

REGENERAÇÃO DE ESPERMATÓFOROS NO "CAMARÃO ROSA"
Penaeus (Farfantepenaeus) paulensis PÉREZ FARFANTE, 1967 (
CRUSTACEA, DECAPODA, PENAEIDAE), EM LABORATÓRIO

SÉRGIO WINCKLER DA COSTA ¹, PAULO ARMANDO MORALES DO NASCIMENTO ².

- 1- Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão de Tecnologia de Santa Catarina S.A. (EPAGRI) - Cx. P. 502, Florianópolis, SC. CEP. 88034-901.
- 2- Departamento de Aquicultura - CCA-UFSC. Cx. P. 476, Florianópolis, SC. CEP. 88090-970.

ABSTRACT

Spermatophore (E) and spermatozoon quality is a basic need for *Penaeus* reproduction. The objective of this article is to observe the E capacity of regeneration and the quality of regenerates for *P. paulensis*. Sixteen (16) males sampled from Itacorubi Station of the Department Aquaculture, UFSC - Florianópolis, Brazil ponds kept in aquarium, had its spermatophores manually extruded.

The spermatophore weight (PESP) as well as the number of spermatozoa (NESP) were determined with procedures described elsewhere. After the first extrusion the males were daily inspected for detection of a new E. When it was observed, procedures were repeated and interrupted with the specimen's death.

It was recorded one (1) to four (4) regenerations/animal, always in the morning after the nocturnal ecdysis. Regeneration time was 2-22 days after extrusion and coincident with intermolt period. NESP of regenerated Es was greater than the first in 82% of the records, but the PESP decreased in 62%. These last results were similar as the observed for *P. stilirostris*, and indicates the continuity of the studies in *P. paulensis* for enhancement of the recent success in artificial insemination in this species.

Key Words: spermatophore regeneration, shrimp reproduction, *Penaeus paulensis*.

RESUMO

A qualidade dos espermatóforos (E) e espermatozóides é um fator importante para reprodução em *Penaeus*. Examinar a capacidade de regeneração e a qualidade dos E regenerados em laboratório para *P. paulensis* é o objetivo deste trabalho. Dezesesseis machos oriundos de viveiros da Estação do Itacorubi do Departamento de Aquicultura da UFSC - Florianópolis, foram mantidos em aquários, o E foi retirado por extrusão manual, pesado (PESP) e o número de

espermatozoides (NESP) obtidos através de métodos relatados em trabalho anterior. Após a primeira extrusão os indivíduos eram inspecionados diariamente para detectar o aparecimento de novos E. Se verificada, os procedimentos acima eram repetidos e só interrompidos após a morte do exemplar.

Foram observados de 1 a 4 regenerações por indivíduo e todos ocorreram no dia subsequente à ecdise noturna. O tempo de regeneração variou de 2 a 22 dias após a extrusão. O NESP dos E regenerados foi superior ao do primeiro E em 82% das observações, mas o PESP decresceu em 62% dos casos. Os resultados confirmam dados obtidos para *P. stylirostris* para outros autores, bem como recomendam a continuidade dos estudos, em função do sucesso recentemente obtido nas inseminações artificiais para *P. paulensis*.

Palavras chave: regeneração do espermatóforo, reprodução de camarões, *Penaeus paulensis*.

INTRODUÇÃO

Estudos sobre reprodução de camarões em cativeiro forneceram indícios de que problemas na fertilização dos óvulos estariam relacionados aos machos em: *Penaeus setiferus* (BROWN, et. al, 1979), *P. plebejus* (KELEMEC & SMITH, 1980), *P. monodon* (AQUACOP, 1983), *P. setiferus*, *P. stylirostris* e *P. vannamei* (CHAMBERLAIN et. al, 1973) e *P. stylirostris* (CHAMBERLAIN & GERVAIS, 1984). Estas evidências levaram vários pesquisadores a investigar as condições reprodutivas dos machos de algumas espécies de peneídeos: *P. vannamei* (CHAMBERLAIN & LAWRENCE, 1981; LEUNG-TRUJILLO & LAWRENCE, 1985), *P. setiferus* (LEUNG-TRUJILLO & LAWRENCE, 1987; BRAY et al, 1985; TALBOT et. al. 1989).

O conhecimento da biologia reprodutiva dos machos é fundamental para o aprimoramento das técnicas de inseminação artificial, as quais vem sendo experimentados em camarões do gênero *Penaeus* com o intuito de aumentar a eficiência da reprodução em cativeiro (LAWRENCE & HUNER, 1987); com *Penaeus paulensis* a inseminação artificial está sendo testada em operações de larvicultura (RODOLFO PETERSEN, com. pes.).

Penaeus paulensis, "o camarão rosa" distribuiu-se entre o cabo de São Tomé, 22° Sul e o nordeste da Argentina 38°30' Sul (IWAI, 1973). Constitui-se um importante recurso pesqueiro na região sul do Brasil sendo capturado pela frota industrial na fase adulta desde o litoral do Estado do Rio de Janeiro, até o Estado de Santa Catarina e pela pesca artesanal na fase juvenil, com destaque para a Lagoa dos Patos (Estado do Rio Grande do Sul) e "Complexo Lagunar" (Estado de Santa Catarina) (CARDOSO, 1980).

Os conhecimentos sobre a biologia da reprodução dos machos de *P. paulensis* foram revisados por COSTA (1992) que não refere informações sobre a regeneração de espermatóforos.

Este estudo descreve o comportamento do número de espermatozoides (NESP) e peso de espermatozoides (PESP) de *P. paulensis* em regenerações sucessivas em laboratório, com o objetivo de ampliar a base de conhecimento sobre o processo de reprodução em cativeiro da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se para este experimento dezesseis machos de *P. paulensis* provenientes de viveiros da Estação Itacorubi do Departamento de Aquicultura da UFSC, Florianópolis. Os camarões após a captura foram mantidos em uma caixa de fibrocimento de 1.000 (um mil) litros, contendo filtro de areia.

O tempo de regeneração do espermatóforo foi medido através dos seguintes procedimentos:

1) Obteve-se, para cada indivíduo, as medidas de peso total (PT), em gramas; comprimento total (CT), em centímetros - medida linear entre a extremidade livre do telson - e o comprimento da carapaça (CC), medido em centímetros - medida linear entre o ângulo orbital e o mediano superior dorsal da carapaça;

2) a transparência do exoesqueleto permitiu que a presença de espermatóforos pudesse ser constatada pela coloração esbranquiçada da área de inserção do quinto par de pereiópodos;

3) os camarões retirados do tanque foram colocados em um recipiente com água cuja temperatura estava entre 8,0° e 12,0°C, ficando anestesiados pelo choque térmico;

4) os espermatóforos foram retirados por extrusão manual (compressão da região látero-ventral posterior à inserção do par de pereiópodos), de acordo com recomendações de LIN & TING (1986). Os espermatóforos foram pesados e contado o seu número de espermatozoides conforme metodologia descrita em trabalhos anteriores destes autores (COSTA & NASCIMENTO, 1993 a e b);

5) concluída a extrusão, a água do recipiente foi trocada gradualmente por outra com a mesma temperatura da água dos aquários. A seguir, os camarões foram colocados em aquários de vidro (30x30x20 cm) com aeração constante, renovação diária de 80% da água, temperatura não controlada onde algumas medições apresentaram valores entre 21,0° e 25,0°C e alimentação duas vezes ao dia com berbigão (*Anomalocardia brasiliensis*) e marisco (*Perna perna*);

6) durante a permanência nos aquários de vidro, a região de inserção do 5° par de pereiópodos foi examinada diariamente para verificação do aparecimento de um novo espermatóforo; quando este era observado, os procedimentos descritos de 3 a 5 foram repetidos até o máximo de 4 regenerações;

7) foi anotada a ocorrência da ecdise e a sobrevivência dos indivíduos.

Os dados obtidos, para cada indivíduo, foram analisados por inspeção gráfica, onde os valores do número de espermatozoides (NESP) e o peso

do espermatóforo (PESP) para cada espermatóforo produzido foi lançado contra cada regeneração.

RESULTADOS

Os valores do comprimento (CT), peso total (PT) e comprimento da carapaça (CC) dos camarões no início do experimento, os valores do peso do espermatóforo do número de espermatozóides e a data para cada extrusão, assim como o tempo entre a extrusão e a próxima regeneração (T) encontram-se na Tabela I.

A regeneração do espermatóforo ocorreu somente após a realização da ecdise. O tempo entre a primeira extrusão e a primeira regeneração variou de 2 a 15 dias, entre a segunda extrusão e a segunda regeneração de 9 a 22 dias, entre a terceira extrusão e a terceira regeneração de 10 a 12 dias e entre a quarta extrusão e a quarta regeneração (apenas um caso) 12 dias (Tab. I).

Os valores do número de espermatozóides e o peso do espermatóforo, por espermatóforo, nas séries de regenerações, por indivíduo estão na figura 1. O número de espermatozóides dos espermatóforos regenerados, na maioria dos casos (82%) foi superior ao número de espermatozóides do espermatóforo obtido na primeira extrusão. O comportamento do peso do espermatóforo nas séries de regeneração por indivíduo foi diferente do verificado para o número de espermatozóides, pois houve queda dos valores em relação ao peso inicial em 63% dos casos observados.

DISCUSSÃO

A regeneração de espermatóforos através de extrusão artificial tem sido obtida com sucesso em várias espécies de peneídeos: *P. penicillatus* (LIN, 1986), *P. stylirostris* (OTOGALLI, 1989; ALFARO, 1993), *P. monodon* (LIN & TING, 1986), *P. schmitti* (TAMAME, 1987), *P. vannamei* (HEITZMANN & AQUACOP, 1993). Os resultados do presente trabalho adicionam *P. paulensis* a esta lista.

BIZOT-ÉSPIARD (1980) realizou observações em 2 exemplares de *P. japonicius* coletados na natureza e julgou obter evidências de sincronia entre o ciclo de muda e a formação e transferência de espermatóforos, avançando a hipótese de que um macho somente poderia copular uma vez a cada ciclo de muda. Os resultados obtidos (Tab. I) concordam com essa hipótese, pois estando a ampola

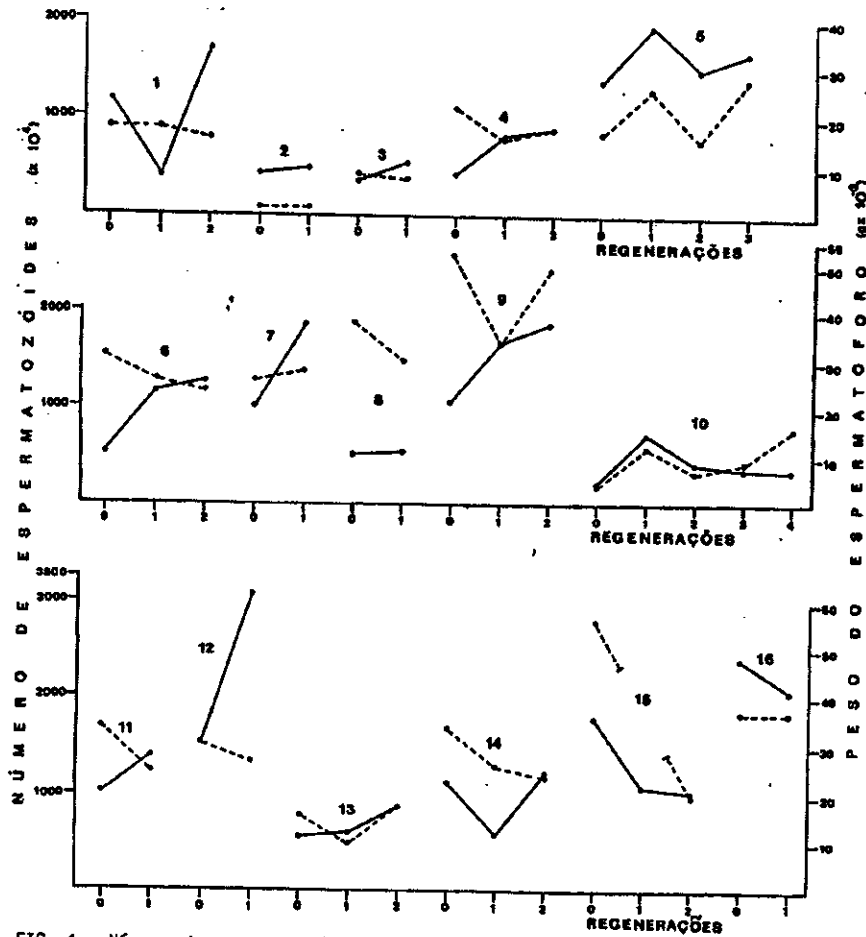


FIG. 1 - Número de espermatozoides (—) e peso do espermatóforo (---) nas séries de regeneração por indivíduo (1 a 16).

terminal vazia um novo espermatóforo só apareceu após a muda. O mesmo ocorreu em experimentos similares com *P. stylirostris* (ALFARO, l.c.).

Os períodos de regeneração observados para outras espécies, onde a observação não levou em consideração a ecdise, variaram de 4 a 11 dias (LIN, 1986; OTOGALLI, 1989; LIN & TING, 1986 e TAMAME, 1987), períodos similares aos observados para *P. paulensis* na primeira regeneração (TAB. I). Os valores pequenos estão relacionados possivelmente ao fato de que a extrusão tenha sido realizada em um estágio de muda próximo à ecdise. Os períodos das outras

regenerações estão claramente associados ao período intermuda da mesma maneira que o observado por ALFARO (1993) e HEITZMANN & AQUACOP (1993).

O NESP dos espermatóforos regenerados aumentou em 80% dos casos observados e o PESP decresceu em 60%, num experimento similar conduzido com *P. stylirostris* (ALFARO, 1993), resultados bastante aproximados aos obtidos no presente trabalho.

As respostas diversas do PESP e do NESP adicionaram evidências ao sugerido por COSTA & NASCIMENTO (1993 a e b) de que em *P. paulensis* esses caracteres respondem de maneira diversa a estímulos ambientais. Reforçando esta opinião ALFARO (1993) sugeriu que o amadurecimento do vaso deferente é posterior ao do testículo em *P. stylirostris*.

A queda nos valores de peso do espermatóforo demonstra que as condições de vida durante o ciclo espermatofórico afetam a massa do espermatóforo, mas não o NESP. Uma das causas prováveis do aumento do NESP pode ser os incrementos de peso e tamanho a cada muda, que embora não tenham sido medidos, é lícito supor que tenham ocorrido e portanto influenciado o aumento do NESP, já que COSTA & NASCIMENTO (1993 a) demonstraram que ambas as variáveis estão correlacionadas positivamente.

O experimento conduzido no presente trabalho e das outras espécies (extrusão artificial do espermatóforo) está longe de ser comparável a qualquer processo natural. Assim é necessário ampliar as observações, para que uma hipótese geral sobre o processo de regeneração do espermatóforo seja formulada. Por outro lado a morte da maioria dos indivíduos após a segunda extrusão provavelmente foi causada pelas instalações e manipulação pouco adequadas. É importante que a técnica de extrusão e de manutenção dos machos seja pesquisada para aumentar a eficiência da técnica.

Os resultados aqui apresentados recomendam a continuidade dos estudos sobre a qualidade reprodutiva dos machos de *P. paulensis* visando aumentar o sucesso da larvicultura da espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALFARO, J. Reproductive quality evaluation of male *Penaeus stylirostris* from a grow-out pond. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.24, n° 01, p. 7 - 11, 1993.
- AQUACOP. Constitution of broodstock, maturation, spawning and hatching systems for penaeid shrimps in the Centre Oceanologique del Pacifique. In: Mcvey, J. P. **CRC Handbook of mariculture**. Florida: CRC Press, 1983. 442 p. p. 105 - 127. v. 01, Crustacean Aquaculture.
- BIZOT ESPIARD, A. Croissance et reproduction de la crevette *Penaeus japonicus* (BATE) en élevage: effets de l'épédonculation histologie de

l'appareil génital mâle. Bretagne Occidentale, Université de Bretagne Occidentale, 1980. 168 p. Tese Doutorado.

- BRAY, W. A. ; LEUNG - TRUJILLO, J. R. ; LAWRENCE, A. L.; ROBERTSON, S. M. Preliminary investigation of effects of temperature, bacterial inoculation, and EDTA on sperm quality in captive *Penaeus setiferus*. **J. World Maricul. Soc.**, v. 16, p. 25 - 257, 1985.
- BROWN, Jr.; McVEY, J.; MIDDLEDITCH, B. S.; LAWRENCE, A. L. Maturation of white shrimp (*Penaeus setiferus*) in captivity. **Proc. World Maricul. Soc.**, v. 10, p. 435 - 444, 1979.
- CARDOSO, R. D. Exploração pesqueira em SC e na Região Sudeste/Sul do Brasil. In: SEMANA DE ESTUDOS: O MAR E SEUS RECURSOS, 1980, Florianópolis, UFSC, 1980. 127 p. p. 75 - 96.
- CHAMBERLAIN, G. W.; GERVAIS, N. F. Comparison of unilateral eyestalk ablation with enviromental control for ovarian maturation. **J. World Maricul. Soc.**, v. 15, p. 29 -30, 1984.
- CHAMBERLAIN, G. W.; JOHNSON, S. K.; LEWIS, D. H. Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult Penaeid shrimp. **J. World Maricul. Soc.**, v. 14, p. 135 - 136, 1983.
- CHAMBERLAIN, G. W.; LAWRENCE, A. L. Effect of light intensity and male an female eyestalk ablation on reproduction of *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei*. **J. World Maricul. Soc.**, v. 12, nº 02, p. 357 -372, 1981.
- COSTA, S. W. & NASCIMENTO, P. A. M. O número de espermatozóides por espermatóforo em *Penaeus paulensis* PÉREZ-FARFANTE,1967 (CRUSTACEA, DECAPODA, PENAEIDAE). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE CULTIVO DE CAMARÃO, 4 e CONGRESSO BRASILEIRO DE AQUACULTURA, 1. 1993. João Pessoa. **Anais ... João Pessoa, MCR Aquacultura LTDA, 1993, p. 497 - 519.**
- COSTA, S. W. & NASCIMENTO, P. A. M. O peso do espermatóforo em *Penaeus paulensis* PÉREZ-FARFANTE,1967 (CRUSTACEA, DECAPODA, PENAEIDAE). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE CULTIVO DE CAMARÃO, 4 e CONGRESSO BRASILEIRO DE AQUACULTURA, 1. 1993. João Pessoa. **Anais ... João Pessoa, MCR Aquacultura LTDA, 1993, p. 521 - 538.**

- COSTA, S. W. Aspectos da reprodução de machos do "camarão rosa". *Penaeus (Farfantepenaeus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) para o manejo de reprodutores em aquicultura. Florianópolis, UFSC, 1992. 120 p. Tese (Mestrado em Aquicultura), Universidade Federal de Santa Catarina, 1992.
- HEITZMANN, J. C.; DITER, A. & AQUACOP. Spermatophore formation in the white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone 1931: dependence on the intermoult cycle. *Aquaculture*, v. 116, p. 91 - 98, 1993.
- IWAI, M. O. Camarão no centro-sul do Brasil. São Paulo, SUDELPA, 1973, 71 p.
- KELEMEC, J. A.; SMITH, J. R. Induced ovarium development and spawning of *Penaeus plebejus* in a recirculating laboratory tank after unilateral eyestalk enucleation. *Aquaculture*, v. 21, p. 55 - 62, 1980.
- LAWRENCE, A. L.; HUNER, V. J. Penaeid shrimp culture in the United States: a brief overview stressing species, seed production and growout. In: C. J. DINDERMANN (ed.). Reproduction, maturation and seed production of cultures species. NOAA. Technical Report NMFS., v. 47, p. 31 - 41, 1987.
- LEUNG-TRUJILLO, J. R.; LAWRENCE, A. L. The effect of eyestalk ablation on spermatophore and sperm quality in *Penaeus vannamei*. *J. World Maricul. Soc.*, v. 16, p. 258 - 266, 1985.
- LEUNG-TRUJILLO, J. R.; LAWRENCE, A. L. Observations on the decline in sperm quality in *Penaeus setiferus* under laboratory conditions. *Aquaculture*, v. 65, p. 363 - 370, 1987.
- LIN, M. N. Eletrically induced ejaculation and spermatophore transplantation in the red tailed shrimp *Penaeus penicillatus* Alock. In: SIMPOSIUM ON MARINE BIOLOGICAL SCIENCE, 8, 1986. *Proceedings... Monograph Series*, nº 14, p. 209 - 221, 1986.
- LIN, M. N.; TING, Y-Y. Spermatophore transplantation and artificial fertilization in grass shrimp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, v. 52, nº 04, p. 585 - 589, 1986.
- OTOGALLI, L. Increased production of nauplii (*Penaeus stylirostris* Stimpson, Mexicam Strain) from a captive brodstock using ablated and regenerates males for artificial inseminations. Nouméa, France Aquaculture/Station d'Aquaculture de Saint-Vicent, 1989. 8 p. Trab. apres. no

20 Annual Meeting of de World Aquaculture Society, Los Angeles, California. Mimeogr.

- TALBOT, P.; HOWARD, D.; LEUNG-TRUJILLO. J.; LEE, T. W.; LI, W-Y; RO, H.; LAWRENCE, A. L. Characterization of male reproductive tract degenerative syndrome in captive Penaeid shrimp (*Penaeus setiferus*). *Aquaculture*, v. 78, p. 365 - 377, 1989.
- TAMAME, M. T. A. Eléctroyaculación y tiempo de regeneración del espermatóforo del camarón blanco *Penaeus schmitti* Burkenroad. Cuba, Universidad de Oriente/Facultad de Biología-Farmacología, 1987. 63 p. + 9 Tabs + 15 Figs. Monografía.

TABELA I - Regeneração de espermatozóides. Valores do comprimento total (CT), peso total (PT) e comprimento da carapaça (CC) no início do experimento e a data, os valores do peso do espermatozóide (pesp) e número de espermatozóides (nesp) para cada extrusão, assim como o tempo entre a extrusão e a próxima regeneração (T), n = ordem.

n	CT (cm)	PT (g)	CC (cm)	1ª extrusão			2ª extrusão			3ª extrusão			4ª extrusão			5ª extrusão			tempo est.		
				data	pesp (g)	nesp x 10 ⁶	data	pesp (g)	nesp x 10 ⁶	data	pesp (g)	nesp x 10 ⁶	data	pesp (g)	nesp x 10 ⁶	data	pesp (g)	nesp x 10 ⁶	T1	T2	T3
1	-	13,3	2,69	06/03/91	0,018	1.181,25	21/03/91	0,018	356,25	0,015	1.743,25	-	-	-	-	-	-	15	15	-	-
2	-	5,9	-	14/11/90	0,002	496,90	27/11/90	0,002	500,00	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-
3	-	13,2	2,67	13/03/91	0,009	387,50	26/03/91	0,008	543,30	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-
4	-	12,1	2,38	11/03/91	0,022	475,00	24/03/91	0,016	812,25	10/04/91	0,018	893,75	-	-	-	-	-	13	17	-	-
5	10,16	9,8	2,31	12/11/90	0,017	1.418,75	27/11/91	0,026	1.962,50	11/12/90	0,016	1.500,00	23/12/90	0,028	1.700,00	-	-	15	14	12	-
6	-	15,2	2,70	08/03/91	0,031	531,25	19/03/91	0,026	1.181,25	10/04/91	0,024	1.281,25	-	-	-	-	-	11	22	-	-
7	13,4	19,3	2,96	26/03/91	0,026	1.050,00	07/04/91	0,028	1.887,50	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-
8	11,7	23,1	3,07	22/01/91	0,038	531,25	29/01/91	0,030	537,30	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-
9	-	17,8	2,76	29/11/90	0,052	1.036,25	06/12/90	0,034	1.687,50	22/12/90	0,049	1.893,50	-	-	-	-	-	7	16	-	-
10	10,1	9,6	2,27	13/11/90	0,004	237,5	21/11/90	0,012	725,00	30/11/90	0,007	450,00	10/12/90	0,009	387,50	0,016	368,75	8	9	10	12
11	13,1	19,1	2,88	29/11/90	0,034	1.025,00	05/12/90	0,025	1.400,00	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
12	13,3	19,7	2,82	12/12/90	0,031	1.531,25	14/12/90	0,027	3.081,25	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
13	-	13,1	2,62	08/03/91	0,016	568,75	11/03/91	0,010	593,75	29/03/91	0,018	881,25	-	-	-	-	-	3	18	-	-
14	-	18,9	2,91	22/03/91	0,034	1.187,50	31/03/91	0,026	593,75	17/04/91	0,024	1.206,25	-	-	-	-	-	9	17	-	-
15	14,8	27,2	3,29	21/03/91	0,056	1.756,25	30/03/91	-	1.081,25	15/04/91	0,020	1.637,25	-	-	-	-	-	9	16	-	-
16	-	17,5	2,94	20/11/90	0,037	2.400,00	22/11/90	0,037	2.050,00	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-