.

HERREID, C.F. & R.J. FULL. 1988. Energetics and locomotion. Pp. 337-377. In: W.W. BURGGREN and B. R. MCMAHON (Eds), **Biology of the land crabs**. Cambridge, Cambridge University Press.

HERRNKIND, W. F.; VANDERWALKER, J.; BARRY, L. Populations dynamics, ecology and behavior of spiny lobsters *Panulirus argus*, of St. John, U. S. Virgin Island: habitation and pattern of movement. **Scientific Bulletin of the Natural History Museum**, Los Angeles, 1975. v. 20, p. 4-31.

HERRNKIND, W. F.; BUTLER, M. J. Factors regulating postlarval spiny lobster (*Panulirus argus*). **Marine Ecology**, Berlin, 1986. v. 14, p. 5-123. (progress series)

HEYDORN, A. E. F. The rock lobster of the South America west coast, *Jasus lalandii* (H. Wilne Edwards). 2. Population studies, behaviour, reproduction, moulting, growth and migration. **South African Division of Sea Fisheries Investigation Report**, Cape Town, 1969. v. 71, p. 1-52.

HOCHACHKA, P.W. & G.N. SOMERO. 1984. **Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution**. Princeton, Princeton University Press, 466p.

HUILING, L. et al, **Ovary anatomy and histology in lobster *Panulirus homarus***. Editorial Board of Journal of Fisheries Science. ( Dalian). 2009. 28: 7, 387-390. 12 ref

IZQUIERDO, R, C, *et al*. **Atlas biológico-pesquero de la langosta en el Archipelago cubano**. Cuba, 1987. 125p.

JOHNSTON, M.A. & P.S. DAVIES. 1972. Carbohydrates of the hepatopancreas and blood tissues of *Carcinus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, **41B**: 433-443.

JUNQUEIRA, L. C.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo : Livraria e editora Santos, 1983. 123p.

KUCHARSKI, L.C.R. & R.S.M. DA SILVA.. Effect of diet composition on the carbohydrate and lipid metabolism in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, **99A**: 215-218. 1991.

MACLAUGHLIN, P. A. Internal anatomy. VI. Reproductive System. In: BLISS, D. E.; MANTEL, L. (ed.). The Biology of Crustacea. V. 5. New York: **Academic Press**, 1983., p. 35-36.

MARGULIS, L. & SCHWARTZ, K. V. **Cinco Reinos**. 3<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

NERY, L.E.M. & E. A. SANTOS. 1993. Carbohydrate metabolism during osmoregulation in *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea, Decapoda). **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, **106B (3)**: 747-753.

O'CONNOR, J.D. & L.I. GILBERT. 1968. Aspects of lipid metabolism in Crustaceans. **American Zoologist**, Chicago, **8**: 529-539.

OLIVEIRA, G.T.; I.C. ROSSI & R.S. M. DA SILVA. 2001. Carbohydrate metabolism during anoxia and post-anoxia recovery in *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. **Marine Biology**, Berlin, 139: 335-342.

OLIVEIRA, G.T., FERNANDES, F.A., BOND-BUCKUP, G., BUENO, A.A. & SILVA, R.S.M. 2003. Circadian and seasonal variations in the metabolism of carbohydrates in *Aegla ligulata* (Crustacea: Anomura: Aeglididae). **Memoirs of Museum Victoria**, Victoria, **60 (1)**: 59-62.

OLIVEIRA, G.T., ROSSI, I.C., KUCHARSKI, L.C. & DA SILVA, S.M. 2004. Hepatopancreas gluconeogenesis and glycogen content during fasting in crabs previously maintained on a high-protein or carbohydrate-rich di. **Comparative and Biochemistry and Physiology A**, **137** (2): 383-390.

PAIVA, M. P., FONTELES-FILHO, A. A. Sobres as migrações e índices de explorações da lagosta *Panulirus argus* (Latreille), ao longo da costa do estado do Ceará. **Arquivo da Estação de Biologia Marinha da Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 1968.v. 8, n. 1, p. 15-23.

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

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**, 1980. P. 2-72.

PILLAY, K.K. & N.B. NAIR. 1973. 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**, Berlin, **18**: 167-198.

TEGNER, M. J.; LEVIN, L. A. Spiny lobsters and sea urchins: analysis of a predator-prey interaction. **Journal of Experimental Marine Biological and Ecology**, Amsterdam, 1983.v. 73, p. 50-125,

WINKLER, M. T. C. Carcinological investigations on the genera *Pemphix*, *Glyphea* and *Araeosternus*. **Archives du Musée Teyler**, 1881. p. 73-124.

READ, G.H.I. & M.S. CAULTON. 1980. 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**, New York, **66A**: 431-437.

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.

ROSA, R.A. & M.L. NUNES. Biochemical composition of deep-sea decapod crustaceans with two different benthic life strategies off the Portuguese south coast. **Deep-Sea Research I**, Orlando, **50**: 119-130. 2003a.

ROSA, R.A. & M. L. NUNES. Changes in organ indices and lipid dynamics during the reproductive cycle of *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris* and *Nephrops norvegicus* (Crustacea: Decapoda) females from the south Portuguese coast. **Crustaceana**, Leiden, **75** (9): 1095-1105. 2003B

SOARES, M.G.; EVÊNCIO-NETO, J; SAORES, A. P.; PEDROZA-JÚNIOR, H. S.; BARRETO,

A. V. Aspectos Morfológicos e Morfométricos de Ovários da Lagosta Pintada (*Panulirus echinatus*) Crustacea: Decapoda: Palinuridae, da Baía de Tamandaré, Litoral Sul do Estado de Pernambuco. Arq.Inst.Biol., São Paulo, 2004.v.71, (supl.), p.1-749.

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

**Relação hepatossomática e gonadossomática em fêmeas de *Panulirus echinatus* Smith,  
1869 do litoral de Pernambuco**

Antônio Pedro Soares <sup>(1)</sup>, Joaquim Evêncio Neto <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Prof. Assistente, Faculdade de Formação de Professores da Mata Sul (FAMASUL).

Aluno do Mestrado em Biociência Animal da UFRPE E-mail: [pedrobiologia@bol.com.br](mailto:pedrobiologia@bol.com.br)

<sup>(2)</sup>Prof. Dr. Adjunto do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal–UFRPE. E-mail:

[evencio@dmfa.ufrpe.br](mailto:evencio@dmfa.ufrpe.br)

**Resumo**-Este trabalho objetivou verificar a influência do hepatopâncreas sobre os ovários da lagosta espinhosa (*Panulirus echinatus*) do litoral sul de PE nos diferentes estágios de maturação. Após serem capturados os animais foram ortonasiados por choque térmico, ovários e hepatopâncreas foram coletados e pesados individualmente para obtenção dos índices gonadossomático e hepatossomático, fixados em formaldeído a 10% em água do mar e glutaraldeído à 4% em seguida foram incluídos em parafina e em historesina, cortados e corados. A análise histológica revelou quatro estágios de maturação: Desenvolvimento (estágio II), caracterizado pela presença de ovogônias e grande quantidade de ovócitos primários; Pré-maturação (estágio III), caracterizado pela predominância de ovócitos II; Maturação (estágio IV), caracterizado pela predominância de ovócitos maduros e Pós-desova (estágio V) caracterizado pela presença de células em todas as etapas de desenvolvimento com raros ovócitos maduros e espaços vazios. Os índices gonodossomáticos e hepatossomáticos demonstraram uma correlação inversa nos diferentes estágios de maturação gonadal indicando uma possibilidade de transferência de vitelo do hepatopâncreas para os ovários durante o período reprodutivo.

Termos para indexação: ciclo reprodutivo, hepatopâncreas, ovários, vitelogênese

Abstract: This study aimed to assess the influence of the hepatopancreas on the ovaries of the spiny lobster (*Panulirus echinatus*) southern coast of PE at different stages of maturation. After being captured animals were subjected to thermal shock, ovaries and hepatopancreas were collected and weighed individually to obtain the gonadosomatic and hepatosomatic indices, fixed in 10% formaldehyde and glutaraldehyde to 4% in water from the site of capture were then included in historesin paraffin and sectioned and stained. The analysis revealed four maturation stages: development (stage II), characterized by the presence of whose CRL and large quantities of primary oocytes, pre-maturity (stage III), characterized by the predominance of oocyte II; maturation (stage IV), characterized by predominance of mature oocytes and post-spawning (stage V) characterized by the presence of cells in all stages of development with few mature oocytes and empty spaces. Indexes gonadosomáticos and hepato showed an inverse correlation in the different stages of maturation indicating a possible transfer of calf hepatopancreas to the ovaries during the reproductive period.

Index Terms: reproductive cycle, hepatopancreas, ovary, vitellogenesis

### **Introdução**

As três espécies de lagostas espinhosas (*Panulirus argus*, *P. echinatus* e *P. laevicauda*) que ocorrem na costa nordeste do Brasil, constituem a principal fonte de renda dos municípios pesqueiros daquela região, sendo que *P. argus* (lagosta vermelha) e *P. laevicauda* (lagosta verde) são as duas principais espécies capturadas, participando em 75% e 20% das capturas, respectivamente (Góes & Carvalho, 2005).

Segundo Góes & Lins-Oliveira (2009), as espécies (*P. argus* e *P. laevicauda*) têm regulamentação da pesca, tais como o tamanho mínimo de captura e os prazos de captura, a

espécie *P. echinatus* não tem gestão jurídica, devido à falta de informação biológica reprodutiva.

Apesar da importância como um dos principais recursos pesqueiros da região Nordeste do Brasil, pouco se sabe sobre a biologia reprodutiva das lagostas espinhosas (Silva & Landim, 2006).

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 (Silva & Landim, 2006; Barreto et.al., 2008).

Silva & Landim, (2006) descreve quatro etapas distintas no processo de desenvolvimento dos ovários de lagostas espinhosas: Imaturos (estágio I); Prematuração (estágio II); Maduro (estágio III) e Desova/Reabsorção (estágio IV) e Barreto et.al., (2008) Analisando cortes histológicos de ovários de *P. echinatus*, encontrou cinco estágios de maturação: imaturo (I), em desenvolvimento (II), pré-maturação (III), maturo (IV) e pós-desova (V).

O hepatopâncreas é uma glândula pertencente ao intestino medio 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.

Nos decápodos em geral, os túbulos do hepatopâncreas apresentam cinco tipos celulares que compõem o epitélio secretor, as quais se distribuem ao longo do comprimento destes túbulos, conforme foi descrito por (Souza & Petriella, 2000; Correa et al., 2002), e para *Macrobrachium amazonicum* (Franceschini-Vicentini et al., 2006).

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 (Silva-Castiglioni, 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).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a relação gonadossomática e hepatossomática em lagosta espinhosa (*Panulirus echinatus*) do litoral sul de PE nos diferentes estágios de maturação.

### **Material e métodos**

Foram coletados 173 animais fêmeas por um período de 12 meses entre os meses de dezembro de 2007 a novembro de 2008, uma média de 15 animais por mês, na Praia de Tamandaré, Litoral Sul do Estado de Pernambuco. A coleta foi realizada utilizando-se rede de espera e as amostras foram obtidas de forma aleatória. Depois de coletados, os

indivíduos foram submetidos à congelação em caixa de isopor e transportados para o Laboratório 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 para verificação dos Índices Gonodossomáticos e Hepatossomáticos; fixados em formaldeído a 10% neutro em água do mar (do local da coleta) e glutaraldeído a 4% em tampão fosfato.

Para a realização da análise histológica pela microscopia de luz, as gônadas e os hepatopâncreas, foram processados pelos procedimentos de rotina para inclusão pela parafina e historresina. Após a inclusão em parafina o material foi cortado em micrótomo manual ajustado para 5 $\mu$ m. Os cortes foram corados pela técnica da Hematoxilina/Eosina-Floxina e pelo Tricromico de Gomori (Tolosa, 2003). O material incluído em historresina foi cortado em micrótomo apropriado utilizando-se navalhas de vidro previamente preparadas, ajustado para 3 $\mu$ m. Os cortes foram corados pela Hematoxilina /floxina (Cerri & Sasso-Cerri, 2003). Após as colorações os cortes histológicos foram observados em microscópio de luz e fotografados em Microscópio Trinocular Nikon Eclipse 50i acoplado ao sistema de vídeo e captura VT 480.

Os índices gonadossomático e hepatossomático foram determinados segundo Grant & Tyler (1983), Vazzoler (1996) e Silva-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**

As análises microscópicas das gônadas feminina de *P. echinatus* coradas pela Hematoxilina/eosina e tricrômico de Gomori e Hematoxilina/floxina, permitiram visualizar que as gônadas são revestidas externamente por um tecido epitelial simples pavimentoso sobre uma camada acidófila de tecido conjuntivo, a qual envia septos para o interior do órgão, formando um estroma, onde se estabelece o parênquima com os folículos e suas células germitativas: ovogônias (células pequenas com núcleos esféricos, intensamente basófilo, ocupando a maior parte do citoplasma), ovócito I (células com citoplasma basófilo e núcleo com um ou mais nucléolos), ovócito II (células com citoplasma acidófilo e núcleo esférico levemente corado e com nucléolo bem evidente) e ovócito maduro (células com citoplasma acidófilo e núcleo geralmente imperceptível ou parcialmente cobertos por grânulos de vitelo). Estas mesmas características foram evidenciadas por Barreto et al. (2008) em *P. echinatus* e Ribeiro (2006) em *Macrobrachium amazonicum*.

Das 173 fêmeas analisadas 08 se encontravam em desenvolvimento (estágio II), caracterizado pela presença de ovogônias e grande quantidade de ovócitos primários; 16 fêmeas em pré-maturação (estágio III), caracterizado pela predominância de ovócitos II; 45 fêmeas em pós-desova (estágio V) caracterizado pela presença de células em todas as etapas de desenvolvimento com raros ovócitos maduros e espaços vazios e 104 animais fêmeas em maturação (estágio IV), caracterizado pela predominância de ovócitos maduros. Este resultado diferencia dos resultados encontrados por Barreto, et.al., (2008) apenas por não haver o (estágio I). Portanto, todas as outras características foram confirmadas (figuras 01, 02, 03, 04 e 05).

Em relação ao hepatopâncreas, Ribeiro (2006), estudando *Macrobrachium amazonicum* em microscopia de luz e eletrônica, descreve um epitélio pseudoestratificado com cinco tipos celulares. O hepatopâncreas de *P.echinatus* é um órgão maciço, friável, de coloração amarelo-acastanhada, e está revestido por uma cápsula de tecido conjuntivo. No parênquima encontram-se uma série de túbulos revestidos por epitélio pseudo-estratificado que se apóia na membrana basal respectiva. Evidenciam-se neste epitélio 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 no citoplasma características de células especializadas provavelmente para a absorção e armazenamento. (figura 06).

Silva-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. Analisando as médias dos índices gonadossomáticos dos ovários das lagostas espinhosas (*Panulirus echinatus*) verificou-se uma variação crescente, do inverno para o verão, nos valores das médias nesse período. Os meses de setembro, outubro, novembro, dezembro, janeiro e fevereiro, apresentaram em média o maior índice gonadossomático e os meses de março, abril, maio, junho, julho e agosto as menores médias (tabela 01). Considerando as diferenças de habitat os resultados encontrados neste trabalho confirmam os estudos feitos por Silva-Castiglioni (2006).

Já os índices hepatossomáticos, variaram inversamente aos índices gonadossomáticos no mesmo período. Os meses de abril, maio, junho e julho apresentaram os maiores índices hepatossomáticos enquanto os meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro apresentaram os menores índices hepatossomáticos (tabela 01).

Barreto et al. (2008), afirma que a relação gonadossomática pode ser utilizada como indicadora dos estádios de maturação, este método foi verificado neste trabalho quando foi feita a análise comparativa entre os índices gonadossomáticos e índices hepatossomáticos, levando em consideração os períodos de maturação gonadal, onde se verificou uma variação entre os períodos de maturação. 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. 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 (tabela 02).

A relação gonadossomática e hepatossomática propostas por Ribeiro (2006), e Silva-Castiglioni (2006), são confirmadas neste trabalho quando se verificou um aumento do índice gonadossomático e uma diminuição do índice hepatossomático nas fêmeas em maturação. Indicando assim a possibilidade de transferência de vitelo do hepatopâncreas para os ovários durante a vitelogênese.

### **Conclusão**

Com base nos resultados analisados conclui-se que:

As observações microscópicas são extremamente importantes. Haja vista, ratificar ou retificar características visíveis macroscopicamente como cor das gônadas, massa ovígeras, massas espermatóforas raspadas e tamanho do animal.

A espécie *P.echinatus* no período chuvoso diminui suas atividades reprodutivas enquanto no período seco ocorre um aumento.

Sugere a ocorrência de transferência de vitelo do hepatopâncreas para as gônadas no período de reprodução de *P. echinatus*.

Que estes resultados venham colaborar para que se crie legislação específica de proteção a esta espécie estudada.

### **Agradecimentos**

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. e 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**, 2008. 25 (4): 689–695.

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**, 193:311-324. 2001.

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

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**, 34(5):315-325. 2002.

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 (submetido). 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 37(6): 581-585. 2002.

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

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. **Braz. J. Biol.**, 2009. 69(1): 143-148.

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, 6: 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** 2006. 90: 119-123.

MILLAMENA, O.M. E 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.

NAKAMURA, K. Maturation of the Spiny lobster *Panulirus japonicus*. **Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University**, 1990.39: 129-135.

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

SILVA, J. R. F.; LANDIM, C. C. Macroscopic aspects and scanning electron microscopy of the ovaries of the spiny lobster *Panulirus* (CRUSTACEA:DECAPODA) Braz. J. morphol.Sci. 2006. 23 (3-4), 479-486.

SIVA-CASTIGLIONI, D. **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.

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

TOLOSA, E.M.C.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O.A.;FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnica para histologia normal e patológica**. Ed. Manole. Barueri, São Paulo. 2003.

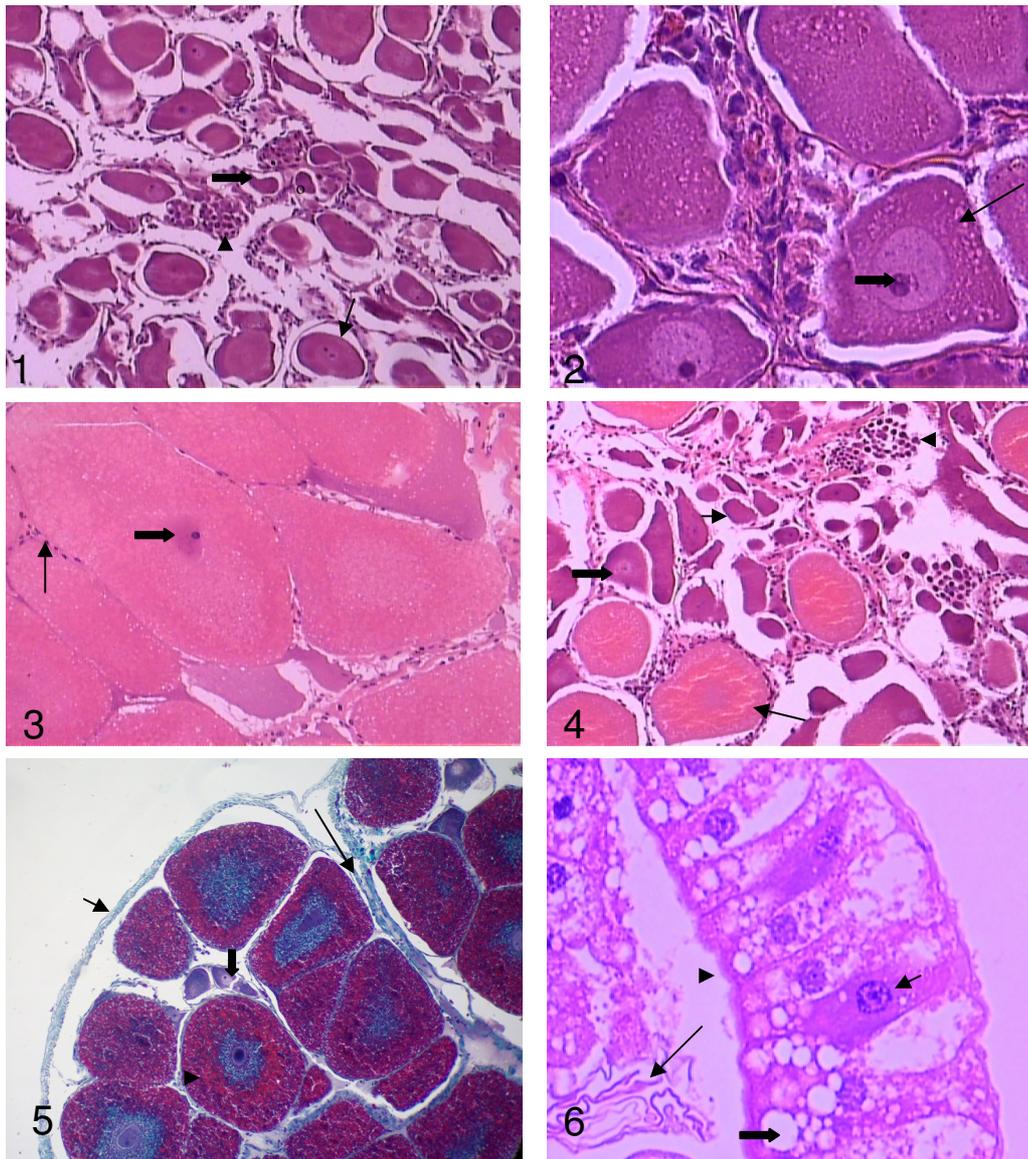
VAZZOLER, A.E.A. DE M. **Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e Prática**. CNPq e Nupelia (UEM), São Paulo, 1996. p. 169.

**TABELA 01.** Análise das médias e desvio padrão dos índices gonadossomáticos e hepatossomáticos de *Panulirus echinatus* nos meses de dezembro de 2007 à novembro de 2008.

MESES	ÍNDICE	Nº ANIMAIS	MÉDIAS	DESVIO PADRÃO
DEZ/07	IGS	12	3,047	±2,511
DEZ/07	IHS	12	3,336	±0,3467
JAN/08	IGS	20	1,846	±1,8426
JAN/08	IHS	20	3,603	±0,7049
FEV/08	IGS	20	4,280	±2,512
FEV/08	IHS	20	2,789	±0,5695
MAR/08	IGS	20	1,104	±1,047
MAR/08	IHS	20	3,713	±0,6544
ABR/08	IGS	11	0,548	±0,1874
ABR/08	IHS	11	3,57	±0,771
MAI/08	IGS	20	0,9362	±1,130
MAI/08	IHS	20	4,316	±0,5563
JUN/08	IGS	20	0,5064*	±0,1673*
JUN/08	IHS	20	4,589*	±0,6816*
JUL/08	IGS	08	0,6635	±0,4156
JUL/08	IHS	08	4,465	±0,8525
AGO/08	IGS	10	2,227	±1,206
AGO/08	IHS	10	4,302	±0,6351
SET/08	IGS	10	3,276	±1,311
SET/08	IHS	10	4,350	±0,5120
OUT/08	IGS	20	2,472	±1,575
OUT/08	IHS	20	3,960	±0,4455
NOV/08	IGS	19	2,362	±1,795
NOV/08	IHS	19	3,730	±0,5222

**TABELA 02.** 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



**Figura 1.** Ovário em estágio II. HE. 140x. Cabeça de seta: ovogônias; seta larga: ovócito I; seta fina: ovócito II. **Figura 2.** Ovário em estágio III. HE. 560x. Seta fina: citoplasma do ovócito II; seta larga: nucléolo. **Figura 3.** Ovário em estágio IV. Histoiresina col. Hematoxilina/floxina. 140x. Seta larga: núcleo do ovócito maduro; seta fina: células foliculares. **Figura 4.** Ovário em estágio V. HE. 140x. Cabeça de seta: ovogônias; seta maior: ovócito maduro; seta menor: ovócito I; seta larga: ovócito II. **Figura 5.** Ovário estágio IV. Col. Tricrômico de Gomori. 280x. Cabeça de seta: ovócito maduro; seta maior: septo conjuntivo; seta menor: revestimento externo; seta larga: ovócito II. **Figura 6.** Epitélio pseudo-estratificado do hepatopâncreas. Histoiresina. Col. Hematoxilina/ floxina. 560x. cabeça de seta: borda em escova; seta larga: célula basal com vacúolo; seta menor: célula cilíndrica com citoplasma basófilo; seta maior: luz com secreções.

**Histoquímica dos ovários e hepatopâncreas de *Panulirus echinatus* (SMITH, 1869) do litoral sul de Pernambuco**

Antônio Pedro Soares <sup>(1)</sup>, Joaquim Evêncio Neto <sup>(2)</sup>

<sup>1)</sup>Prof. Assistente, Faculdade de Formação de Professores da Mata Sul (FAMASUL).

Aluno do Mestrado em Biociência Animal da UFRPE

E-mail: [pedrobiologia@bol.com.br](mailto:pedrobiologia@bol.com.br)

<sup>(2)</sup>Prof. Dr. Adjunto do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal–UFRPE.

E-mail: [evencio@dmfa.ufrpe.br](mailto:evencio@dmfa.ufrpe.br)

**Resumo** - Este trabalho teve como objetivo identificar os componentes armazenados no vitelo em *P. echinatus* do litoral sul de Pernambuco através de métodos histoquímicos. Após serem capturados os animais foram ortonasiados 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, PAS+Hematoxilina, Controle PAS, PAS+Alcian Blue pH 2.5 e Sudan Bleck. 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. 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.

Abstract - This trabalho aimed to identify the components stored in the calf in *P. echinatus* southern coast of Pernambuco by histochemical methods. After being captured animals were ortonasiados thermal 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 with a microtome appropriate ande adjusted to 5 $\mu$ m and 3 $\mu$ m respectively and stained with hematoxylin/eosin, PAS+hematoxylin, control PAS, PAS+Alcian blue ph 2,5 and Sudan Black. The analysis revealed three stages of oocyte: vitellogenesis not, the cytoplasm is basophilic; primary stage of vitellogenesis, when the cytoplasm becomes eosinophils and secondary vitellogenesis, where great amount of yolk granules of eosinophils. It was also found that in the mature oocyte cytoplasm is strongly PAS positive and presence of lipid droplets positive for Sudan. In the hepatopancreas, there was the basal lamina of the hepatopancreatic tubules positive for PAS and glycogen accumulation in the apex of the cells colunares. Estes results indicate the presence of neutral mucopolysaccharides and lipids stored in the oocytes during the reproductive period of the species studied.

Index Terms: reproductive cycle, vitellogenesis, lobster

## Introdução

Taxonomicamente foram descritas cerca de 163 espécies de lagostas, agrupadas em quatro famílias: Nephropidae, Synaxidae, Scyllaridae e Palinuridae, a lagosta pintada (*Panulirus echinatus*, SMITH, 1869) é uma espécie do gênero *Panulirus*, pertencente a família Palinuridae. Segundo Gray (1992), esta família está dividida em nove gêneros, com cerca de cinquenta espécies.

Segundo Góes & Lins-Oliveira (2009) as espécies (*P. argus* e *P. laevicauda*) têm regulamentação da pesca, tais como o tamanho mínimo de captura e os prazos de captura, a espécie *P. echinatus* não tem gestão jurídica, devido à falta de informação biológica reprodutiva.

Apesar da importância como um dos principais recursos pesqueiros da região Nordeste do Brasil, pouco se sabe sobre a biologia reprodutiva das lagostas espinhosas (Silva & Landim, 2006).

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.

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 (Silva & Landim, 2006; Barreto et al., 2008).

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 (Silva-Castiglioni, 2006).

O hepatopâncreas é uma glândula pertencente ao intestino medio 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.

Nos decápodas em geral, os túbulos do hepatopâncreas apresentam cinco tipos celulares que compõem o epitélio secretor, as quais se distribuem ao longo do comprimento destes túbulos, conforme foi descrito por (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).

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 173 animais, fêmeas por um período de 12 meses entre os meses de dezembro de 2007 a novembro de 2008, uma média de 15 animais por mês, na Praia de Tamandaré, Litoral Sul do Estado de Pernambuco. A coleta foi realizada utilizando-se rede de espera e as amostras foram obtidas de forma aleatória. Depois de coletados, os indivíduos foram submetidos à congelação em caixa de isopor e transportados para o Laboratório 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% em tampão fosfato para inclusão em historresina.

Após as inclusões os blocos foram cortados em micrótomos apropriados e ajustados para 5 $\mu$ m e 3 $\mu$ m, respectivamente. Os cortes foram corados em Hematoxilina/Eosina, Hematoxilina/Floxina, PAS+Hematoxilina, Controle PAS, PAS+Alcian Blue pH 2.5 e Sudan Black. (Tolosa, et al., 2003); (Cerri & Sasso-Cerri, 2003). Após as colorações os cortes histológicos foram observados em microscópio de luz e fotografados em

Microscópio Biológico Trinocular Nikon Eclipse 50i acoplado ao sistema de vídeo e captura 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**

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 01, 02 e 03). Estando de acordo com os resultados encontrados por Nakamura (1990) ao descrever o desenvolvimento dos ovócitos de *P. japonicus*.

Verificou-se ainda que nos ovócitos maduros quando submetidos ao Periodic Acid-Schiff (PAS) o citoplasma apresentou-se fortemente PAS positivo, indicando a presença de mucopolissacarídeos neutros. Haja vista, estes mesmos resultados terem sido encontrados com o controle PAS pela amilase salivar e ter sido não reagente ao PAS+Alcian Blue pH 2.5 (figura 04).

Cerri, & Sasso-Cerri (2003), obteve bons resultados utilizando Sudan Black com inclusão em historresina, Neste trabalho adaptou-se esta técnica e se obteve resultados

positivos ao se evidenciar gotículas de lipídios na região periférica dos citoplasmas dos ovócitos maduros que reagiram positivamente ao Sudan (figura 05).

No hepatopâncreas, observou-se a lâmina basal do epitélio pseudoestratificado dos túbulos hepatopancreáticos positiva ao PAS; o acúmulo de glicogênio no ápice das células colunares e borda em escova também positiva ao PAS características da presença de microvilosidades das células abortivas deste órgão (figura 06).

Gunamalai et al. (2006), afirma 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*, fala da 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) afirma 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. 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. 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**

Concluí-se que:

- A presença de mucopolissacarídeos e lipídios 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 pseudoestratificado dos túbulos hepatopancreáticos indica uma característica absorptiva deste órgão no processo de vitelogênese.
- Ocorreu uma transferência de vitelo do Hepatopâncreas para os ovócitos no período de reprodução da espécie *Panulirus echinatus*.

### **Agradecimentos**

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. e 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**, 2008. 25 (4): 689–695.
- 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.
- 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**, 34(5):315-325. 2002.
- 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 andhepatopancreas in the shrimp *Macrobrachium borelli*. **Journal of General Physiology Online**, Lipids 37(6): 581-585. 2002.
- 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
- 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. Braz. J. Biol.**, 2009. 69(1): 143-148.
- 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, 6: 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** 2006. 90: 119-123.

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

NAKAMURA, K. Maturation of the Spiny lobster *Panulirus japonicus*. **Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University**, 1990.39: 129-135.

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

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

SILVA, J. R. F.; LANDIM, C. C. Macroscopic aspects and scanning electron microscopy of the ovaries of the spiny lobster *Panulirus* (CRUSTACEA:DECAPODA) **Braz. J. morphol.Sci**. 2006. 23 (3-4), 479-486.

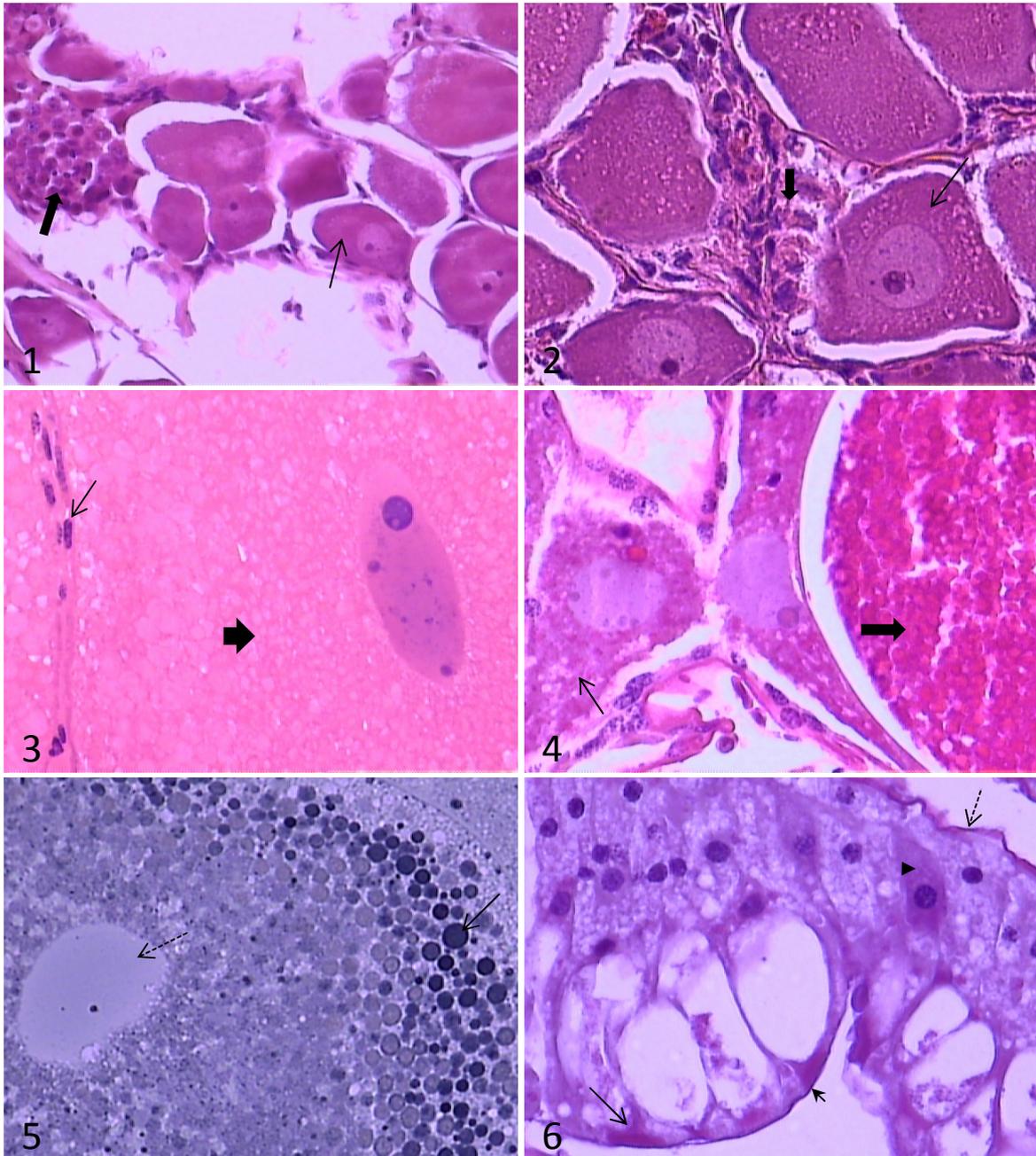
SOUZA, L.G. E PETRIELLA, A.M. Histology of the hepatopancreas of the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus* (crustacean, caridea). **Biocell**, 24(3):189-195. 2000.

TOLOSA, E.M.C.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O.A.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnica para histologia normal e patológica**. Ed. Manole. Barueri, São Paulo. 2003.

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

**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



**Figura 1.** Fotomicrografia de ovário não vitelogênico. HE. 280x. Seta fina: citoplasma do ovócito não vitelogênico; seta larga: ninho de ovogônias. **Figura 2.** Fotomicrografia de ovário em vitelogênese primária. HE. 560x. seta fina: citoplasma do ovócito em vitelogênese primária; seta larga: estroma. **Figura 3.** Fotomicrografia de ovário em Vitelogênese secundária. HF. 560x. Seta fina: núcleo da célula folicular; seta larga: citoplasma em vitelogênese secundária. **Figura 4.** Fotomicrografia de ovário em maturação. PAS. 560x. seta fina: citoplasma de célula não vitelogenica; seta larga: citoplasma do ovócito em vitelogênese secundária. **Figura 5.** Fotomicrografia de ovário maduro. Sudan Black. 560x. Seta fina: gotículas de lipídeos; seta pontilhada: núcleo do ovócito em vitelogênese secundária. **Figura 6.** Fotomicrografia de hepatopâncreas. PAS. 560x. Seta maior: glicogênio; seta menor: borda em escova; cabeça de seta: citoplasma de célula colunar; seta pontilhada: lâmina basal do epitélio pseudoestratificado do túbulo hepatopancreático.