



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**EFEITO DO DETERGENTE DE USO DOMÉSTICO SOBRE OS
COMPORTAMENTOS AGONÍSTICO E EXPLORATÓRIO DO
CAMARÃO DE ÁGUA-DOCE *MACROBRACHIUM OLFERSI*
(WIEGMAN, 1836) (CRUSTACEA, DECAPODA)**

LIZIA CARBOLIN MARTINS

Florianópolis
Fevereiro de 2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**EFEITO DO DETERGENTE DE USO DOMÉSTICO SOBRE OS
COMPORTAMENTOS AGONÍSTICO E EXPLORATÓRIO DO
CAMARÃO DE ÁGUA-DOCE *MACROBRACHIUM OLFERSI*
(WIEGMAN, 1836) (CRUSTACEA, DECAPODA)**

LIZIA CARBOLIN MARTINS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação Neurociências da UFSC como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Neurociências.

Orientadora: Yara Maria Rauh Müller

Florianópolis
Fevereiro de 2007

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço a Deus.

Agradeço a minha orientadora Yara Müller pela dedicação e amizade desde que cheguei ao laboratório, ainda na segunda fase do meu curso de graduação.

Aos amigos e colegas de laboratório Evelise, Dib, Márcia, Karol, Fran, Heloísa, Kauê, Juliana e Tiago pela ajuda, apoio, cafés, risadas.. enfim, por tornar o ambiente de trabalho muito mais agradável.

Aos amigos Patchuca, Kanae, Mixy, Carla (cunhada), Cris Bressan, Mi Kaster, Marcos, Luzi e Cíntia, que não presenciaram cada etapa do meu trabalho, mas que mesmo de longe apoiaram, incentivaram (cada um a seu jeito) e ouviram minhas reclamações.

Aos amigos Mah, Manu e Rafa que sentiram na pele o que é ter uma mestrandia na sua vida... vocês valem ouro!

A minha família pelo amor, apoio e total confiança no meu potencial. Amo vocês.

Ao Paulo, fundamental para que eu concluísse mais essa etapa de minha vida acadêmica, me dando o apoio, o ânimo e a felicidade que eu tanto precisava.

Ao Rony, minha eterna alegria mesmo nos momentos onde tudo parece desanimador...

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse ao fim de dois anos com um mestrado pronto e animada para seguir em frente.

A CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

A constante poluição de ambientes aquáticos tem aumentado a preocupação e o interesse em estudos que mostrem a ação destes contaminantes, sendo que grande parte dos trabalhos usam invertebrados como modelo experimental. Um efluente muito encontrado em córregos e riachos é o detergente doméstico, que tem aumentado consideravelmente a poluição do habitat de crustáceos e outros animais. Entre os crustáceos da família Palaemonidae, *Macrobrachium olfersi* destaca-se pela sua grande representatividade na Ilha de Santa Catarina. Trabalhos que registram o repertório comportamental de palaemonídeos são descritos na literatura, sendo que a sua caracterização é de grande utilidade para a observação de alterações dos padrões da espécie e a sua relação com fatores fisiológicos e ambientais. Associadas aos padrões comportamentais estão as monoaminas, responsáveis pelo processamento e o controle funcional do sistema nervoso nos crustáceos, o qual é bem estruturado, com a presença de pares de gânglios cerebrais que podem apresentar diferentes níveis de compactação e pelo cordão nervoso ventral. Este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos causados por detergentes aniônicos (LASNa) na dinâmica comportamental de *M. olfersi* analisando possíveis alterações na estrutura dos gânglios cerebrais dos animais expostos ao detergente. Exemplares adultos foram coletados e distribuídos com 2 machos e 3 fêmeas (2M:3F) em aquários (30L), sendo divididos em grupo controle e grupo tratado. O grupo tratado teve a adição de 0,07% de detergente na água do aquário. Os animais foram acompanhados por até 15 dias, tendo os comportamentos agonístico e exploratório registrados através de filmagens e analisado com auxílio de planilhas. Os camarões foram dissecados (4°C) no dia 5 (1M:1F), dia 10 (1F) e no dia 15 (1M:1F), sendo os gânglios nervosos fixados em Bouin alcoólico (24h), incluídos em parafina, seccionados a 8 µm e submetidos à técnica de HE e imunohistoquímica para marcação de serotonina, cálcio calmodulina e FMRF-amida. O estabelecimento de hierarquia não foi alterado pelo detergente, no entanto o contaminante afetou de forma significativa o comportamento agonístico dos animais, sendo que tanto os machos como as fêmeas mostraram-se mais agressivos. Foram registrados 20 confrontos entre machos e fêmeas tratados e apenas 3 encontros no grupo controle. O comportamento exploratório dos machos tratados não foi alterado, enquanto as fêmeas tratadas apresentaram frequência de exploração maior que as fêmeas controle. A estrutura dos gânglios nervosos do camarões não foi afetada pelo detergente, como mostrou a técnica de HE. Além disso, não foi possível relacionar o aumento da agressividade dos animais tratados com a imunomarcação da serotonina, cálcio calmodulina e FMRF-amida. O presente estudo demonstra que o detergente de uso doméstico altera os comportamentos agonístico e exploratório dos animais a ele expostos. No entanto, não foi possível através de técnicas de imunohistoquímica identificar alterações estruturais nos gânglios nervosos.

ABSTRACT

The continual pollution in the aquatic environments have been increasing the concern and interest about studies that show the effect of this contaminants and some of this studies use invertebrates as experimental model. A common effluent found in freshwater streams is the domestic detergent which has considerably increases the pollution in crustacean and other animals habitat. In the crustacean family Palaemonidae, *Macrobrachium olfersi* stands out for its representativity in the Santa Catarina Island. Studies that recorded the repertory behavior in palaemonides have been described in the literature and this characterization has a lot of utility for observation of alterations in behavior standards in the specie and the relation with physiologic and environmental factors. In association with behavior standards are the monoamines responsible for the process and functional control in the nervous system in crustaceans which is well structure shaped with couples of cerebral ganglia that can show different levels of compactation and the nervous ventral cord. The aim of these study is rate the effects caused by anionic detergents (LASNa) in the behavior of *M. olfersi* and analyzing possible alterations in the cerebral ganglia I animals exposed to detergent. Adult prawns were collected and housed in two 30 liters aquaria (2 males:3 females), one control and another treated aquarium. The treated aquarium had 0,07% of domestic detergent added in the water. Prawns were observed until 15 days with registration of agonistic and exploratory behaviors in VHS records. Animals were dissected (4°C) in 5 (1M:1F), 10 (1F) and 15 days (1M:1F), and the cerebral ganglia were fixed in alcoholic Bouin (24h), included in paraffin, cut in 8 um and submitted to HE technique and imunohistoquimic to detection on serotonin, calcium calmodulin and FMRF-amine. The establishment of a hierarchy were not affected by detergent but this contaminant affect significantly the agonistic behavior where both males and females were more aggressive. Were recorded 20 fights between treated males and females and just 3 fights in the control group. The exploratory behavior from males were not altered while the treated females showed a higher exploratory frequency than the control. O comportamento exploratório dos machos tratados não foi alterado, enquanto as fêmeas tratadas apresentaram frequência de exploração maior que as fêmeas controle. The structure of the cerebral ganglia was not affected by the detergent as showed by HE technique. Besides, was not possible a relation between the increase of agressivity from treated animals and the serotonin, calcium calmodulin and FMRF-amine stains. This study shows that domestic detergent alters the agonistic and exploratory behaviors in prawns exposed to the contaminant. However was nor possible by imunohistoquimic techniques identify structural alterations in the cerebral ganglia.

SUMÁRIO

Resumo	04
Abstract.....	05
Lista de figuras e tabelas.....	07
Lista de abreviaturas	09
1. Introdução	10
1.1 Poluentes e modelo biológico.....	10
1.2 Repertório comportamental	13
1.3 Organização do sistema nervoso	15
1.4 Processamento e controle do sistema nervoso	17
2. Objetivos	21
3. Materiais e Métodos	22
3.1 Estudos experimentais	23
3.2 Monitoramento do comportamento	24
3.3 Planilhas de observação e análise estatística dos comportamentos	26
3.4 Análise microscópica dos gânglios cerebrais	27
4. Resultados	29
4.1 Comportamento agonístico.....	31
4.2 Comportamento exploratório	42
4.3 Análise microscópica dos gânglios cerebrais	53
5. Discussão.....	58
6. Considerações finais	70
7. Referências Bibliográficas	71
Anexos.....	81

Lista de figuras e tabelas

A) Lista de figuras

Fig. 1: Modelo para o sistema nervoso central dos decápodos modificado de Beltz (1999) e esquema representando a estrutura cerebral (adaptado de Sandeman & Scholtz, 1995).....	16
Fig. 2: Esquema de exemplares adultos de <i>Macrobrachium olfersi</i>	22
Fig. 3: Diferenças no tamanho e robustez do quelípodo de <i>M. olfersi</i>	30
Fig. 4: Exemplares de <i>M. olfersi</i> utilizados no experimento.....	30
Fig. 5: Número de confrontos registrados em 10 dias de observação.....	34
Fig. 6: Demonstração de dominância pelos animais maiores.....	34
Fig. 7: Comportamentos agonísticos entre machos de <i>M. olfersi</i>	35
Fig. 8: Comportamentos de extensão do quelípodo (CEX), elevação completa (CLF), beliscão (NIP) e empurrão (PSH) nos machos.....	36
Fig. 9: Comportamentos agonísticos entre fêmeas de <i>M. olfersi</i>	37
Fig. 10: Comportamentos de aproximação para posicionamento frontal (APF) e afastamento (MVA) nas fêmeas.....	38
Fig. 11: Comportamentos de rotação para posicionamento frontal (TRP), fuga rápida (AFX) e empurrão (PSH) nas fêmeas.....	39
Fig. 12: Comportamentos agonísticos entre machos e fêmeas de <i>M. olfersi</i>	40
Fig. 13: Comportamentos de aproximação para posicionamento frontal (APF) e afastamento (MVA) entre machos e fêmeas do grupo tratado.....	41
Fig. 14: Comportamentos de fuga rápida (AFX), extensão do quelípodo (CEX) e beliscão (NIP) para machos e fêmeas do grupo tratado.....	42
Fig. 15: Permanência dos machos abrigados no aquário (ABG).....	45

Fig. 16: Permanência das fêmeas abrigadas no aquário (ABG).....	46
Fig. 17: Permanência de machos e fêmeas fora do abrigo.....	47
Fig. 18: Fêmea maior e dominante de <i>M. olfersi</i> abrigada e a fêmea menor fora do abrigo	48
Fig. 19: Comportamento de ocupação de abrigos livres (EAL) pelas fêmeas..	49
Fig. 20: Permanência dos machos abrigados e fora do abrigo.....	49
Fig. 21: Permanência das fêmeas abrigadas e fora do abrigo.....	50
Fig. 22: Permanência dos machos e das fêmeas abrigados e fora do abrigo..	51
Fig. 23: Comportamento de natação na coluna d'água (NCS) nas fêmeas.....	52
Fig. 24: Gânglios nervosos de <i>M. olfersi</i> submetidos à técnica de HE e a imunomarcaçã serotonérgica.....	54
Fig. 25: Marcação da FMRF-amida nos gânglios cerebrais de <i>M. olfersi</i>	55
Fig. 26: Região do lobo olfatório corado com HE e com imunomarcaçã da serotonina, cálcio calmodulina e da FMRF-amida	56
Fig. 27: Esquema da imunomarcaçã da serotonina, cálcio calmodulina e FMRF-amida nos gânglios cerebrais de <i>M. olfersi</i>	57

B) Lista de tabelas

Tab. 1: Dados biométricos médios dos animais utilizados no experimento.....	23
Tab. 2: Comportamentos agonísticos em <i>M. olfersi</i>	25
Tab. 3: Definição de hierarquias encontradas para a espécie <i>M. olfersi</i>	29
Tab. 4: Média das freqüências de cada comportamento agonístico em <i>M. olfersi</i>	32
Tab. 5: Comportamentos exploratórios em <i>M. olfersi</i>	44

Lista de abreviaturas

ABG - Abrigado	MCF - Machos controle fora do abrigo
AC – Agrupamento do lobo olfatório	ME – Medula externa
AEA - Explora e abriga	MI – Medula interna
AFS - Explora o fundo do aquário	MTA - machos tratados abrigados
AFX - Fuga rápida	MTF - Machos tratados fora do abrigo
ALC - Aproximar quebra levantando o corpo	MVA - Afastamento
ANF - Aproximação para posicionamento não-frontal	NCS - Natação na coluna d' água
APF - Aproximação para posicionamento frontal	NIP - Beliscão
CC – Corpo central	NLA – Neurópilo da antena
CEX - Extensão do quelípodo	NLAn – Neurópilo lateral da antênula
CLF - Elevação completa	NMA – Neurópilo medial da antênula
DCB – Deutocérebro	NT – Neurópilo tegumentar
EAL - Escolha de abrigos livres	PCA – Protocérebro anterior
EBM - Abraço	PCP – Protocérebro posterior
FAB - Fora do Abrigo	PSH - Empurrão
FCA - Fêmeas controle abrigadas	RSH - Investida
FCF - Fêmeas controle fora do abrigo	TCB – Tritocérebro
FTA - Fêmeas tratadas abrigadas	TOG – Trato Globular olfatório
FTF - Fêmeas tratadas fora do abrigo	TRP - Rotação para posicionamento frontal
L – Lâmina ganglionar	TSD - Rotação para posicionamento lateral
LO – lobo olfatório	
MCA - Machos controle abrigados	

1. Introdução

1.1 Poluentes e modelo biológico

A constante poluição de ambientes aquáticos tem aumentado a preocupação e o interesse em estudos que mostrem a ação destes contaminantes nos animais a eles expostos e suas conseqüências, que pode levar a morte dos indivíduos devido à contaminação ou um efeito cumulativo, a médio e em longo prazo comprometendo a sobrevivência da espécie (Kaim-Malka e Donadey, 1984; Hebel *et al.* 1997; Bainy, 2000). Grande parte dos trabalhos realizados nesta área avalia o efeito de substâncias poluentes, principalmente metais pesados, em invertebrados (Rayburn e Fisher, 1997; Mariño-Balsa *et al.*, 2000; Lavarias *et al.*, 2006). No entanto, é necessário estudar também a ação sub-letal dos poluentes aquáticos, pois os mesmos podem agir silenciosamente nos organismos expostos, provocando danos significativos ao meio ambiente e à população humana.

De um modo geral, os poluentes aquáticos tendem a se acumular nos tecidos dos invertebrados, mesmo quando os níveis de poluição estão abaixo da concentração prevista na legislação (Campos *et al.*, 2002). Normalmente, devido à sua diluição, os efeitos destes poluentes não podem ser imediatamente reconhecidos nos organismos, o que dificulta a avaliação das implicações no ambiente (Blockwell *et al.*, 1998). Contudo, considerando que os invertebrados aquáticos fazem parte da cadeia alimentar de peixes e, que estes são utilizados na alimentação humana, ocorre conseqüentemente a transferência dos poluentes para níveis superiores da cadeia alimentar.

Entre os poluentes aquáticos estão os detergentes aniônicos de uso doméstico cujo componente ativo corresponde a Alquil Benzeno Sulfonato de

Sódio, que promovem a desagregação de resíduos depositados na superfície de objetos e ambientes inanimados, em partículas minúsculas, favorecendo a sua suspensão e facilitando a sua remoção sem corrosão, ou seja, são produtos que limpam quimicamente, sendo utilizados em todo o mundo. Devido a propriedade de suas moléculas esses produtos são capazes de dissolver as gorduras ou matérias orgânicas, agindo em processos de limpeza e podendo causar danos severos a organismos a ele expostos.

Muito tem se falado de produtos biodegradáveis, que são decompostos ou destruídos por seres vivos, como fungos e bactérias, ou outros agentes biológicos, mas essa ação biodegradável nem sempre é eficaz. Segundo o IPEMA (Instituto de Permacultura e Ecovilas da Mata Atlântica), o detergente é um produto altamente nocivo ao meio ambiente, pois quebra a tensão superficial da água. Embora esteja escrito nas embalagens que o detergente é biodegradável, o tempo necessário para se degradar, varia para cada substância, dependendo das condições do meio. O detergente leva em torno de 20 dias para ser degradado, causando um grande impacto onde é lançado, provocando a morte de plantas e animais.

O uso de detergentes, desinfetantes e água sanitária pela população em geral, associado a problemas de saneamento básico em muitas regiões, tem aumentado consideravelmente a poluição causada por esses produtos em córregos e riachos, ambiente onde muitos organismos vivem, entre eles os crustáceos.

Os crustáceos constituem um grupo com ampla distribuição geográfica, ocupando ambientes marinhos, terrestres e de águas-doce (Rinderhagen *et al*, 2000). Entre os crustáceos da ordem Decapoda, existem várias espécies de

camarões de água doce da família Palaemonidae, onde o gênero *Macrobrachium* tem destaque por apresentar ampla distribuição no Brasil (Bond-Buckup e Buckup, 1989). Nas espécies do gênero registradas para a Ilha de Santa Catarina (Müller *et al.*, 1999) *Macrobrachium offersi* (Wiegman, 1836), popularmente conhecido como pitu, possui grande representatividade, sendo encontrada no Parque da Lagoa do Peri, Lagoa da Conceição, Bacia Hidrográfica de Ratonés, corpos de água em Ingleses e Rio Vermelho (Ammar *et al.*, 2001).

A espécie *M. offersi* desempenha um papel ecológico de fundamental importância, como elemento da cadeia trófica de outros invertebrados, peixes e aves, sendo utilizada como fonte de alimento de populações ribeirinhas, em projetos de repovoamento de rios e lagoas, destacando-se ainda no panorama geral de programas de controle e conservação de espécies nativas (Müller *et al.*, 1999). Os crustáceos de água doce podem ser utilizados em estudos de biomonitoramento de contaminação aquática (Rinderhagen *et al.*, 2000), contribuindo para a identificação de ambientes alterados, preservação de espécies e conseqüente manutenção do equilíbrio trófico.

Estudos realizados na Ilha de Santa Catarina caracterizaram a biologia reprodutiva (Ammar *et al.*, 2001; Nazari *et al.*, 2003) e o desenvolvimento embrionário (Müller *et al.*, 2003; Müller *et al.*, 2004; Costa *et al.*; 2005) em *M. offersi*. Além destes, trabalhos experimentais utilizando detergente de uso doméstico como agente de contaminação aquática, mostraram que em *M. offersi* o processo de maturação ovariana de fêmeas expostas a esse contaminante foi afetado (Souza *et al.*, 2003), sendo verificadas alterações no volume dos ovos e uma redução do tempo de desenvolvimento embrionário

(Martins *et al.*, 2006). Outra ação resultante da exposição ao detergente foi a modificação no comportamento diário dos animais tratados, com alternância de momentos de maior e menor agressividade (Martins, 2004).

1.2 Repertório Comportamental

Trabalhos que registram o repertório comportamental de palemonídeos são descritos na literatura e relatam estudos com comportamento reprodutivo em *Macrobrachium australiense* (Holthuis, 1950) (Lee e Fielder, 1982) e *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758) (Graziani, 1993), sendo realizados também trabalhos sobre permanência em abrigos com *Macrobrachium nobilii* (Henderson e Matthai, 1910) (Mariappan e Balasundaran, 2003). Estudos sobre o controle social em *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) são realizados desde 1975 (Segal e Roe), e trabalhos recentes realizados com esta espécie enfocam principalmente a definição de hierarquias entre os machos e a dominância dos machos maiores sobre os menores (Karplus, 2005).

A caracterização do repertório comportamental é de grande utilidade para a observação de alterações dos padrões da espécie e a sua relação com fatores fisiológicos e ambientais. Mudanças nos níveis normais de produção e liberação de neurotransmissores (Kravitz, 1988; Vinagre *et al.*, 2004), variações de temperatura e de duração do ciclo claro/escuro (Dubé e Portelance, 1992), e presença de parasitas ou contaminantes aquáticos (Fingerman *et al.*, 1998) são situações que podem refletir em alteração comportamental, favorecendo a identificação de particularidades das vias de sinalização e processamento de informações no sistema nervoso central.

Estudos com contaminantes realizados com crustáceos geralmente enfocam a ação do poluente sem mostrar o quadro comportamental apresentado por esses animais ao longo dos experimentos (Blasco *et al.*, 2002; Wu e Chen, 2005), sendo que algumas alterações ambientais podem provocar modificações comportamentais severas.

Algumas características da espécie *M. olfersi* a tornam um bom modelo experimental, como sua adaptabilidade às condições de laboratório, sua ocorrência ao longo de todo o ano nos ambientes de coleta, seu porte robusto e mediano, que facilita estudos macro e microscópicos, sendo considerada uma espécie de caráter comportamental agressivo. Após atingirem a maturidade sexual exibem um dimorfismo sexual, onde os machos apresentam um quelípodo robusto ornamentado com cerdas e espinhos, possibilitando sua diferenciação externa das fêmeas. Essa diferença entre machos e fêmeas pode ser feita ainda pela visualização do ovário, que durante a maturação passa por uma seqüência de mudanças na cor, no tamanho e na forma, que são macroscopicamente visualizadas (Arculeo *et al.*, 1995; Die *et al.*, 1995).

Os machos são hierarquicamente dominantes (50 mm – 90 mm) e geralmente maiores do que as fêmeas (30 mm – 40 mm) e fêmeas ovígeras, que podem atingir até 65 mm de comprimento total (Kretschmar, 1984).

As interações comportamentais nestes animais desempenham um importante papel na competição por espaço, abrigos e acesso a parceiros e comida (Atema, 1986). Estas interações são responsáveis pelo estabelecimento de dominância e hierarquia, que resulta em uma organização social bem definida. A elaboração de estudos detalhados da ação do detergente de uso doméstico no repertório comportamental e

conseqüentemente no sistema nervoso de *M. offersi* contribui para o esclarecimento de como os fatores exógenos agem sobre esta espécie.

1.3 Organização do sistema nervoso

Para a elaboração de diferentes estratégias comportamentais em busca da sobrevivência em circunstâncias adversas, os crustáceos dispõem de um sistema nervoso central bem estruturado, com a presença de pares de gânglios cerebrais que podem apresentar diferentes níveis de compactação (Sandeman *et al.*, 1993) e pelo cordão nervoso ventral. Os pares de gânglios encontram-se unidos por comissuras e conectivos, sendo os três gânglios anteriores parcialmente fundidos, formando a estrutura cerebral. Estes gânglios são o protocérebro (anterior), deutocérebro (medial) e tritocérebro (posterior), representados nos esquemas abaixo (Sandeman & Scholtz, 1995) (figura 1).

A ligação da estrutura cerebral (gânglio supraesofageal) com o cordão nervoso ventral ocorre através do conectivo circum-esofageal, formado por tratos de fibras longitudinais. Estas fibras unem a estrutura cerebral ao gânglio subesofageal, composto pela fusão de gânglios torácicos. Posteriormente estão os gânglios torácicos e abdominais, cujo número é variável, refletindo o grau de desenvolvimento e a funcionalidade dos apêndices e segmentos corpóreos relacionados a estes gânglios (Beltz, 1999) (figura 1).

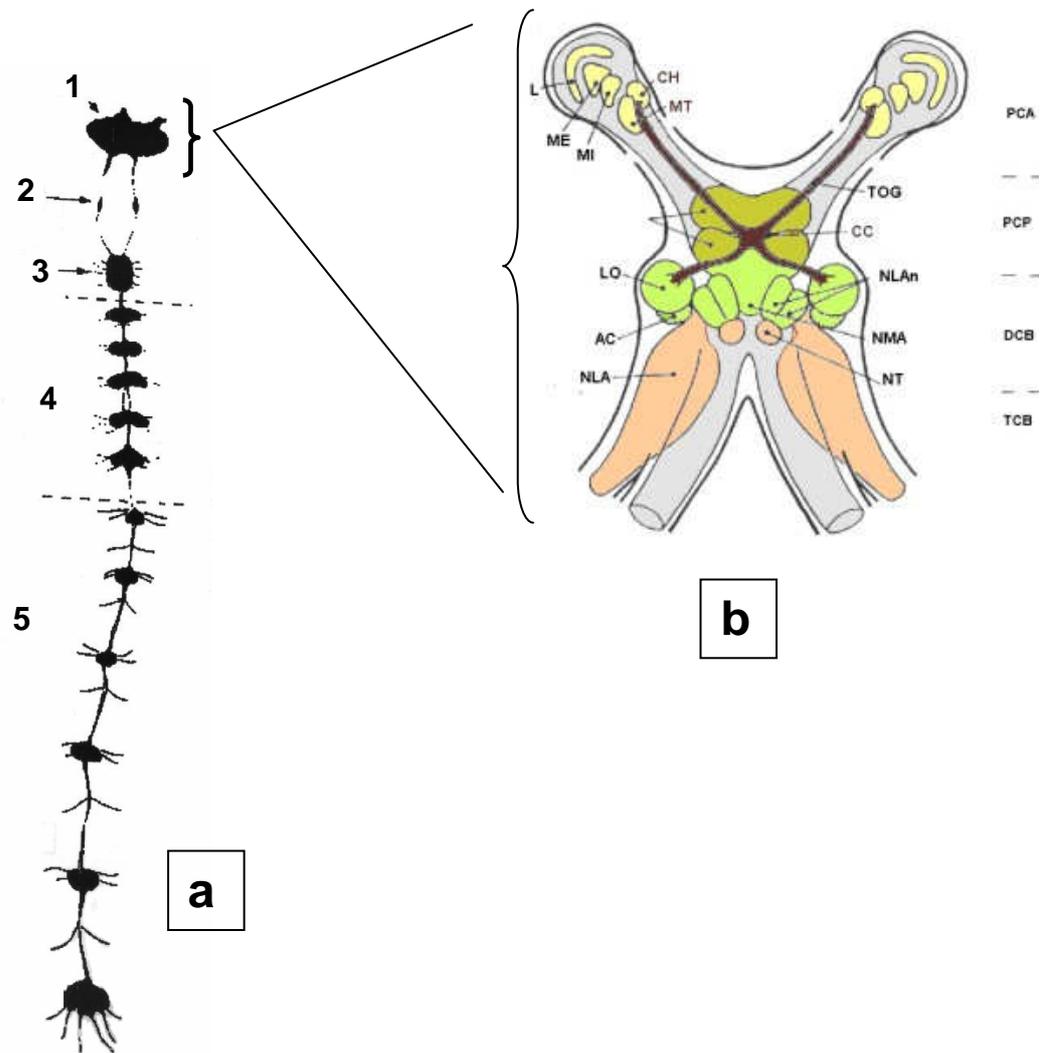


Figura 1: Modelo para o sistema nervoso central dos decápodes (a) modificado de Beltz (1999). 1: estrutura cerebral; 2: conectivo circum esofageal; 3: gânglio subesofageal; 4: gânglios torácicos; 5: gânglios abdominais. Detalhe da estrutura cerebral (b) com os três gânglios nervosos anteriores (protocérebro anterior (PCA), protocérebro posterior (PCP), deutocérebro (DCB) e tritocérebro (TCB)), adaptado de Sandeman e Scholtz, 1995.

Nos crustáceos da ordem Decapoda, de maior representatividade na América do Sul (Gomes-Corrêa, 1977), a estrutura ganglionar é a apresentada pela maioria dos invertebrados, onde os neurópilos são compostos por prolongamentos neuronais e gliais e estão localizados no interior do gânglio.

Os corpos celulares neuronais e gliais estão dispostos na região cortical dos gânglios, e em determinadas regiões se organizam em agrupamentos celulares (Blaustein *et al.*, 1988; Harzsch e Dawirs, 1993).

Cada componente da estrutura cerebral é responsável por um tipo de processamento e resposta, onde o protocérebro (gânglio óptico, protocérebro anterior e protocérebro posterior) está envolvido no processamento das informações visuais e na distribuição das secreções hormonais (Harzsch e Dawirs, 1994). A região associativa e de processamento do cérebro é o deutocérebro, com áreas de captação de estímulos mecânicos (Blaustein *et al.*, 1988; Ammar, 2000). A consolidação da estrutura cerebral dos crustáceos dá-se com a incorporação do tritocérebro, responsável pela percepção e processamento de estímulos ambientais e fisiológicos (Sandeman *et al.*, 1993).

1.4 Processamento e controle do sistema nervoso

O processamento e o controle funcional do sistema nervoso nos crustáceos são dependentes da distribuição e da ação de várias substâncias, entre elas as monoaminas (serotonina, dopamina, octopamina, noradrenalina e adrenalina), que agem como neurotransmissores ou neuromoduladores no sistema nervoso central e periféricamente como neurohormônios. As monoaminas regulam, entre outras funções, a muda, a reprodução, a osmorregulação, o metabolismo de carboidratos e a contração muscular (Fingerman *et al.* 1994).

A serotonina é um neurotransmissor de ampla distribuição no sistema nervoso de crustáceos adultos, estando geralmente presente em neurônios grandes e ramificados. Diversos estudos atribuem a este neurotransmissor uma função neuroativa em crustáceos adultos (Beltz e Kravitz, 2002). Segundo

investigações fisiológicas e bioquímicas, a serotonina poderia estar envolvida no controle endócrino dos crustáceos, e participando ativamente do ciclo reprodutivo e de muda (Fingerman *et al.*, 1987).

Uma série de estudos identificou a imunorreatividade à serotonina no sistema de crustáceos decápodes adultos (Rudolph e Spaziani, 1990; Beltz, 1999; Utting *et al.*, 2000), sendo que em *M. offersi* foi evidenciada também a presença de cálcio-calmodulina quinase ocorrendo nas regiões onde há maior liberação serotoninérgica (Ammar; 2000). Withers e colaboradores (1998) atribuíram a esta proteína quinase uma função de catalisador serotoninérgico, modulando a produção e a ação da serotonina, o que explica a ocorrência concomitante destas duas substâncias.

Além disso, Harzsch e Dawirs (1995) e Beltz e Kravitz (2002) sugerem que a serotonina pode estar implicada na modulação do desenvolvimento neural nos crustáceos. Diversas evidências indicam que há participação das aminas biogênicas nos eventos da diferenciação e ativação neuronal, sendo que estas atuam como fatores neurotróficos (Helluy *et al.*, 1993; Benton *et al.* 1997). Já a modulação da liberação de transmissores em crustáceos tem sido atribuída ao peptídeo FMRF-amida que se encontra envolvido em outras funções, como efeitos cardio-excitatórios e provável função como neurohormônio (Mercier *et al.*, 1993; Skerrett *et al.*, 1995), sendo também relacionada à modulação da serotonina.

A serotonina e a octopamina são também importantes no controle da postura corporal dos crustáceos, estando envolvidas em processos regulatórios comportamentais como a alteração dos níveis de agressividade em interações agonísticas em lagostas (Huber e Kravitz, 1995). Em crustáceos, têm sido

relacionado a função de aminas biogênicas com o comportamento agonista e agressivo e com o comportamento de escape (Aggio *et al.* 1996; Hubber *et al.* 1997; Savage e Atema, 2003). Estudos realizados em lagostas e lagostins tratados com serotonina mostram que estes animais apresentam uma forte flexão dos membros e abdomen, enquanto a octopamina causa uma forte extensão (Beltz, 1988).

Sabe-se que os níveis circulantes dessas aminas podem variar, dependendo do estado fisiológico dos animais, sendo que em momentos de pré e pós-luta ou antes e depois de atividades exploratórias pode ser encontrada uma maior ou uma menor concentração das aminas nestes indivíduos (Sneddon *et al.*, 2000).

A elaboração de estudos que envolvam tanto a parte de contaminação ambiental como a comportamental destes animais torna-se importante para o detalhamento dos efeitos de poluentes sobre estes indivíduos.

Os locais de coleta de palemonídeos utilizados pelo nosso laboratório são continuamente poluídos por efluentes domésticos, devido a carência de saneamento básico que gera a descarga destes resíduos nas margens de riachos, pela população residente.

Na região da grande Florianópolis, a rápida e desordenada ocupação humana verificadas nas últimas décadas, aliadas à falta de saneamento básico comprometem de modo expressivo a qualidade dos sistemas hídricos, devido ao grande aporte de poluentes aquáticos provenientes dos efluentes domésticos e de pequenas atividades econômicas. Entretanto, segundo dados do IPUF (2002), poucos são os estudos científicos que analisam a real capacidade de suporte dos ambientes aquáticos frente à ação antrópica,

resultando na degradação ambiental, freqüentemente ignorada no processo de urbanização acelerada do Município.

Desta forma a realização de estudos que avaliem a ação de poluentes sobre organismos aquáticos é sem dúvida pertinente, pois os mesmos fornecem dados biológicos necessários para elaboração de programas de preservação de espécies nativas e conseqüentemente, de conservação dos recursos hídricos.

2. Objetivos

Avaliar os efeitos causados por detergente doméstico na dinâmica comportamental da espécie nativa de camarão de água-doce *Macrobrachium offersi* analisando possíveis alterações na estrutura dos gânglios cerebrais dos animais expostos.

2.1 Objetivos específicos

- a. Monitorar os comportamentos individuais e coletivos de fêmeas, fêmeas ovígeras e machos em condições de laboratório;
- b. Identificar e caracterizar os comportamentos agonísticos e exploratórios dos animais do grupo controle e tratado através da elaboração do etograma da espécie;
- c. Avaliar o grau de comprometimento das estruturas ganglionares cerebrais dos animais expostos ao poluente;
- d. Identificar as regiões reativas a serotonina, cálcio-calmodulina e FMRF-amida nos gânglios e suas possíveis alterações pela ação do detergente.

3. Materiais e Métodos

Exemplares adultos de *M. offersi* foram coletados em corpos d'água do Parque Municipal da Lagoa do Peri (27°43'S e 48°32'W) – autorização nº157 - DIFAP/IBAMA – vigência 2005-2007. Foram realizadas coletas no período vespertino, com um tempo médio de esforço de captura de 40 minutos.

A coleta dos exemplares foi realizada com puçá de malha 0,5cm, passado por entre as pedras de fundo e pela vegetação submersa, sendo os animais transportados para o Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal (BEG/CCB) em recipientes plásticos contendo água do local de coleta e aeração constante. Em laboratório foi realizada a sexagem (Carvalho, 1978; Kretzschmar, 1984), onde os indivíduos foram separados em machos e fêmeas e permaneceram 30 dias em aquários para aclimatação (figura 2).

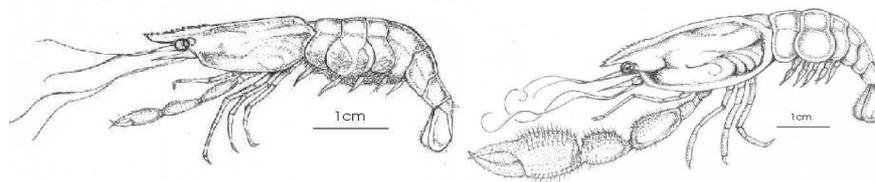


Figura 2: Desenho esquemático de exemplares de uma fêmea ovígera e de um macho de *M. offersi*. (Nazari, *et al.* 2003).

Os animais tiveram o peso corporal registrado com auxílio de uma balança eletrônica de precisão (0,1g) e o comprimento total (medida da extremidade anterior do rostro até a extremidade posterior do telson) em milímetros, determinado com paquímetro manual, sendo os valores médios apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Dados biométricos médios de machos e fêmeas de *Macrobrachium olfersi* utilizados nos grupos controle e tratado.

	Comprimento total (mm)	Peso total (g)
Machos controle (n=6)	71,2 (\pm 5)	8,9 (\pm 3)
Machos tratados (n=6)	69,6 (\pm 6,1)	9,3 (\pm 2,9)
Fêmeas controle (n=9)	52,4 (\pm 5,4)	3 (\pm 0,8)
Fêmeas tratadas (n=9)	59 (\pm 3,3)	4,6 (\pm 1)

3.1 Estudo experimental

Dois aquários (53X25X25 cm) com capacidade aproximada de 30 litros foram montados com sedimento arenoso e 3 abrigos de tijolos e pedras para os animais. A coluna d'água foi mantida constante em 20 cm, sendo a temperatura controlada em torno de 26 °C (\pm 1 °C), pH entre 7,0 e 8,0 e salinidade de 0 ‰ e fotoperíodo natural. Foram realizadas três repetições de cada experimento para confirmação dos resultados.

Aquário 1: Aquário tratado

Após aclimação dos animais em laboratório (aproximadamente 1 mês após a coleta), foi feita a estocagem de 2 machos e 3 fêmeas (2M:3F) e passadas 48 horas foi diluído na água do aquário uma concentração de 0,07% de detergente de uso doméstico comum, com componente ativo linear alquilbenzeno sulfonato de sódio. Esta concentração foi escolhida através da realização de estudos anteriores, onde diluições inferiores não mostraram resultados significativos e concentrações acima de 0,07% tiveram efeito letal em muitos indivíduos (Martins *et al.*, 2006a; Martins *et al.*, 2006b).

Aquário 2: Aquário controle

Estocagem e montagem idênticas ao aquário 1, exceto pela ausência de detergente.

Os animais foram mantidos nas condições descritas acima por um período pré-estabelecido de até 15 dias, conforme o cronograma abaixo:

- Decorridos 5 dias: dissecados um macho e uma fêmea de ambos os aquários;
- Decorridos 10 dias: dissecadas uma fêmea de cada aquário;
- Decorridos 15 dias: dissecados o macho e a fêmea restante em cada aquário.

No caso de fêmeas que ficaram ovígeras durante os dias do experimento, estas não foram dissecadas até que tenham liberado completamente seus ovos através da eclosão das larvas.

Os procedimentos a seguir foram realizados nas diferentes condições propostas para os aquários 1 e 2.

3.2 Monitoramento do comportamento

Os indivíduos dos dois aquários (tratado e controle) foram monitorados diariamente através de filmagens (10 minutos), para identificação dos padrões comportamentais agonísticos e exploratórios. Os comportamentos agonísticos de *M. offersi* do grupo controle e tratado foram registrados usando como base os comportamentos encontrados por Barki *et al.* (1991) na espécie *Macrobrachium rosenbergii*. Foram considerados somente os comportamentos identificados durante as filmagens, conforme mostra a tabela 2.

Tabela 2: Comportamentos agonísticos registrados para *M. offersi* (comportamentos baseados nos registros de Barki *et al.* 1991).

1. Observação do corpo dos animais

Comportamento	Ação locomotora envolvendo movimentos de posição frontal
Aproximação para posicionamento frontal (APF)	Movimento de um animal em direção a outro, posicionando-se de maneira frontal.
Rotação para posicionamento frontal (TRP)	Animal executa movimentos circulares sobre o próprio eixo de maneira a assumir uma posição frontal frente ao seu oponente.
Investida (RSH)	Movimento rápido e curto de aproximação em que um animal eleva o corpo na posição frontal ao outro camarão.
	Ação locomotora envolvendo movimentos para a posição não-frontal.
Afastamento (MVA)	Animal se move com o objetivo de se afastar de outro camarão.
Aproximação para posicionamento não-frontal (ANF)	Um camarão move-se em direção a outro, posicionando-se de maneira não-frontal. Essa aproximação geralmente acontece de costas.
Fuga rápida (AFX)	Animal flexiona o abdômen rapidamente (causando um recuo) de maneira a se afastar do outro camarão.
Rotação para posicionamento lateral (TSD)	Camarão de posição frontal a outro gira em torno do próprio eixo, ficando de lado ou com o abdômen (cauda) voltado para o outro camarão.

2. Observação das quelas e quelípodos dos animais

Comportamento	Ações comportamentais baseadas na posição e no movimento das quelas sem contato com outro camarão.
Extensão do quelípodo (CEX)	Animal estende a quela em direção ao outro camarão.
Aproximar quela levantando o corpo (ALC)	Animal eleva o corpo com as quelas suspensas e paralelas em relação ao chão.
Elevação completa (CLF)	Animal aproxima as quelas, erguendo o corpo e mexendo os pleópodos.
	Ações comportamentais baseadas na posição e no movimento das quelas e quelípodos com contato com outro camarão.
Abraço (EBM)	Camarão “abraça” outro com as quelas. Este abraço pode ocorrer por trás ou pelo lado, de acordo com a posição relativa ao outro.
Beliscão (NIP)	Ação em que um camarão fecha o dátilo em cima de alguma parte do outro camarão.
Empurrão (PSH)	Um camarão empurra outro com uma das quelas, utilizando o lado exterior do própodo, estendendo a quela.

Foram considerados comportamentos exploratórios:

- Seleção e permanência nos abrigos;
- Exploração do fundo do aquário e natação na coluna d'água;

3.3 Planilhas de observação e análise estatística dos comportamentos

Após as filmagens, as fitas foram analisadas e cada indivíduo identificado e estudado separadamente, em intervalos de 10 segundos, para registro detalhado do comportamento. Foram utilizadas planilhas de observação (em anexo) que permitiram a identificação e quantificação das estratégias comportamentais agonísticas e exploratórias através da elaboração do

etograma da espécie em ambiente de água contaminada por detergente e em ambiente sem contaminação.

Os comportamentos agonísticos e exploratórios foram avaliados nos 10 primeiros dias de permanência dos animais em aquário, já que nos últimos 5 dias apenas um macho e uma fêmea continuavam estocados.

Os dados referentes às frequências de comportamento obtidas a partir da análise das planilhas de observação foram analisadas através de sumário estatístico e ANOVA one-way (Statistica versão 6.0) para a verificação de diferenças significativas entre as médias dos grupos controle e tratado.

3.4 Análise microscópica dos gânglios cerebrais

De acordo com o cronograma de dissecação dos animais apresentado no item 3.1, os camarões foram dessensibilizados a 4°C e dissecados para retirada do sistema nervoso (gânglios cerebrais e cordão nervoso ventral), que foi imediatamente fixado em Bouin (24h) e, posteriormente, desidratado em série etanólica crescente, incluído em parafina e seccionado a 8µm em micrótomo rotativo.

Para controle histológico os cortes foram corados pela técnica de HE (Hematoxilina de Harris – Eosina aquosa 3%) (Beçak e Paulette, 1976), sendo analisada a estrutura morfológica dos gânglios cerebrais.

Lâminas com os gânglios nervosos de machos e fêmeas do grupo controle e tratado foram submetidos a imunohistoquímica para marcação de serotonina, que está envolvida em vários processos regulatórios, entre eles os comportamentais (Beltz e Kravitz, 2002). Outro neuropeptídeo marcado foi a

FMRF-amida, que participa da regulação na liberação de neurotransmissores (Friedrich *et al.*, 1998). Por fim, foi feita a imunohistoquímica para a identificação da Cálcio-calmodulina, pois essa se encontra intimamente relacionada com a ocorrência da serotonina (Withers *et al.*, 1998).

Para a análise da distribuição e localização da serotonina, FMRF-amida e cálcio calmodulina os cortes dos gânglios nervosos de machos e fêmeas do grupo controle e tratado foram incubados com anticorpo primário contra serotonina (Sigma® – St. Louis), cálcio calmodulina (doado por M. D. Withers) e FMRF-amida (Cambridge Research Biochemicals) 1:100 e com anticorpo secundário anti-coelho conjugado com peroxidase (Sigma® – St. Louis). A revelação da marcação foi feita com 3'3 Diaminobenzidina (DAB) (Sigma). Em seguida, os cortes foram desidratados e montados em lâminas permanentes. O controle negativo foi feito com a supressão do anticorpo primário.

A imunoreatividade a serotonina, cálcio-calmodulina e FMRF-amida foi avaliada e representada por esquemas que indicam a imunolocalização dessas substâncias nos gânglios cerebrais.

4. Resultados

Durante 10 dias do experimento os animais do grupo controle e do grupo tratado foram monitorados através de filmagens e observações diárias, onde o primeiro registro evidente foi o estabelecimento de uma hierarquia definida pelo porte dos animais (tabela 3), sendo que em machos de tamanho semelhante o que definia a dominância era o tamanho e robustez do quelípodo (figura 3).

Tabela 3: Definição de hierarquias por classe de animais na espécie *M. olfersi* tanto no grupo controle como no tratado.

Classes de animais	Descrição
1. Machos grandes (70 mm) com quelípodos robustos.	Dominantes em relação a todos os outros indivíduos do aquário (Figura 4A).
2. Machos menores (67 mm) com quelípodos robustos	Dominantes em relação a maioria dos animais do aquário, com exceção dos machos do grupo 1 (Figura 4B).
3. Machos grande e com quelípodos pequenos	Dominantes em relação a machos menores que eles e as fêmeas, sendo submissos aos grupos 1 e 2.
4. Machos menores e com quelípodos pequenos.	Dominantes em relação as fêmeas menores e não ovígeras e submissos a outros machos e a fêmeas ovígeras.
5. Fêmeas grandes (60 mm) e não ovígeras	Dominantes em relação a fêmeas menores e não ovígeras e submissas aos machos dos grupos 1, 2 e em alguns casos 3 (Figura 4C).
6. Fêmeas pequenas (47 mm) e não ovígeras	Estabelecem níveis hierárquicos entre fêmeas de tamanhos similares, sendo submissas aos animais dos 5 grupos acima. São as fêmeas que passam mais tempo fora do abrigo, explorando o aquário.
7. Fêmeas grandes/pequenas ovígeras	As fêmeas ovígeras maiores geralmente são dominantes sobre as fêmeas ovígeras menores, mas ambas tem características comuns, como permanecer grande parte do tempo abrigadas e serem dominantes sobre os grupos 4, 5 e 6 (Figura 4D).

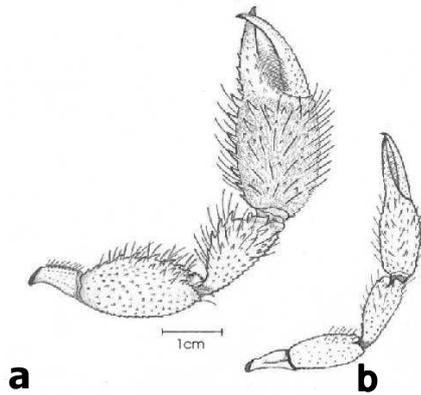


Figura 3. Diferenças no tamanho e na robustez de quelípodos de machos dominantes (a) e machos submissos ou fêmeas (b).

Durante o experimento manteve-se um tamanho médio entre os machos e as fêmeas utilizados nos experimentos, não sendo utilizados animais que fossem muito maiores ou muito menores que os demais indivíduos (figura 4).

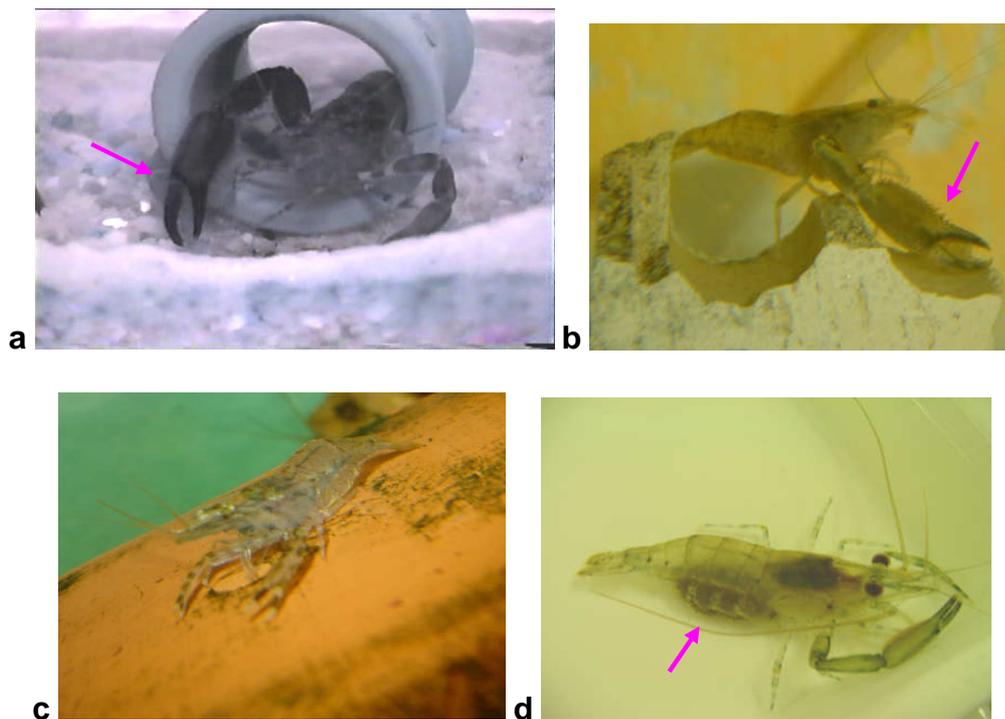


Figura 4. Exemplos de *M. olfersi* utilizados durante os experimentos. Macho dominante (a), de grande porte e com quelípedo robusto (→). Macho menor (b), com quelípedo robusto (→). Fêmea não ovígera de grande porte (c). Fêmea ovígera (d) com ovos na câmara incubadora (→).

Os níveis hierárquicos são na maioria das vezes determinados através de comportamentos agonísticos, envolvendo confrontos entre machos-machos, machos-fêmeas e fêmeas-fêmeas.

4.1 Comportamento Agonístico

Durante a análise das filmagens foram registrados 8 tipos diferentes de comportamentos agonísticos nos animais do grupo controle, enquanto nos camarões expostos ao detergente esse número foi de 11 comportamentos observados. O número de confrontos foi maior entre machos e fêmeas tanto no grupo controle (3) como no tratado (20), seguido de encontros envolvendo fêmeas e fêmeas (1 encontro no grupo controle e 17 encontros no grupo tratado).

Estes padrões comportamentais foram divididos em duas grandes classes, uma com enfoque na observação do corpo dos animais e outra com observação de quelas e quelípodos. Foi feita uma subdivisão, onde cada classe foi dividida em duas subclasses para a construção do etograma da espécie (tabela 4).

No grupo controle (tabela 4) não foi registrado a subclasse II da classe 2 (EBM, NIP e PSH), que envolve contato direto, sendo que mesmo no grupo tratado o registro desse comportamento teve uma baixa frequência e ocorreu principalmente entre os machos. No entanto, os dois grupos apresentaram contato envolvendo as antenas, onde o camarão reconhecia o ambiente onde estava e tocava os demais indivíduos que estavam próximos. O contato envolvendo antenas geralmente aconteceu quando da aproximação nem sempre seguida de confronto.

Tabela 4: Média das frequências de cada comportamento agonístico registrado na espécie *M. olfersi* no grupo controle e tratado.

Classe 1. Observação do corpo dos animais

Subclasse I

Comportamento	Machos		Fêmeas	
	Tratado	Controle	Tratado	Controle
Aproximação para posicionamento frontal (APF)	1,4 ($\pm 0,5$) ^a	0,3 ($\pm 0,3$) ^a	4,7 ($\pm 0,8$) ^{a***}	0,4 ($\pm 0,2$) ^b
Rotação para posicionamento frontal (TRP)	0,4 ($\pm 0,1$) ^a	0,0 ^a	1,0 ($\pm 0,3$) ^{a*}	0,0 ^b
Investida (RSH)	0,2 ($\pm 0,1$) ^a	0,0 ^a	0,5 ($\pm 0,1$) ^b	0,2 ($\pm 0,2$) ^b

Subclasse II

Comportamento	Machos		Fêmeas	
	Tratado	Controle	Tratado	Controle
Afastamento (MVA)	0,4 ($\pm 0,2$) ^a	0,3 ($\pm 0,3$) ^a	4,0 ($\pm 0,7$) ^{a***}	0,5 ($\pm 0,3$) ^b
Aproximação para posicionamento não-frontal (ANF)	0,2 ($\pm 0,1$) ^a	0,1 ($\pm 0,1$) ^a	0,5 ($\pm 0,2$) ^b	0,1 ($\pm 0,1$) ^b
Fuga rápida (AFX)	0,0 ^a	0,2 ($\pm 0,2$) ^a	1,3 ($\pm 0,4$) ^{a*}	0,1 ($\pm 0,1$) ^b
Rotação para posicionamento lateral (TSD)	0,0 ^a	0,0 ^a	0,1 ($\pm 0,1$) ^b	0,0 ^b

Classe 2. Observação das quelas e quelípodos dos animais

Subclasse I

Comportamento	Machos		Fêmeas	
	Tratado	Controle	Tratado	Controle
Extensão do quelípodo (CEX)	2,5 ($\pm 0,4$) ^{a***}	0,3 ($\pm 0,3$) ^b	0,9 ($\pm 0,3$) ^b	0,4 ($\pm 0,3$) ^b
Aproximar quela levantando o corpo (ALC)	0,2 ($\pm 0,1$) ^a	0,1 ($\pm 0,1$) ^a	0,2 ($\pm 0,2$) ^b	0,1 ($\pm 0,1$) ^b
Elevação completa (CLF)	0,5 ($\pm 0,2$) ^{a*}	0,0 ^b	1,0 ($\pm 0,4$) ^b	0,1 ($\pm 0,1$) ^b

Subclasse II

Comportamento	Machos		Fêmeas	
	Tratado	Controle	Tratado	Controle
Abraço (EBM)	0,1 ($\pm 0,1$) ^a	0,0 ^a	0,0 ^b	0,0 ^b
Beliscão (NIP)	0,6 ($\pm 0,2$) ^{a*}	0,0 ^b	0,0 ^b	0,0 ^b
Empurrão (PSH)	0,9 ($\pm 0,3$) ^{a*}	0,0 ^b	0,4 ($\pm 0,1$) ^{a*}	0,0 ^b

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos (**p < 0,001; *p < 0,01; * p < 0,05)

O número de confrontos ao longo de dez dias de filmagem foi significativamente superior no grupo tratado, já que no grupo controle os encontros agonísticos ocorreram esporadicamente e principalmente nos primeiros dias de estocagem dos animais no aquário (figura 5).

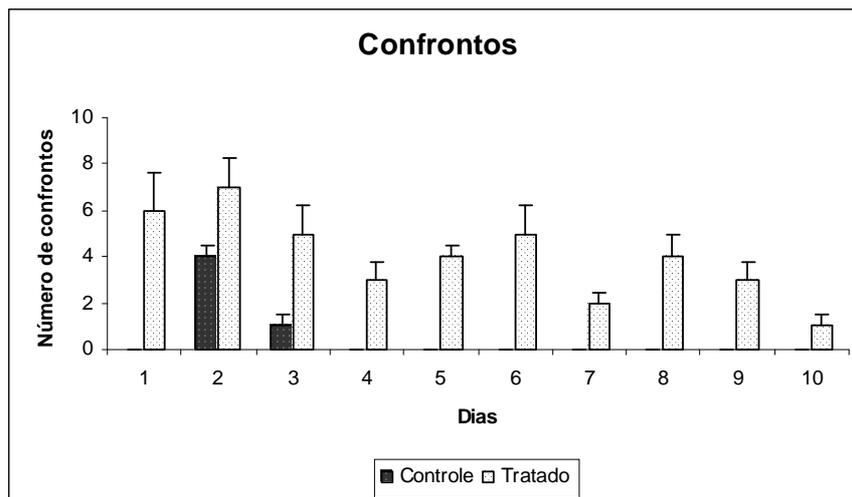


Figura 5: Número de confrontos registrados durante 10 dias de observação em *M. offersi* nos animais do grupo controle e tratado.

Os machos, por serem territorialistas e geralmente dominantes, apresentaram agressividade a aproximação de outros camarões de seus abrigos. Como se mantiveram abrigados grande parte do tempo, estes comportamentos geralmente consistiam de movimentos de quelípodos e quelas, visando o afastamento do outro animal (figura 6).

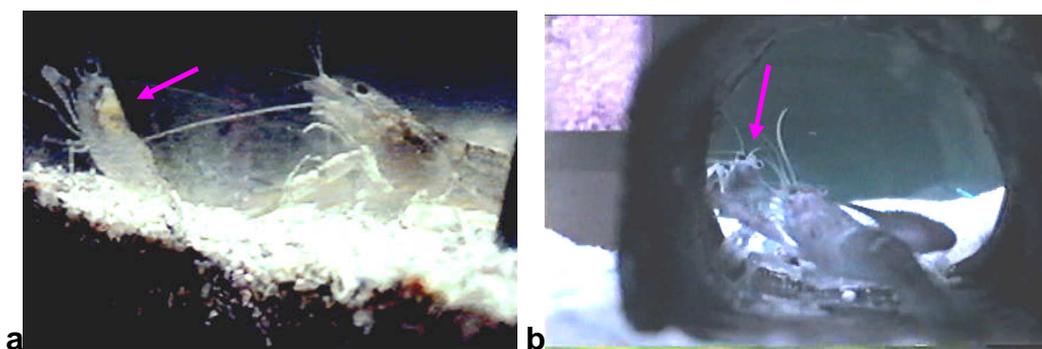


Figura 6: Exemplos de *M. offersi* dominantes afastando os animais menores e submissos (→) fora do abrigo (a) e abrigado (b).

Entre os machos do grupo controle não houve nenhum comportamento agonístico significativo, enquanto no grupo tratado os comportamentos de aproximação para posicionamento frontal (APF) e extensão do quelípedo

(CEX) foram os mais freqüentes. Os machos que realizaram aproximação frontal estavam indo de encontro aos animais que se aproximavam do seu território, visando afastá-lo. Destaca-se que no grupo tratado o comportamento CEX foi o mais freqüente, sendo significativamente maior que no grupo controle (figura 7).

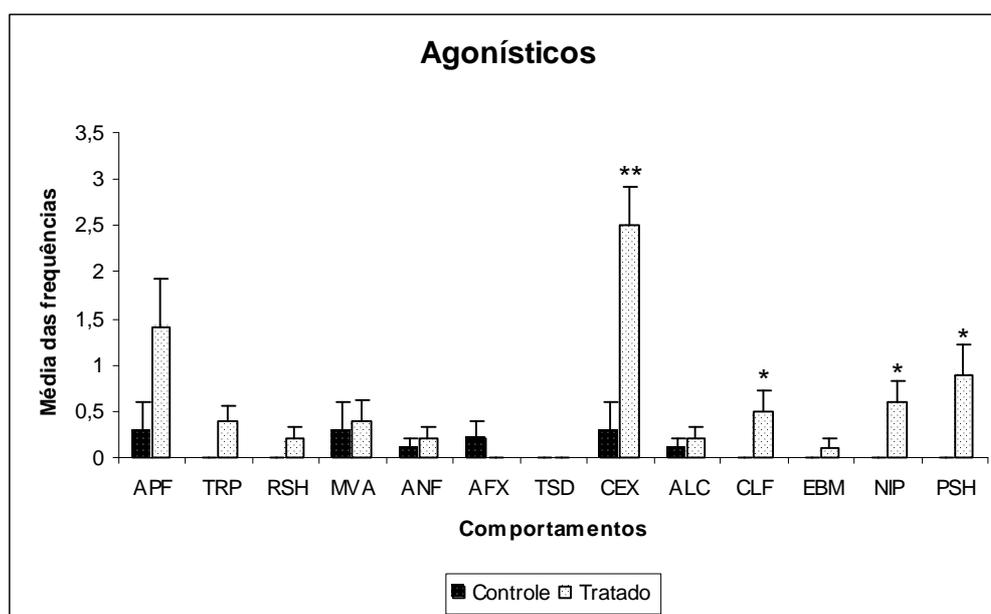


Figura 7: Freqüência dos comportamentos agonísticos entre machos de *M. olfersi* dos grupos controle e tratado nos 10 dias de observação (** $p < 0,001$; * $p < 0,05$).

Os comportamentos de elevação completa (CLF), beliscão (NIP) e empurrão (PSH) foram registrados de forma significativa no grupo tratado, não sendo registrados nos machos do grupo controle (figura 8).

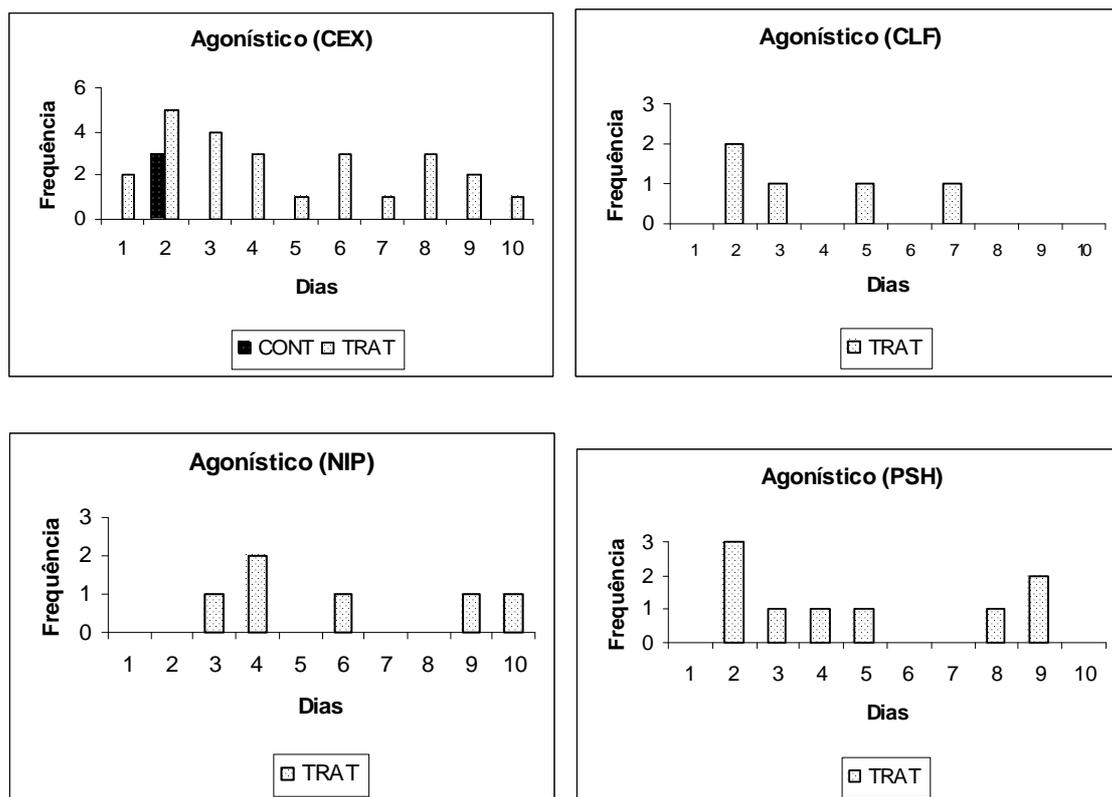


Figura 8: Frequências dos comportamentos de extensão do quelípodo (CEX), elevação completa (CLF), beliscão (NIP) e empurrão (PSH) por parte dos machos de *M. olfersi* dos grupos controle e tratado ao longo de 10 dias de observação.

As fêmeas de ambos os grupos foram os animais que exploravam o aquário com maior frequência, isso fez com que acontecesse um número significativo de comportamentos de aproximação para posicionamento frontal (APF) e afastamento (MVA). Esses dois tipos de comportamento agonístico foram os mais frequentes nas fêmeas do grupo tratado, sendo que, assim como ocorreu com os machos, as fêmeas do grupo controle não realizaram nenhum comportamento agonístico de forma significativa (figura 9).

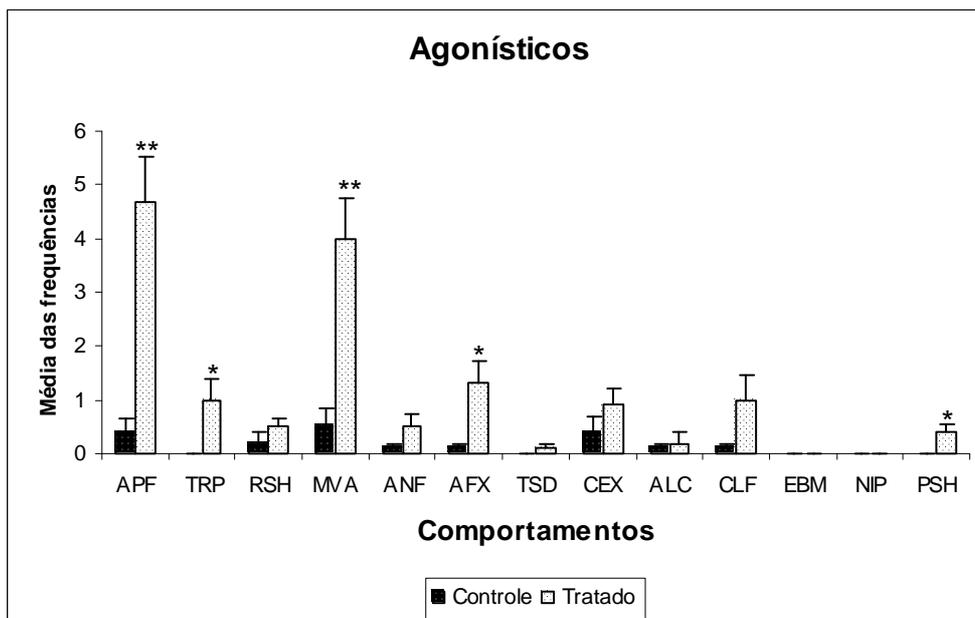


Figura 9: Frequência dos comportamentos agonísticos registrados entre fêmeas de *M. oleari* do grupo controle e grupo tratado nos 10 dias de observação (** $p < 0,01$; * $p < 0,05$).

Entre as fêmeas controle, a exemplo dos machos do mesmo grupo, não houve registro de comportamentos envolvendo contato físico entre os animais, sendo que nas fêmeas do grupo tratado apenas o PSH foi registrado.

A figura 10 mostra que a ocorrência de APF e MVA por parte das fêmeas do grupo controle foi pontual, ocorrendo somente nos dias 2 e 5 e não sendo realizados nos demais dias. Ainda nessa figura é possível notar a alta frequência desses mesmos comportamentos por parte das fêmeas do grupo tratado, deixando claro que houve um aumento significativo desses comportamentos nesse grupo.

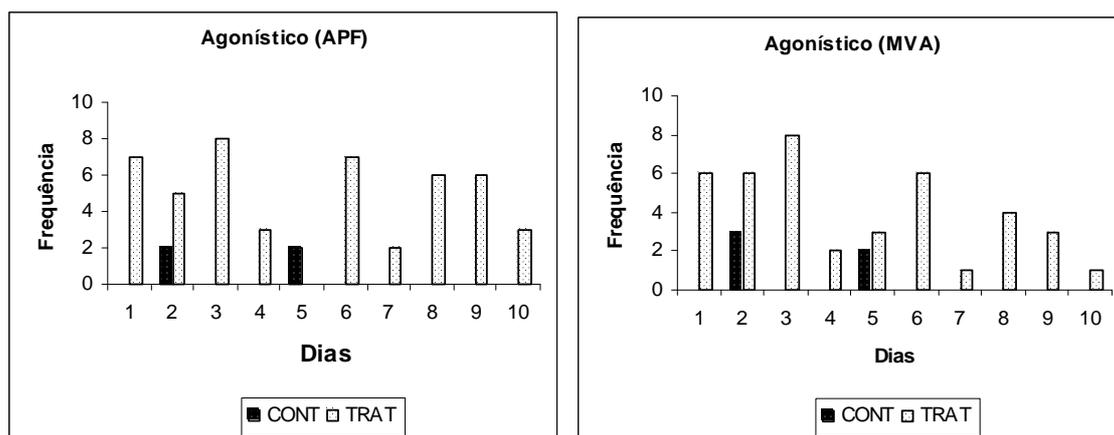


Figura 10: Freqüências dos comportamentos de aproximação para posicionamento frontal (APF) e afastamento (MVA) por parte das fêmeas de *M. offersi* dos grupos controle e tratado.

Os comportamentos de rotação corporal para posicionamento frontal (TRP), fuga rápida (AFX) e empurrão (PSH) também foram significativos entre as fêmeas tratadas ao longo de 10 dias, sendo que o comportamento PSH, que envolve contato físico, foi o que apresentou uma freqüência mais baixa (figura 11). As fêmeas do grupo controle não realizaram TRP e PSH, apresentando AFX em apenas um dia de observação.

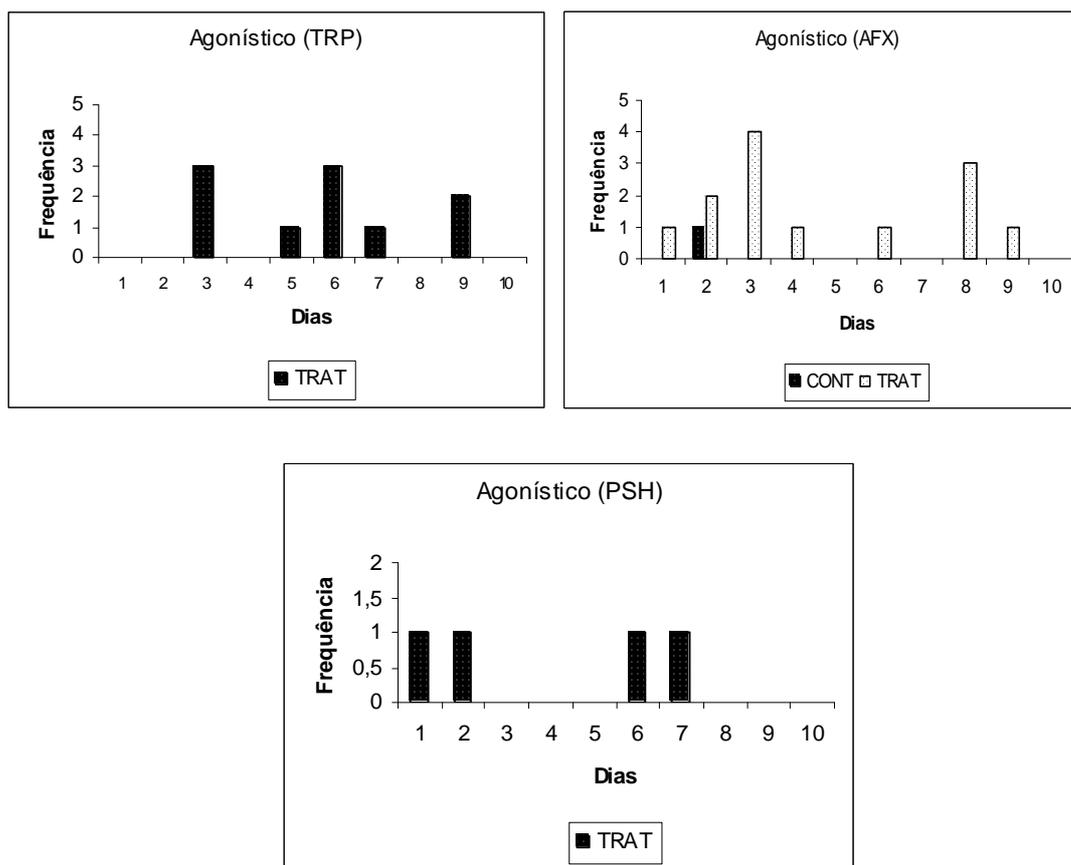


Figura 11: Frequências dos comportamentos de rotação para posicionamento frontal (TRP), fuga rápida (AFX) e empurrão (PSH) por parte das fêmeas de *M. olfersi* dos grupos controle e tratado.

A baixa freqüência de comportamentos agonísticos no grupo controle mostrou que tanto os machos como as fêmeas não confrontaram os demais ocupantes do aquário, sendo que não foi observado durante as filmagens encontro agonístico que envolvesse contato físico entre os animais. No grupo tratado o número de encontros agonísticos e a freqüência desses comportamentos foi significativamente superior, sendo que quando comparados machos e fêmeas desse mesmo grupo nota-se um maior número de APF e MVA realizado por parte das fêmeas. Já os machos apresentam uma alta freqüência de CEX e NIP, demonstrando uma maior agressividade (figura 12).

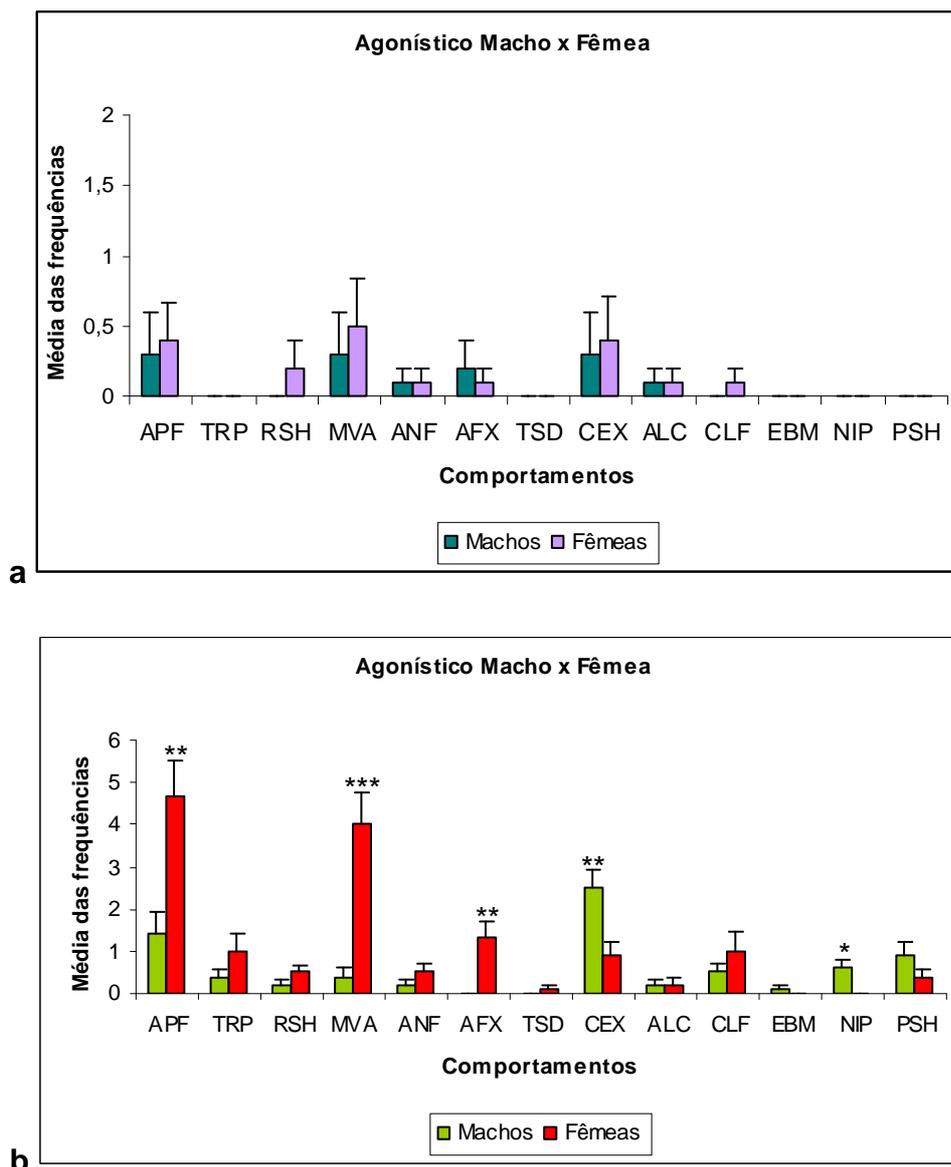


Figura 12: Freqüência dos comportamentos agonísticos registrados entre machos e fêmeas de *M. offersi* do grupo controle (a). Freqüência dos comportamentos agonísticos registrados entre machos e fêmeas de *M. offersi* do grupo tratado (b) (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; * $p < 0,05$).

O comportamento de fuga rápida (AFX) foi freqüentemente realizado pelas fêmeas, sendo que em nenhuma filmagem os machos tratados apresentaram esse tipo de comportamento. A fuga rápida geralmente aconteceu quando o animal submisso foi atacado de forma agressiva e com envolvimento de contato físico, o que fez com que a fuga fosse emergencial.

Comparando a ocorrência desses comportamentos ao longo dos 10 dias de filmagens fica evidente que as manifestações mais freqüentes foram registradas ao longo de todo o experimento. As fêmeas realizam todos os dias aproximações (APF), enquanto os machos o fizeram em seis dias de observação. Já o afastamento (MVA) é raramente realizado por machos (3 dias), sendo comum entre as fêmeas (Figura 13).

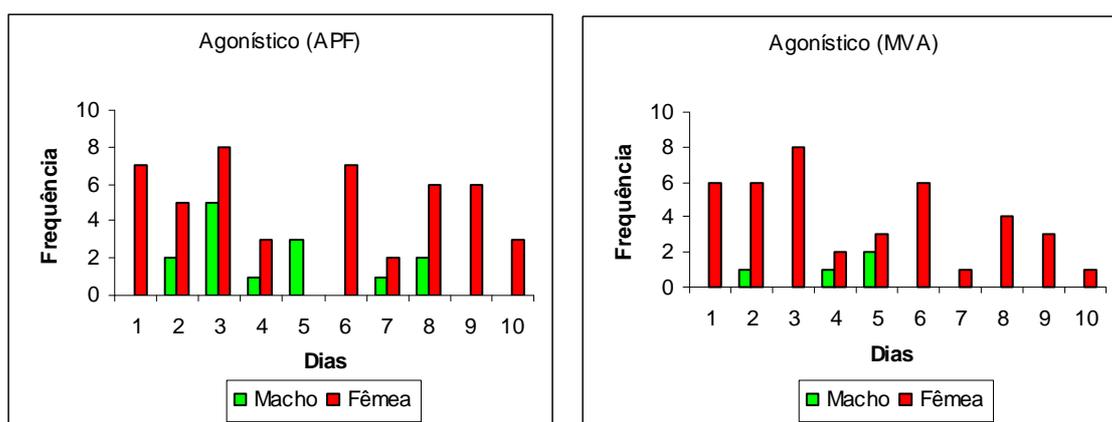


Figura 13: Frequência dos comportamentos de aproximação para posicionamento frontal (APF) e afastamento (MVA) entre machos e fêmeas de *M. offersi* do grupo tratado ao longo de 10 dias.

Nos machos a fuga rápida (AFX) não foi registrada, enquanto extensão do quelípodo (CEX) ocorreu nos 10 dias de filmagem e beliscão (NIP) em 5 dias. Já para as fêmeas houve o registro de AFX em 7 dias, CEX em 5 dias e não houve a observação de NIP. AFX, registrado somente para as fêmeas, ocorreu na grande maioria dos dias (7 dias). O mesmo padrão diário foi observado para os machos realizando CEX (10 dias), um comportamento que não foi tão freqüente entre as fêmeas (5 dias).

No 5º dia foi registrada uma maior freqüência de CEX por parte das fêmeas, comportamento esse realizado principalmente em confrontos envolvendo duas fêmeas de portes semelhantes. O comportamento de NIP foi realizado somente

pelos machos e não ocorreu em todos os dias de filmagens (ocorrendo no 3º, 4º, 6º, 9º e 10º dia). Esse comportamento de “beliscar” o oponente envolve contato físico e apresentou uma menor frequência quando comparado com AFX ou CEX. O alto registro de NIP por parte dos machos relaciona-se principalmente com o caráter territorialista que esses animais apresentam e pelo desenvolvimento de suas quelas e quelípodos (figura 14).

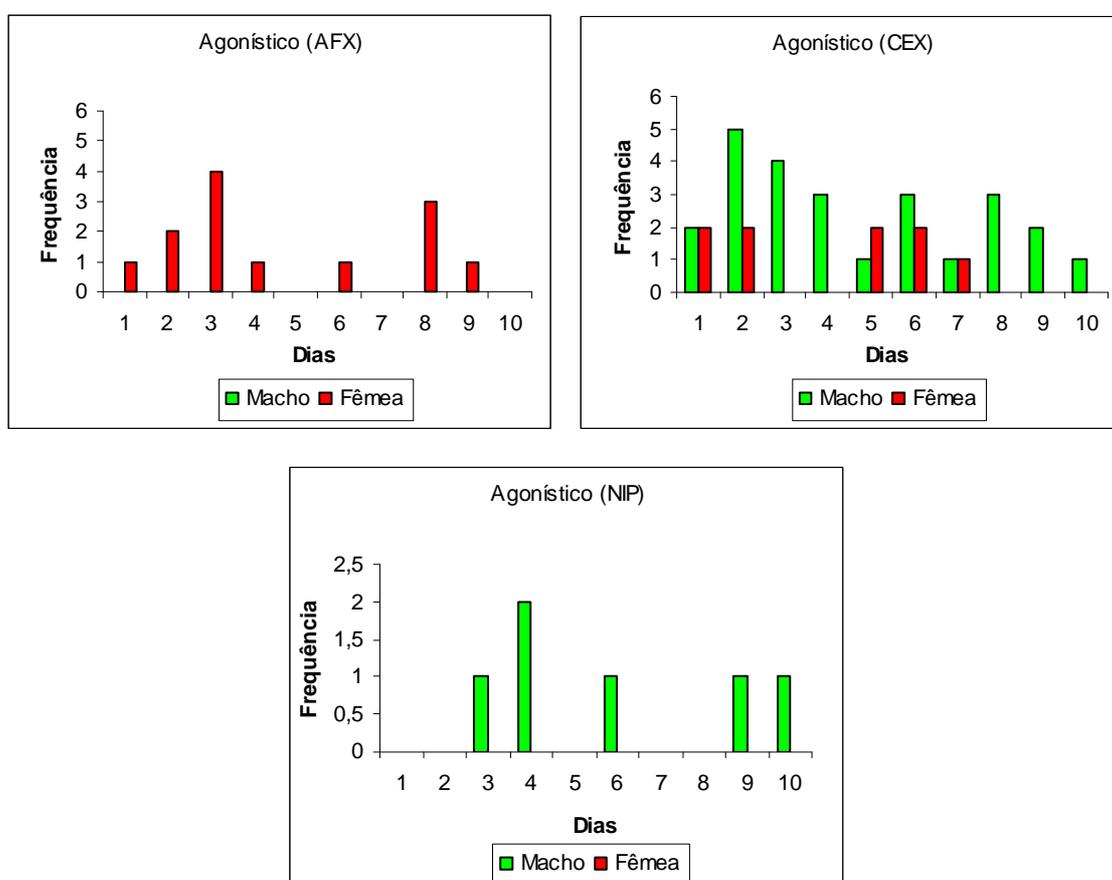


Figura 14: Frequências observadas para os comportamentos de fuga rápida (AFX), extensão do quelípedo (CEX) e beliscão (NIP) para machos e fêmeas de *M. olfersi* do grupo tratado.

4.2 Comportamento Exploratório

O comportamento exploratório foi realizado por todos os animais do aquário logo que estes são colocados no novo ambiente, sendo uma forma de

reconhecimento e de escolha de abrigos e territórios. Durante o período que os animais permaneceram em aquário, foram estabelecidos três tipos de comportamentos para definir a posição do animal (abrigado, parcialmente abrigado ou fora do abrigo) e outros três tipos de comportamento (nadar na coluna d'água, vasculhar o fundo do aquário ou ocupar abrigos livres) para repertórios realizados quando os animais exploravam o aquário.

Tanto os animais do grupo tratado quanto os do controle realizaram todos os comportamentos definidos na tabela abaixo (Tabela 5).

Os comportamentos exploratórios de natação na coluna d'água (NCS), explora o fundo do aquário (AFS) e escolha de abrigos livres (EAL) foram considerados apenas quando os animais estavam fora dos abrigos (FAB). Houve diferença significativa no registro da frequência dos animais abrigados (ABG) e de escolha de abrigos livres (EAL) entre as fêmeas do grupo tratado e do grupo controle, sendo que os demais comportamentos não foram significativamente diferentes.

Tabela 5: Comportamentos exploratórios registrados na espécie *Macrobrachium olfersi* nos grupos controle e tratado, com a média das frequências de cada comportamento.

Comportamento	Exploração/ Permanência no abrigo	Machos		Fêmeas	
		Tratado	Controle	Tratado	Controle
Abrigado (ABG)	Animal permanece no abrigo durante os 10 segundos de observação.	217,5 (±22,5) ^a	173,7 (±18,9) ^a	334,0 (±33,4) ^{a*}	202,0 (±26,2) ^b
Explora e abriga (AEA)	Animal sai do abrigo rapidamente, tornando a abrigar-se.	4,0 (±1,8) ^a	0,3 (±0,2) ^a	7,0 (±1,1) ^b	4,3 (±1,3) ^b
Fora do Abrigo (FAB)	Animal permanece explorando durante os 10 segundos de observação.	30,5 (±11,2) ^a	6,0 (±6) ^a	109,1 (±16,1) ^b	93,7 (±14,0) ^b
Natação na coluna d' água (NCS)	Animal permanece nadando na coluna d'água durante os 10 segundos de observação	1,7 (±1,5) ^a	0,0 ^a	1,4 (±0,5) ^b	1,0 (±0,4) ^b
Explora o fundo do aquário (AFS)	Animal explora o fundo do aquário durante os 10 segundos fora do abrigo.	27,5 (±9,9) ^a	6,0 (±6,0) ^a	106,6 (±15,7) ^b	92,5 (±13,9) ^b
Escolha de abrigos livres (EAL)	Animal tenta ocupar um abrigo diferente que está livre.	0,3 (±0,2) ^a	0,0 ^a	1,4 (±0,3) ^{a*}	0,3 (±0,1) ^b

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos (* p< 0,01).

Com base nos comportamentos registrados pode-se estabelecer que os machos dominantes nos grupos controle e tratado foram sempre os machos maiores e com quelas e quelípodos mais robustos, seguidos dos machos menores e com quelas e quelípodos menos desenvolvidos. Esses animais escolhiam os seus abrigos no aquário e após estabelecimento em um lugar

difícilmente exploravam ou tentavam ocupar outros abrigos, permanecendo a maior parte do tempo abrigados e saindo somente para se alimentar ou defender seu território (figura 15).

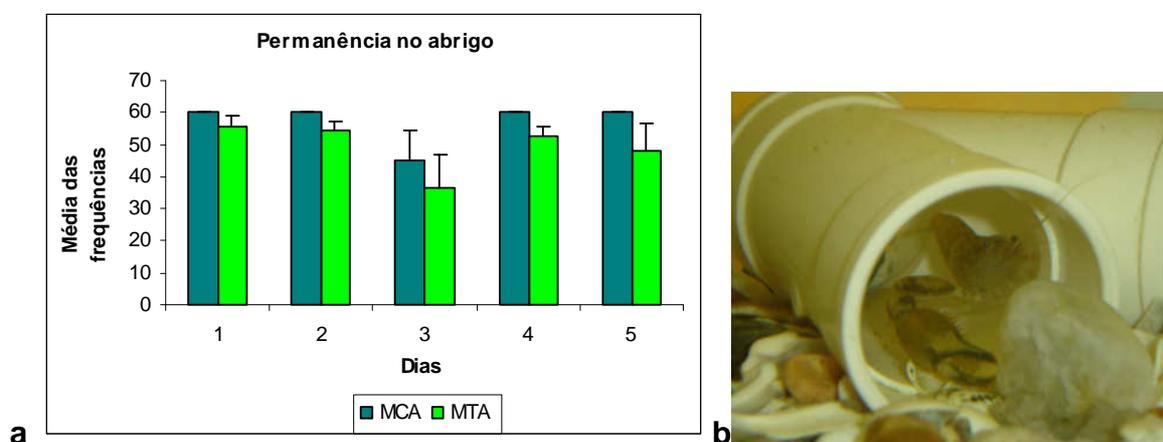


Figura 15: Média das frequências (a) dos machos controle (MCA) e tratados (MTA) de *M. offersi* abrigados no aquário (ABG). Macho dominante abrigado (b).

Já entre as fêmeas os níveis hierárquicos seguiram os mesmos padrões, definido pelo porte dos animais, onde as fêmeas maiores eram dominantes sobre as menores e submissas aos machos. Entretanto, as fêmeas ovígeras, independente de diferenças de tamanho, tornavam-se dominantes sobre as demais. Diferente dos machos, as fêmeas tratadas e controle permaneceram menos tempo abrigadas (figura 16), com comportamentos exploratórios mais freqüentes e duradouros.

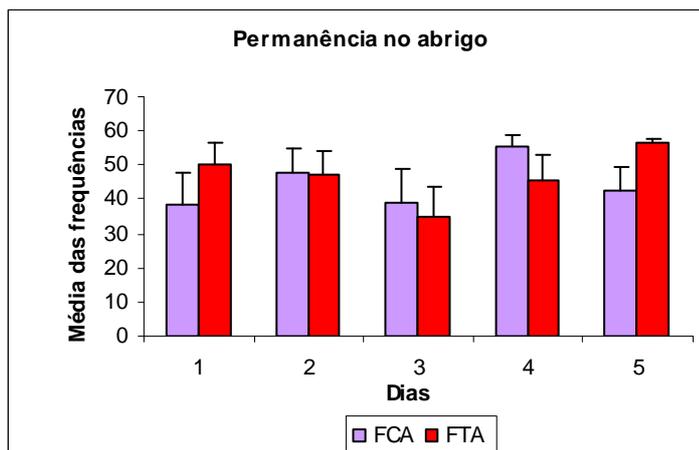


Figura 16: Média das frequências das fêmeas controle (FCA) e tratadas (FTA) de *M. olfersi* abrigadas no aquário (ABG).

Quando comparamos a permanência dos machos e das fêmeas fora do abrigo, fica evidente que as fêmeas tem um comportamento exploratório acentuado, sendo que tanto no grupo controle como no grupo tratado, o tempo de permanência das fêmeas fora do abrigo foi significativamente ($p < 0,001$) diferente dos machos (figura 17).

Os machos do grupo controle logo que colocados no aquário estabeleceram seus territórios e apresentaram comportamentos agressivos diante da aproximação de outros indivíduos. Estes animais foram os que menos exploraram o aquário, sendo registrado esse tipo de comportamento apenas no terceiro dia de observação.

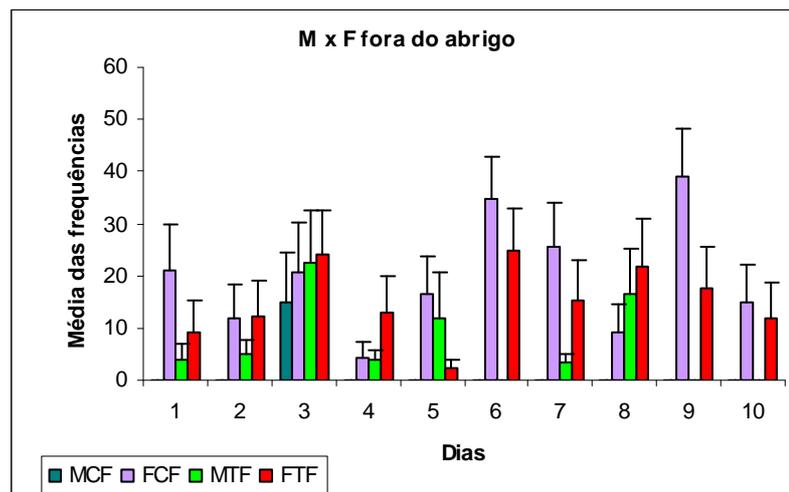


Figura 17: Média das freqüências de machos (M) e fêmeas (F) controle (C) e tratados (T) mostrando a permanência desses animais fora do abrigo (F) ao longo de 10 dias de observação. MCF: Machos controle fora do abrigo; FCF: Fêmeas controle fora do abrigo; MTF: Machos tratados fora do abrigo; FTF: Fêmeas tratadas fora do abrigo.

As fêmeas do grupo controle foram as que mais exploraram o aquário durante os 10 dias, permanecendo grandes períodos fora de abrigos. Apesar das fêmeas controle apresentarem uma freqüência de exploração constante, na maioria das vezes elas retornavam para o mesmo abrigo de onde saiam. Desta forma, estas fêmeas mantinham-se sempre perto de seus abrigos e em caso de aproximação de outros indivíduos demonstravam comportamento territorialista, embora mais ameno em relação ao territorialismo demonstrado pelos machos (figura 18).



Figura 18: Fêmea maior e dominante de *M. olfersi* abrigada no tijolo (→) e a fêmea menor fora do abrigo, sobre o tijolo.

Os machos do grupo tratado apresentaram frequência de permanência fora de abrigos menor que a das fêmeas e esse comportamento apresentou mais repetições ao longo dos dias de observação que o registrado nos machos do grupo controle. No entanto, os machos tratados não permaneciam grandes períodos explorando o aquário e sim fora de seus abrigos investindo contra outros indivíduos (principalmente fêmeas) que estavam próximos de seu território.

As fêmeas do grupo tratado apresentaram um comportamento exploratório freqüente, sendo registrado em todos os dias de observação, semelhante ao encontrado nas fêmeas controle. Além disso, as fêmeas tratadas trocavam constantemente de abrigo, enquanto as fêmeas controle o faziam mais esporadicamente, sendo este comportamento diferente entre as fêmeas dos dois grupos (figura 19).

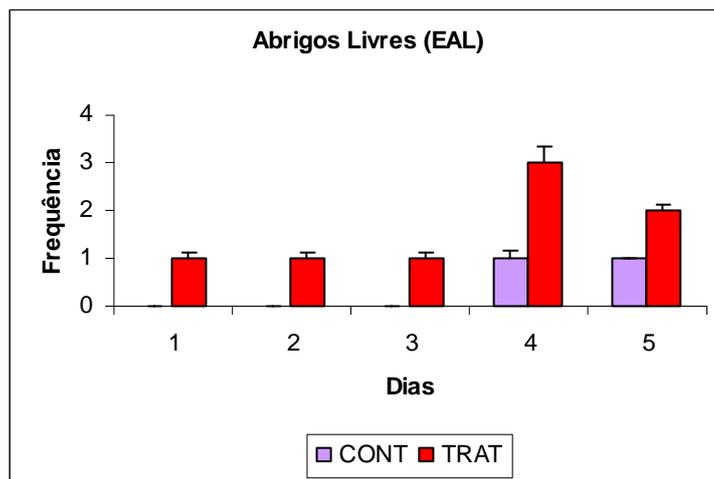


Figura 19: Frequência de ocupação de abrigos livres (EAL) pelas fêmeas (F) dos grupos tratados e controle durante os cinco primeiros dias de permanência no aquário.

Uma comparação entre os machos de pequeno e grande porte dos grupos controle e tratados no que diz respeito a permanência nos abrigos ou fora deles, mostra que os dois grupos apresentaram tempos muito semelhantes nesses tipos de comportamento exploratório (figura 20).

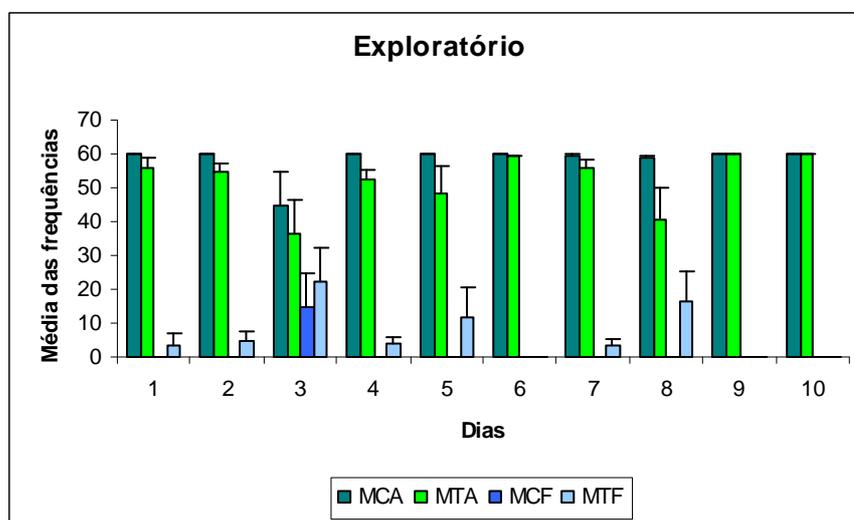


Figura 20: Média das frequências que indicam a permanência dos machos controle (MC) e dos machos tratados (MT) abrigados (ABG) e fora do abrigo (FAB). MCA: machos controle abrigados; MTA: machos tratados abrigados; MCF: machos controle fora do abrigo; MTF: machos tratados fora do abrigo.

Quando é relacionada a permanência das fêmeas em abrigos ou fora deles, observa-se que apesar do comportamento exploratório ser o mais freqüente, há um registro constante de permanência desses animais abrigados, sendo que, na maior parte dos dias a permanência das fêmeas tratadas no abrigo é maior que a das fêmeas do grupo controle (figura 21).

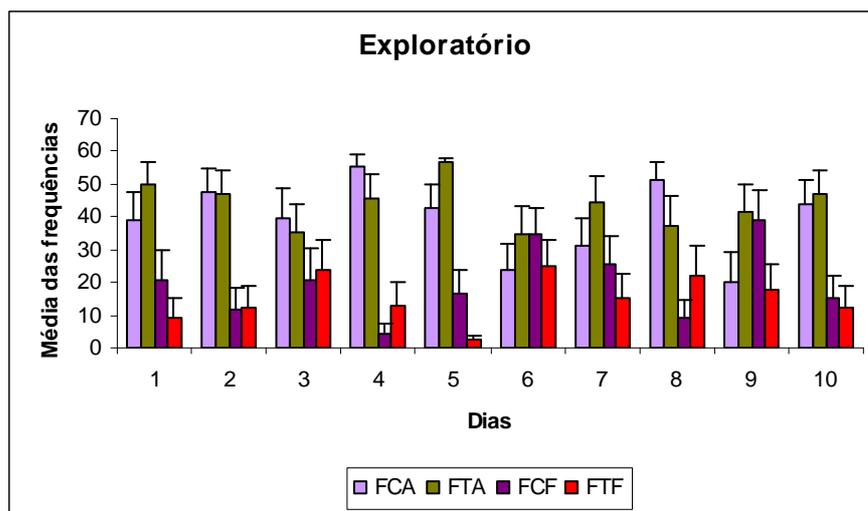


Figura 21: Média das freqüências que indicam a permanência das fêmeas controle (FC) e fêmeas tratadas (FT) abrigadas (ABG) e fora do abrigo (FAB). FCA: fêmeas controle abrigadas; FTA: fêmeas tratadas abrigadas; FCF: fêmeas controle fora do abrigo; FTF: fêmeas tratadas fora do abrigo.

Uma comparação feita entre os animais do grupo tratado mostra que apesar de no 5º dia as fêmeas terem um maior tempo de abrigo, nos demais dias os machos permaneceram mais tempo em seus abrigos. A permanência fora dos abrigos foi significativamente maior para as fêmeas, apesar de ser observado que os machos desse grupo também apresentaram esse tipo de comportamento (figura 22).

No grupo controle observou-se que, apesar dos machos terem um tempo de permanência em abrigos maior que o das fêmeas durante todos os dias de observação, essa diferença não foi significativa. Estar fora do abrigo, no

entanto, mostrou-se ser significativamente diferente ($p < 0,001$) entre machos e fêmeas, já que os machos controle praticamente não realizaram esse tipo de comportamento.

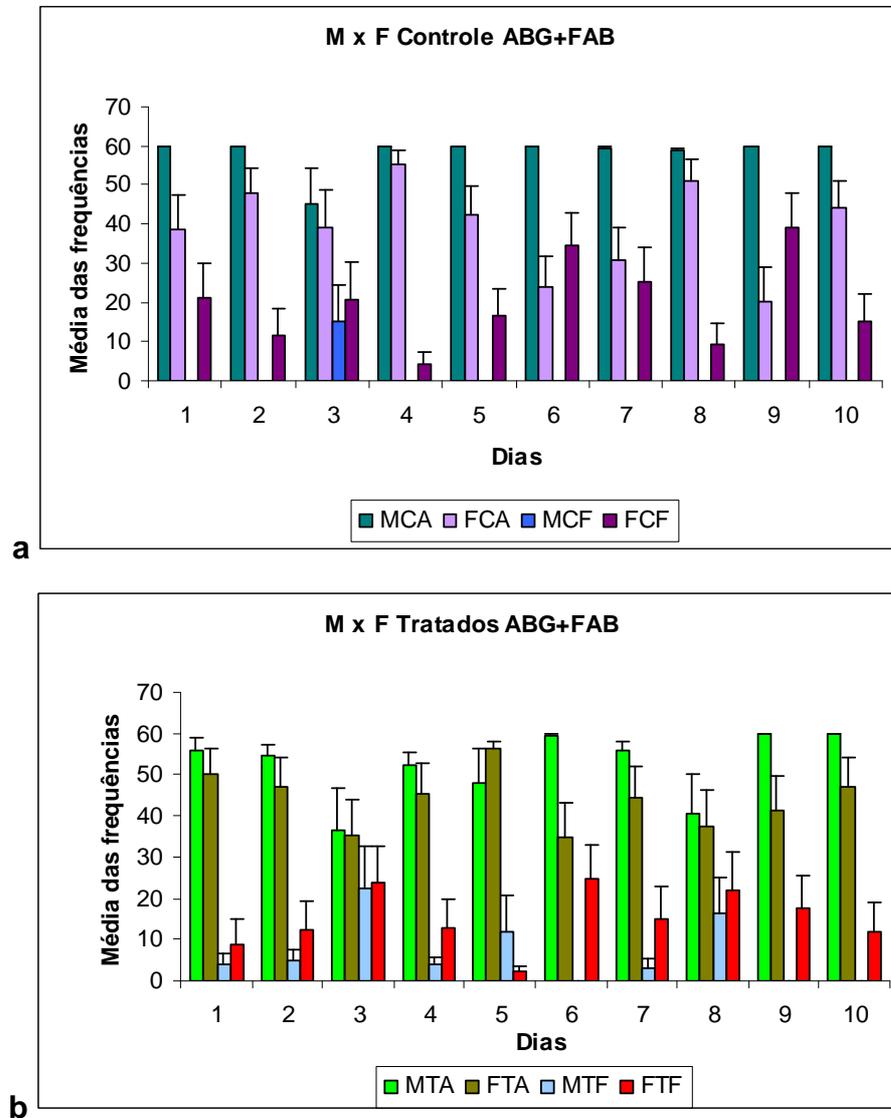


Figura 22: Média das freqüências que indicam a permanência dos machos e das fêmeas controle (a) e dos machos e das fêmeas experimentais (b) abrigados (ABG) e fora do abrigo (FAB). MCA: machos controle abrigados; MCF: machos controle fora do abrigo; MTA: machos tratados abrigados; MTF: machos tratados fora do abrigo; FCA: fêmeas controle abrigadas; FCF: fêmeas controle fora do abrigo; FTA: fêmeas tratadas abrigadas; FTF: fêmeas tratadas fora do abrigo.

Quando fora de abrigos, os animais desenvolviam tipos variados de comportamento. A maioria permanecia vasculhando o fundo do aquário ou

explorando o aquário e selecionando abrigos. Em determinados momentos alguns animais nadavam constantemente ao longo da coluna d'água, sendo que este tipo de procedimento era adotado principalmente por animais submissos atacados por um animal dominante (figura 23).

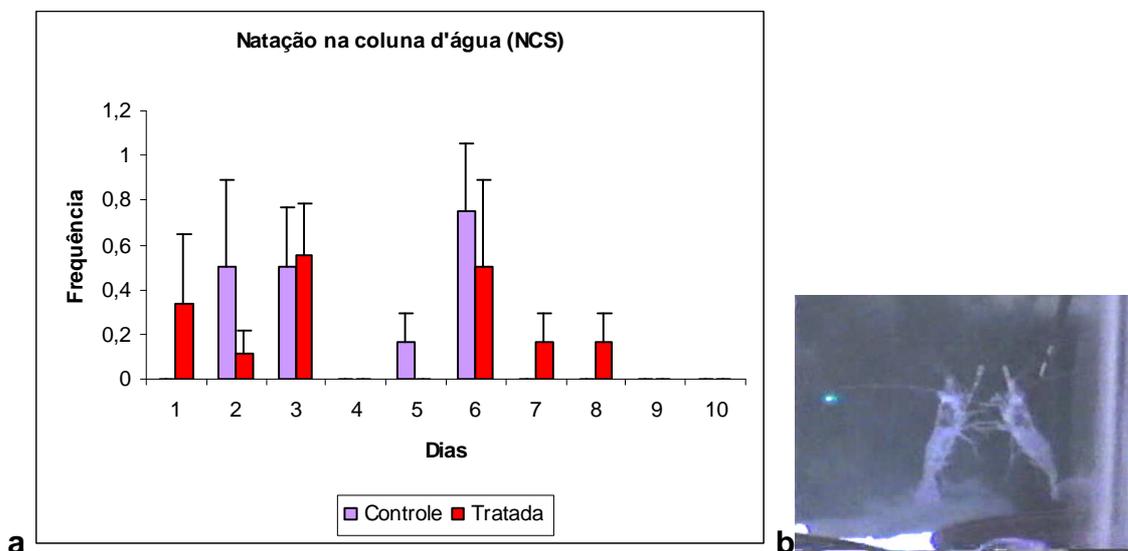


Figura 23: Em **a** freqüência do comportamento de natação na coluna d'água (NCS) apresentado ao longo de 10 dias de observação pelas fêmeas do grupo controle e tratado. Em **b** fêmea nadando na coluna d'água do aquário.

Os machos realizaram esporadicamente natação na coluna d'água e quando abrigados passavam a maior parte do tempo realizando procedimentos de autolimpeza ou atentos a movimentação dos demais ocupantes do aquário.

As fêmeas realizaram autolimpeza de forma constante, principalmente quando estavam abrigadas. Em alguns momentos de exploração esse comportamento também foi registrado. Fêmeas ovígeras passavam, com raras exceções, abrigadas durante toda a observação. Essas fêmeas permaneciam aerando seus ovos constantemente e realizando tanto autolimpeza como limpeza dos ovos inviáveis e outros resíduos da câmara incubadora.

Como os animais nunca eram alimentados antes das filmagens, a alimentação na bandeja não foi registrada, sendo que quando os animais

alimentavam-se durante a observação era devido a existência de resíduos no fundo do aquário.

4.3 Análise microscópica dos gânglios cerebrais

Tanto no grupo controle como no tratado foi possível observar que a estrutura básica dos três gânglios anteriores, que formam uma estrutura cerebral, não foi afetada pela exposição dos animais ao detergente. Todas as três regiões (protocérebro, deutocérebro e tritocérebro) estavam intactas, podendo ser reconhecidos os corpos celulares neuronais e gliais dispostos principalmente na região cortical dos gânglios. Em determinados locais verificou-se a organização de agrupamentos celulares, conforme revelado pela técnica de Hematoxilina-Eosina (figura 24). Esta é uma técnica clássica para reconhecimento das estruturas e é importante destacar que o emprego desta técnica não revelou alterações estruturais nos gânglios nervosos dos animais tratados com detergente.

Para identificar possíveis alterações causadas pelo detergente em monoaminas envolvidas no processamento neural dos camarões, foi empregada a técnica de imunohistoquímica, sendo analisadas as distribuições das substâncias serotonina (figura 25), cálcio-calmodulina e FMRF-amida (figura 26) nos gânglios cerebrais dos animais do grupo controle e dos animais expostos ao detergente.

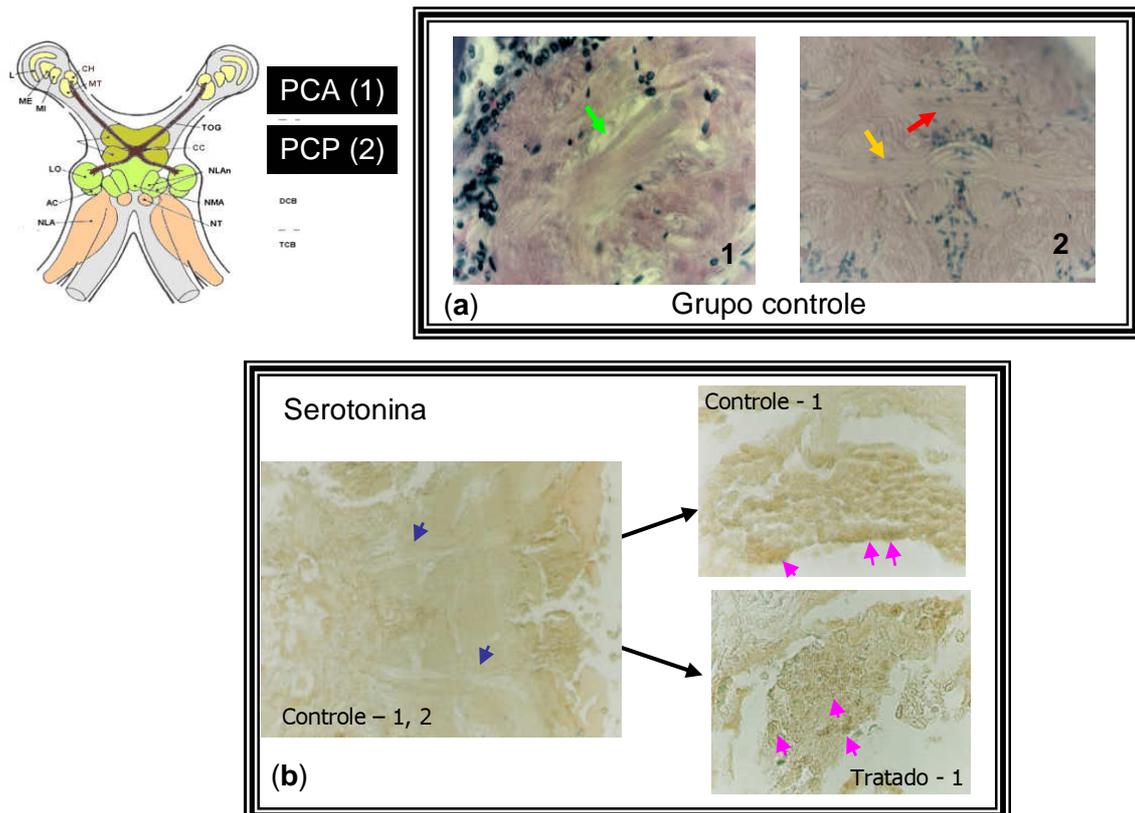


Figura 24: Em **a** gânglios cerebrais de *M. olfersi* submetidos a técnica de HE em aumentos de 400x e 200x, respectivamente. A seta verde indica o trato óptico, na região do protocérebro anterior (PCA). A seta vermelha indica a ponte protocerebral e a amarela o corpo central. Em **b** imunomarcção serotoninérgica com as setas azuis indicando os feixes neurais enquanto as marrons mostram a marcação (100x). As setas rosa indicam a marcação detalhada da serotonina (400x) nos grupos experimentais.

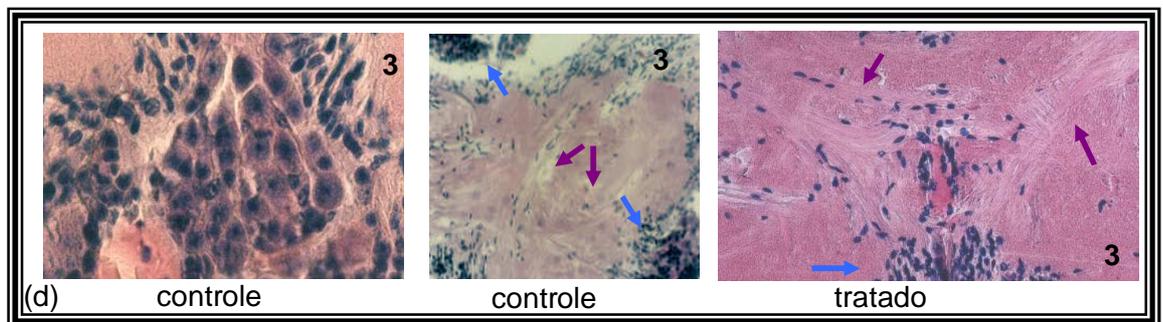
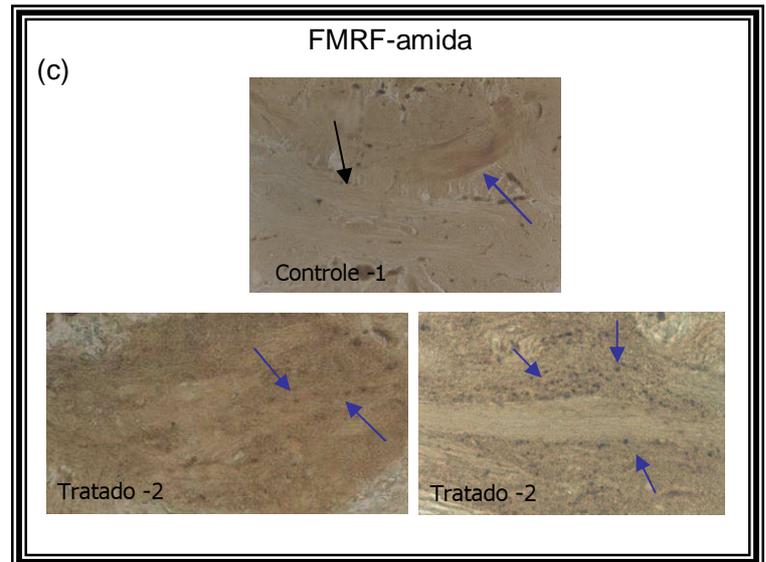
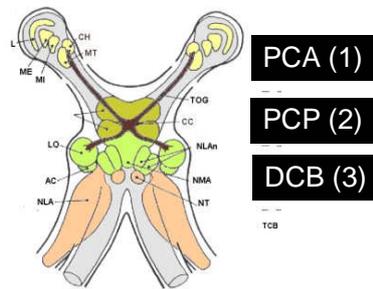


Figura 25: Em **c** imunomarcagem da FMRF-amida nos gânglios cerebrais de *M. offersi* nas regiões do Protocerebro anterior e posterior com as setas azuis indicando a marcação e a seta preta os feixes neurais (400x). Em **d** os gânglios cerebrais da região deutocerebral submetidos a técnica de HE. Destaque para a visualização de um agrupamento celular (400x) e os feixes neurais (seta violeta) que vão compor o trato globular olfatório (200x).

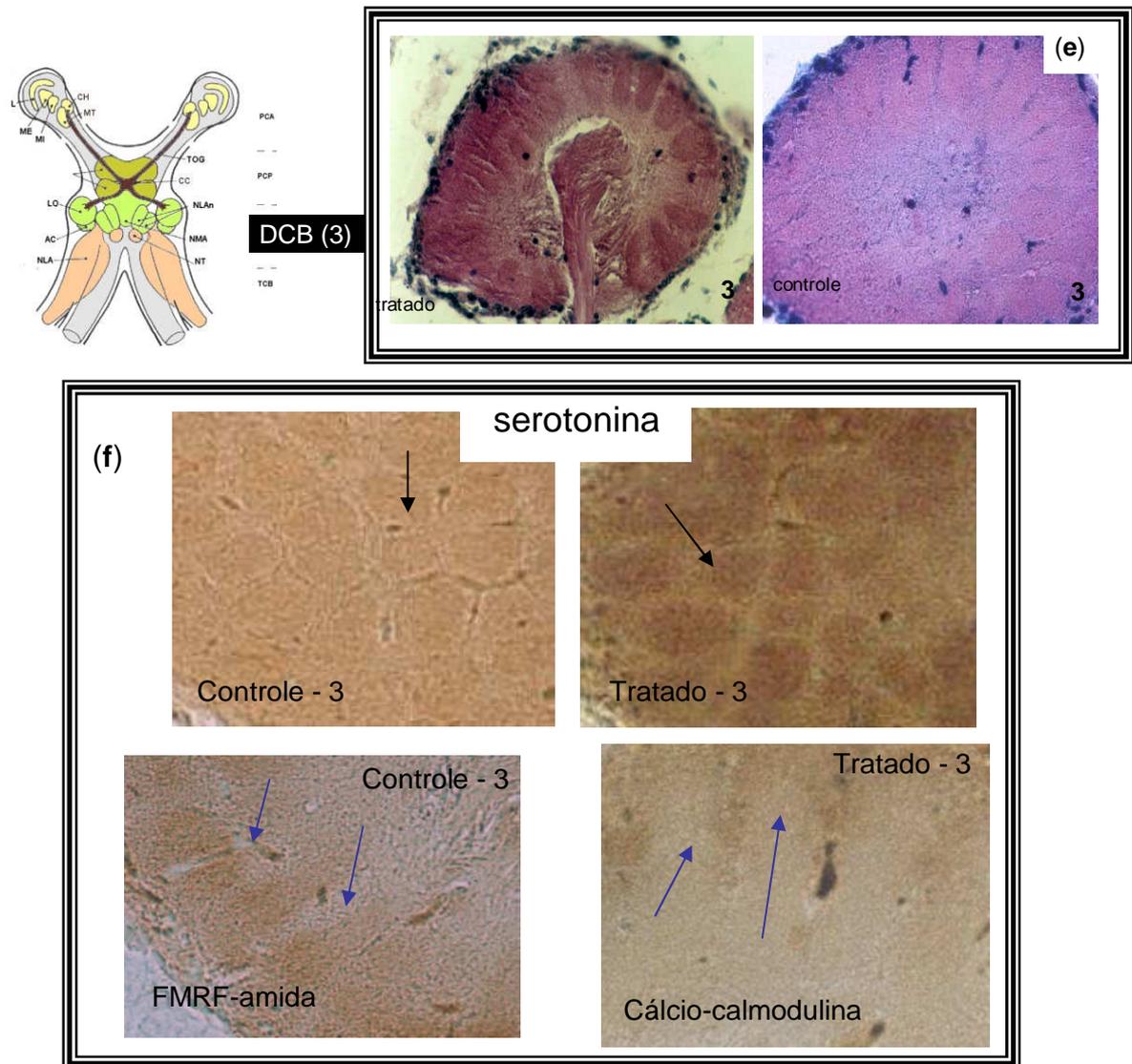


Figura 26: Em e a estruturação da região do lobo olfatório (DCB) submetidos a técnica de HE com aumento de 100x e 200x, respectivamente. Em f a imunomarcação para serotonina, cálcio calmodulina (400x) e FMRF-amida (200x), onde as setas indicam as três marcações na mesma região (→).

A imunomarcação para a serotonina foi a mais ampla, podendo ser encontrada nos três gânglios cerebrais, contudo verificou-se diferenças na intensidade de sua marcação. A Cálcio-calmodulina foi reativa geralmente em locais próximos a marcação serotoninérgica, estando bem evidenciada na região do lobo olfatório e do protocérebro. A FMRF-amida foi imunolocalizada principalmente na região protocerebral, sendo fracamente marcada nas demais regiões (figura 27).

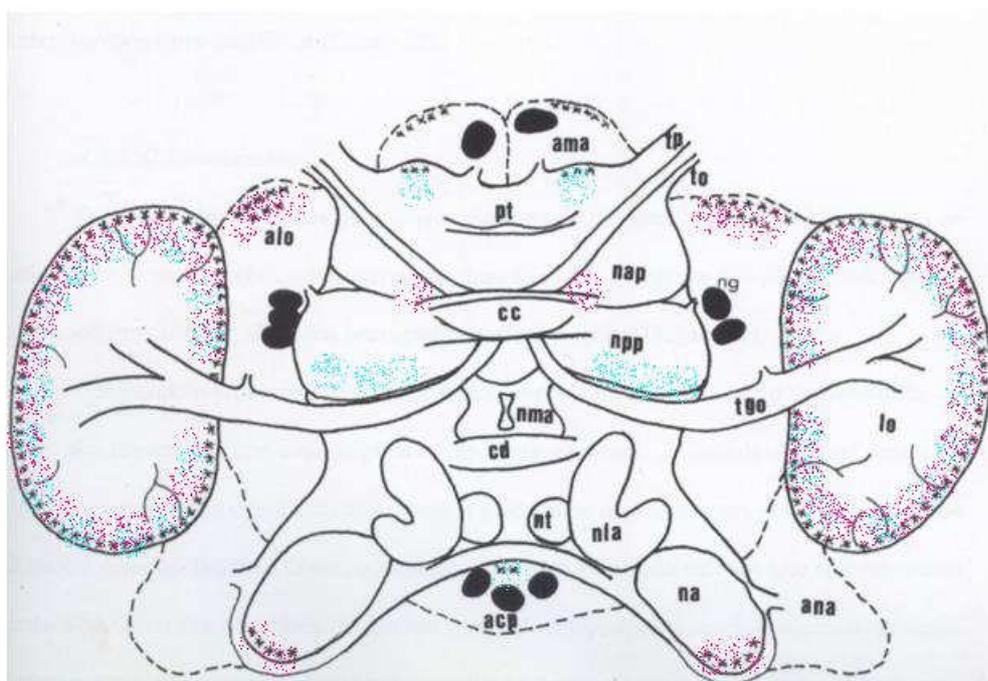


Figura 27: Desenho esquemático de gânglio cerebral de *M. olfersi* com sobreposição dos planos ventral e dorsal. Os asteriscos indicam a marcação serotonérgica, enquanto as partes em rosa indicam a marcação da cálcio calmodulina e as partes azuis a marcação da FMRF-amida.

A comparação feita entre os grupos controle e tratado não mostrou uma diferença evidente na marcação entre os dois grupos. Foi possível observar a localização da serotonina, da cálcio-calmodulina e da FMRF-amida nas mesmas regiões dos gânglios cerebrais de machos e fêmeas de ambos os grupos.

Não houve relação entre a imunolocalização da serotonina, da cálcio-calmodulina e da FMRF-amida e o tempo de exposição dos animais ao detergente. Machos e as fêmeas dissecados no 5º dia, 10º ou 15º dias apresentaram o mesmo grau aparente e local de imunoreatividade.

5. Discussão

A grande variedade de hábitos e formas corporais dos crustáceos se refletem no surgimento e na manifestação de estratégias de comportamento social e reprodutivo (Sandeman *et al.*, 1993). Estas formas comportamentais vêm sendo estudadas por Helluy e Holmes (1989) em *Gammarus lacustris* (Sars, 1864), Huber e Kravitz (1995) e Savage e Atema (2003) em *Homarus americanus* (Edwards, 1837), com o objetivo de se compreender a relação existente entre a fisiologia e o comportamento destes animais.

Uma característica comum a muitas espécies de palemonídeos é o estabelecimento de hierarquias, onde os animais maiores são geralmente dominantes em relação aos menores (Kretschmar, 1984). Em algumas espécies, como *M. rosenbergii*, as interações sociais e o estabelecimento de hierarquias são fundamentais para o desenvolvimento de machos grandes e dominantes e machos menores e submissos (Barki *et al.*, 1991).

No estudo realizado pode-se observar que tanto no grupo controle como no tratado uma hierarquia foi reconhecida no aquário já nos primeiros dias, sendo que em média, no terceiro dia já estava totalmente estabelecida. Esta rápida distribuição hierárquica também foi observada em estudos com *M. rosenbergii* (Karplus, 2005), mostrando que os animais tendem a se organizar logo após serem agrupados, contribuindo para a redução do número e a intensidade dos comportamentos agonísticos.

A análise do comportamento agonístico de *M. olfersi* revelou um padrão comportamental que se repetia todas as vezes que ocorriam encontros, o que fez com que mesmo aproximações e confrontos envolvendo comportamentos

diferentes culminassem com um desfecho semelhante, ou seja, com a dominância de um indivíduo sobre os demais.

Nos crustáceos a reprodução e o crescimento são funções vitais intimamente ligadas, sendo que até a maturidade, os machos e as fêmeas apresentam ritmo de crescimento similar. Com o início das atividades reprodutivas, as fêmeas necessitam investir muita energia para a maturação ovariana e produção de ovos, em detrimento do seu crescimento corporal (Hartnoll, 1982). Por outro lado, os machos investem grande parte de sua energia no crescimento corporal e na aquisição de um quelípodo robusto e ornamentado, necessários para o estabelecimento de territórios, bem como para defender a fêmea durante o comportamento de corte (Correa *et al*, 2003). Segundo Karplus (2005), a dominância de machos maiores envolve principalmente a manifestação de comportamentos agressivos, uma forma de manter seu território e inibir o crescimento dos machos menores. Nesta hierarquia, as fêmeas ovígeras adquirem um caráter dominante por tornarem-se mais agressivas, exigindo assim um território de seu interesse que permita passar grande parte do tempo cuidando de seus ovos (Atema e Voigt, 1995).

Apesar do estabelecimento hierárquico ter ocorrido nos dois grupos de estudo, no grupo tratado houve a manutenção na frequência e intensidade dos comportamentos agonísticos e os confrontos aconteceram durante todo o período de filmagens. Esta condição sugere que o detergente doméstico influencia na manifestação da agressividade nos animais. Embora nossos resultados tenham apontado o efeito do detergente de uso doméstico sobre os comportamentos analisados, a comparação destes dados com os disponíveis na literatura fica prejudicada, pois os trabalhos que analisam a bioacumulação

de poluentes nos tecidos de invertebrados (Magalhães *et al.*, 2003; Martín-Díaz, *et al.*, 2005) dificilmente fazem relação ao comportamento apresentado pelos animais estudados.

A menor ocorrência de comportamentos agonísticos no grupo controle pode estar relacionada com as características de escolha e defesa territorial, que neste grupo ocorreram exclusivamente nos três primeiros dias de observação. Contudo, quando os animais são colocados em um novo aquário, reiniciam a busca e escolha de novos abrigos, passando grandes períodos vasculhando o novo ambiente. A busca por acomodação e a procura por melhor abrigo pelos indivíduos dominantes e submissos propicia um ambiente mais favorável a lutas, onde após o estabelecimento hierárquico os animais ficam acomodados e mesmo explorações freqüentes do aquário não levam a nenhum tipo de confronto.

Os encontros agonísticos registrados no grupo tratado foram significativamente superiores em relação ao grupo controle, mostrando que os animais ficaram mais agressivos com a exposição ao detergente. O número de confrontos envolvendo fêmeas deve-se principalmente a freqüência com que estas exploram o aquário. A entrada de fêmeas no território dos machos só foi realizada pelas fêmeas que apresentavam ovário maduro, o que pode estar relacionado ao comportamento sexual no gênero *Macrobrachium*, onde os machos dominantes tornam-se receptivos a aproximação de fêmeas, conforme observado por Graziani *et al.* (1993) para *M. carcinus*.

Os confrontos envolvendo machos não foram tão freqüentes, principalmente devido à permanência dos mesmos em abrigos por longos períodos. Mesmo os machos submissos permaneciam grandes períodos abrigados. Estudos que

avaliaram os tipos de comportamentos agonísticos em crustáceos (Karplus e Harpaz, 1990; Barki *et al.*, 1991; Karplus e Hulata, 1995), colocavam os animais em duplas ou somente machos em aquários sem abrigos para o registro de tipos de confrontos realizados. Diferentemente, no presente estudo havia abrigo disponível para todos os camarões colocados no aquário. Além disso, abrigos extras estavam disponíveis aos animais, para que houvesse uma similaridade ao ambiente natural. Machos e fêmeas de *M. offersi* podiam, portanto, mudar de abrigo sem entrar em confronto com os demais indivíduos. Isto significa que os comportamentos agonísticos registrados são característicos da espécie *M. offersi* e não foram induzidos por um estresse no ambiente.

Mesmo havendo disponibilidade de abrigos, os animais do grupo tratado mostraram-se agressivos durante todo o tempo de filmagens e os machos deste grupo mostraram comportamentos agonísticos que envolviam contato físico, ou seja, apresentaram uma agressividade pronunciada em relação aos outros ocupantes do aquário.

A forma de registro dos comportamentos agonísticos adotada neste estudo demonstra que há um certo padrão nos tipos de comportamentos registrados para esses animais, conforme observado por Barki *et al.* (1991), em *M. rosenbergii*. Esse padrão estabelecido mostra que animais dominantes tendem a apresentar um tipo de comportamento mais agressivo, complexo e dinâmico. Já os animais submissos apresentam geralmente um comportamento de fuga, respondendo rapidamente ao ataque de seu oponente. Tanto para dominantes como para submissos fica claro que o contato físico é o último argumento utilizado para se decidir quem é o vencedor ou o perdedor do conflito.

Os animais dominantes valem-se além do seu porte, também das quelas para definir sua posição hierárquica. A importância das quelas para os camarões foi descrita por Barki *et al.* (1991) para a espécie *M. rosenbergii*, sendo que o mesmo foi observado no presente estudo para *M. olfersi*, que utiliza a quela na grande maioria dos confrontos. A agressividade envolvendo contato físico por parte dos machos é uma característica que os coloca num nível hierárquico superior em relação aos demais indivíduos do aquário. Em uma disputa entre dois oponentes, pode-se considerar vencedor aquele que realiza um maior número de “beliscão” (NIP), comportamento esse que envolve a movimentação da quela e do quelípodo do animal e que agride o oponente de forma violenta (Karplus, 2005).

Apesar do contato físico estabelecer as diferenças entre quem ganha ou perde um confronto, comportamentos agonísticos envolvendo contato corporal não ocorreram com frequência, pois com a hierarquia estipulada já nos primeiros dias os animais submissos apenas se esquivavam dos ataques dos dominantes, não havendo um contato direto. Geralmente, o animal submisso não enfrenta o dominante e o confronto é mais um ritual de comportamentos envolvendo movimentação do corpo e das quelas. Como no presente estudo foram utilizados animais de tamanhos semelhantes, evitar confrontos que envolvam contatos físicos severos torna-se fundamental para os dois animais, sendo que o camarão que apresentar um tamanho corporal ou de quelípodo maior sairá vencedor, pois a probabilidade de ferir seu oponente de forma grave faz o indivíduo de menor porte recuar (Barki *et al.*, 1991).

Como não houve registro de comportamentos envolvendo contato físico entre os machos do grupo controle, parece evidente que houve uma menor

agressividade desses animais em relação aos tratados. Os únicos contatos corporais registrados para esses indivíduos foram os envolvendo as antenas, comportamento este que pode preceder um combate conforme descrito por Huber e Kravitz (1995). Movimentos de corpo, de quelas e de quelípodos entre os indivíduos combatentes eram suficientes para o término dos confrontos, sem a necessidade de contato físico e, considerando que os animais dispunham de espaço e abrigos, a fuga do submisso era facilitada. De qualquer forma, todos os comportamentos agonísticos registrados nos animais do grupo controle foram pouco freqüentes, ocorrendo só em ocasiões onde era inevitável que os animais se enfrentassem.

Trabalhos realizados com *H. americanus* (Huber e Kravitz, 1995), *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Jivoff e Hines, 1998) e *M. rosenbergii* (Karplus, 2005) demonstram que esses animais utilizam suas quelas e quelípodos muito freqüentemente durante situações de confronto. Da mesma forma, em *M. olfersi* o comportamento agonístico de extensão do quelípodo (CEX) foi o mais freqüente nos machos do grupo tratado, mostrando que nesta espécie esse apêndice também é fundamental para decisão em embates. De acordo com Barki *et al.* (1991), CEX é um tipo de comportamento realizado com muita freqüência pelos animais dominantes, que comumente saem vencedores dos confrontos. Da mesma forma APF (aproximação para posicionamento frontal) e EBM (abraço) são igualmente freqüentes entre os dominantes, mas não ocorrem no início do conflito, ou seja, essa conduta é apresentada em resposta a movimentação de outro animal.

No entanto, apesar da alta freqüência, CEX não envolve contato direto entre o quelípodo e o corpo do oponente, mantendo a integridade física dos

camarões envolvidos no combate e tendo resultados de dominância favoráveis ao indivíduo maior e mais forte. Outros dois comportamentos que foram freqüentes nos machos do grupo tratado foram CLF (elevação completa) e PSH (empurrão), sendo que CLF, juntamente com movimento de quelípodos e orientação do corpo, são considerados por Barki *et al.* (1991) como os três maiores componentes agonísticos em *M. rosenbergii*. O comportamento CLF mostra ao oponente já em um primeiro instante o tamanho de seu adversário, podendo nesse ponto já ser decidido quem é o dominante e quem é o submisso. Huber e Kravitz (1995) em seus estudos com *H. americanus* enfatizam que quando o confronto demora a ser decidido pode haver um aumento na intensidade de luta, havendo casos onde o animal mais forte segura seu oponente com o quelípodo e dilacera seus apêndices (antenas, quelípodos, pernas).

O final dos confrontos pode ser reconhecido quando um dos animais envolvidos, no caso o animal submisso, realiza o tipo de ação TSD (rotação para posicionamento lateral) ou MVA (afastamento), deixando evidente para o animal dominante sua posição inferior na hierarquia. As fêmeas foram as que realizaram com freqüência MVA e somente nas fêmeas do grupo tratado foi registrado TSD, demonstrando que esses animais geralmente assumiam a posição de submissão em relação aos machos. AFX (fuga rápida) também foi um tipo de comportamento freqüente em fêmeas submissas, sendo uma forma de se esquivar de ataques agressivos dos animais maiores.

Nos estudos feitos por Barki *et al.* (1991) com *M. rosenbergii* foi observado que os animais dominantes realizavam em maior freqüência o comportamento de APF (aproximação para posicionamento frontal), mas o mesmo não foi

registrado para *M. offersi* no presente estudo. Neste caso, os animais submissos foram os que apresentaram a maior frequência de APF, principalmente as fêmeas. Este resultado deve-se em grande parte ao tipo de metodologias adotadas, pois nos trabalhos com *M. rosenbergii* os animais eram colocados aos pares em aquários sem abrigos, onde o animal maior visava uma rápida aproximação para decidir o conflito. Já no caso de *M. offersi* o aquário dispunha de cinco animais e abrigos disponíveis e as aproximações aconteciam principalmente em momentos de exploração das fêmeas, que acabavam invadindo o território dos machos.

O comportamento exploratório dos camarões expostos ao detergente não apresentou mudanças significativas comparados ao grupo controle, principalmente em relação aos machos, que não exploraram o aquário com frequência, demonstrando que o seu padrão de territorialismo não foi afetado pelo detergente. As fêmeas do grupo tratado tiveram um aumento significativo no comportamento exploratório em relação às fêmeas do grupo controle, sugerindo que o poluente utilizado esteja relacionado com o aumento da frequência exploratória nas fêmeas desta espécie. Em estudos realizados por Panksepp e Huber (2004) com psico-estimulantes em crustáceos, foi possível notar a influência dos mesmos no comportamento exploratório de *Orconectes rusticus* (Girard, 1852) (Decapoda, Crustacea), sendo que algumas drogas utilizadas, como cocaína e anfetamina, causaram o aumento da exploração do aquário.

A permanência dentro ou fora dos abrigos foi semelhante em ambos os grupos, reforçando a idéia de que os machos exploram menos que as fêmeas, demonstrando que esse comportamento não foi afetado pelo detergente. A

diferença no tempo de permanência em abrigos ou fora deles deve-se à hierarquia pré-estabelecida, onde as fêmeas são submissas aos machos (Cromarty *et al.* 1998), e principalmente devido à conduta adotada pelos machos, que são extremamente territorialistas e permanecem no seu espaço atentos a aproximação de outros animais. As fêmeas apresentam naturalmente um caráter mais exploratório e devido a isso tanto mudam mais freqüentemente de abrigo como se envolvem em um maior número de encontros agonísticos.

Machos dominantes dificilmente mudam de abrigo após escolhê-lo e o mantêm protegido de outros machos ou fêmeas. A aproximação de fêmeas do território do macho dominante é permitida para a reprodução, sendo que nesse caso o macho não é agressivo (Jivoff e Hines, 1998). As fêmeas do grupo controle freqüentemente saíam de seus abrigos, retornando para os mesmos de onde saíam, mantendo uma regularidade na permanência nos mesmos abrigos, mas sustentando a idéia de um caráter comportamental exploratório mais evidente que os dos machos.

O detergente parece agir principalmente sobre as fêmeas no caso do comportamento exploratório, pois foi nesses animais que ficou evidente a diferença na atividade exploratória entre fêmeas controle e fêmeas tratadas que, além de ter sido significativamente maior do que as do grupo controle, apresentavam uma mudança freqüente de abrigos, escolhendo um local que não estava ocupado por outro animal. Esta troca constante pode estar relacionada ao fato das fêmeas do grupo tratado terem explorado mais o aquário, o que torna a ocupação de novos abrigos mais favorável e demonstra que essas fêmeas não estabeleceram territórios definitivos ao longo da permanência no aquário.

Os comportamentos agonísticos e exploratórios encontram-se extremamente relacionados, ou seja, para haver um confronto os animais tem que se encontrar e para que isso aconteça pelo menos um dos envolvidos precisa estar fora de seu abrigo, seja explorando o aquário ou procurando um novo lugar para se estabelecer.

O controle tanto dos comportamentos agonísticos como dos exploratórios é feito através de mecanismos neurais que envolvem entre outras substâncias, a presença de aminas biogênicas, importantes sinalizadores moleculares no sistema nervoso destes animais (Sneddon *et al.*, 2000).

Nos crustáceos após a maturidade sexual, a atividade neurosecretora está tanto envolvida na regulação dos comportamentos de interação sexual entre machos e fêmeas, como nos comportamentos de agressividade entre os machos e de cuidado parental realizado pelas fêmeas (Graziani *et al.*, 1993). Segundo Pflüger (1999), o envolvimento de moduladores neurais em crustáceos reflete-se nas mais variadas formas comportamentais, onde a neuromodulação tem papel fundamental no desenvolvimento e maturação do sistema motor, bem como na ativação de neurônios durante a elaboração de um comportamento motor.

Sabe-se que a serotonina e a octopamina têm um papel importante no controle da postura em crustáceos (Vinagre *et al.*, 2004) e tanto estas como outras aminas biogênicas, como norepinefrina, tiramina e dopamina encontram-se relacionadas com respostas comportamentais de dominância e submissão (Huber *et al.*, 1997; Yeh *et al.*, 1997).

Com o aumento da agressividade dos camarões do grupo exposto ao detergente esperava-se encontrar uma diferença na imunomarcagem tanto da

serotonina, diretamente relacionada à agressividade em crustáceos (Antonsen e Paul, 1997; Sneddon *et al.*, 2000), como na cálcio-calmodulina e na FMRF-amida, estas últimas consideradas co-transmissores da serotonina (Homberg e Hildebrand, 1989; Withers *et al.*, 1998). Em estudos realizados por Tierney *et al.* (2004) verificou-se que a injeção de serotonina nas espécies *Procamnarus clarkii* (Girard, 1852) e *O. rusticus* resultou no aumento significativo na manutenção de uma postura elevada e a natação dos animais no aquário, enquanto a exploração do substrato foi bastante reduzida.

Desta forma, sabe-se que tanto a serotonina como seus co-transmissores estão envolvidos em comportamentos que envolvam postura e locomoção. Tanto a estrutura cerebral, como os gânglios do cordão ventral de crustáceos possuem pelo menos um neurônio imunoreativo a serotonina (Fingerman *et al.*, 1994). No presente estudo, apesar das substâncias analisadas terem sido imunolocalizadas no PCA (protocérebro anterior), PCP (protocérebro posterior), DCB (deutocérebro) e TCB (tritocérebro), as diferenças existentes entre os comportamentos realizados pelos animais dos grupos controle e tratado não foram evidenciadas pela marcação com a serotonina.

Em estudos como de Sneddon *et al.* (2000) que analisaram os níveis de tiramina, serotonina e octopamina circulantes em *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758) logo após a ocorrência de confrontos ou atividades exploratórias, mostra que há uma relação entre a atividade realizada pelo animal e os níveis das aminas biogênicas analisadas. Parece haver ainda uma relação entre a quantidade dessas substâncias e a habilidade de luta de cada animal, sendo que os melhores competidores têm concentrações maiores destas aminas. Assim, o uso de metodologias que possibilitem o registro de serotonina, cálcio-

calmodulina e FMRF-amida logo após a observação de um confronto podem mostrar resultados mais conclusivos em relação às alterações provocadas pelo detergente, já que no presente estudo os animais não foram sacrificados logo após a observação do comportamento, e sim após cinco, dez e quinze dias de exposição ao detergente.

É importante ressaltar que assim como outros organismos, os crustáceos são sensíveis a alterações ambientais e sua exposição a contaminantes, tanto orgânicos como inorgânicos, podem comprometer o processo de muda e regeneração, mudanças de cor em algumas espécies, os níveis de glicose e a reprodução (Fingerman *et al.* 1998). A elaboração de estudos detalhados que associem os comportamentos de várias espécies de crustáceos e suas similaridades, possibilitará um maior entendimento entre os comportamentos elaborados desenvolvidos por esses animais (Barki *et al.*, 1991). O emprego de técnicas de microscopia confocal, eletrônica analítica e de transmissão podem colaborar na compreensão dos danos causados por agressões ao habitat desses animais, ajudando na identificação de alterações específicas e servindo como base em trabalhos sobre ecotoxicologia (Chandler e Volz, 2004).

6. Considerações finais

- O detergente de uso doméstico afetou de forma significativa o comportamento agonístico dos animais a ele expostos, aumentando a agressividade entre os machos e fêmeas do aquário;
- O comportamento exploratório dos machos aparentemente não foi comprometido pelo uso do detergente, sendo que tanto no grupo controle como no tratado esses animais apresentaram frequências exploratórias semelhantes;
- As fêmeas do grupo tratado tiveram alterações significativas no que diz respeito a permanência no abrigo, mostrando que o detergente parece ter afetado esse tipo de ação, o que não aconteceu com os machos;
- A estrutura dos gânglios nervosos dos animais expostos ao detergente não foi afetada no período estudado, o que indica que a dose usada (0,07%) causa alterações no comportamento dos camarões, mas não é capaz de causar danos celulares evidentes com as técnicas utilizadas;
- A estrutura dos gânglios nervosos dos animais expostos ao detergente não foi afetada, o que indica que a dose usada causa alterações no comportamento dos camarões, mas não é capaz de causar danos celulares;
- A imunohistoquímica não indicou relação aparente entre a marcação de serotonina, cálcio calmodulina e FMRF-amida e a agressividade dos animais dos grupos controle e tratado, sendo que nos dois grupos as marcações foram semelhantes tanto para machos como para fêmeas dissecados em diferentes tempos de exposição ao detergente;
- Os resultados obtidos sugerem que a utilização de técnicas de microscopia associadas aos picos de agressividade dos animais analisados, sendo que assim que um comportamento agonístico for registrado o animal seja em seguida dissecado e seus gânglios estudados.

7. Referências Bibliográficas

- AGGIO, J.; RAKITIN, A.; MALDONADO, H. 1996. Serotonin induced short and long – term sensitization in the crab *Chasmagnathus granulata*. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, **53** (2): 441-448.
- AMMAR, D. 2000. Padrão morfológico para o sistema nervoso central de crustáceos decápodes. **Dissertação de Mestrado**. UFSC, SC. 76pp.
- AMMAR, D.; MÜLLER, Y. M. R.; NAZARI, E. M. 2001. Biologia reprodutiva de *Macrobrachium olfersi* (Wiegman) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) coletados na Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Revista brasileira de Zoologia**. **18** (2): 529-537.
- ANTONSEN, B. L.; PAUL, D. H. (1997) Serotonin and octopamine elicit stereotypical agonistic behaviors in the squat lobster *Munida quadrispina* (Anomura, Galatheidae). **Journal of Comparative Physiology**. 181A, 501-510.
- ARCULEO, M.; PAYEN, G.; CUTTITTA, A.; GALIOTO, G.; RIGGIO, S. 1995. A survey of ovarian maturation in a population of *Aristeus antennatus* (Crustacea: Decapoda). **Animal Biology**, **4**:13-18.
- ATEMA, J.; 1986. Review of sexual selection and chemical communication in the lobster *Homarus americanus*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, **43**: 2283-2390.
- ATEMA, J.; VOIGT, R. 1995. Behavior and sensory biology. In: Factor, J.R. (Ed.), **Biology of the lobster, Homarus americanus**. Academia Press Inc. San Diego, 313-348.
- BAINY, A. C. D. 2000. Biochemical responses in penaeids caused by contaminants. **Aquaculture**, **191**: 163-168.
- BARKI, A.; KARPLUS, I.; GOREN, M. 1991. The agonistic behaviour of the three male morphotypes of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Palaemonidae). **Behaviour**, **116**: 252-277.

- BEÇAK, W. & PAULETE, J. 1976. **Técnicas de Citologia e Histologia**. Vol. II. Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., Rio de Janeiro. 574p.
- BELTZ, B.S. 1999. Distribution and Functional Anatomy of Amine-Containing Neurons in Decapod Crustaceans. **Microscopy Research and Technique**, **44**: 105-120.
- BELTZ, B. 1988. Crustacean neurohormones. In: **Endocrinology of Selected Invertebrate Types**. 235-258.
- BELTZ B. S.; KRAVITZ E. A. 2002. Serotonin in Crustacean Systems: More than a Half Century of Fundamental Discoveries. **The Crustacean Nervous System**, **2**: 141-163.
- BENTON, J.; HUBER, R.; RUCHHOEFT, M.; HELLUY, S.; BELTZ, B. 1997 Serotonin Depletion by 5,7-Dihydroxytryptamine Alters Deutocerebral Development in the Lobster *Homarus americanus*. **Journal of Neurobiology**, **33**: 357-373.
- BLASCO, J., ARIAS A. M., SÁENZ V. 2002. Heavy metal concentrations in *Squilla mantis* (L.) (Crustacea, Stomatopoda) from the Gulf of Cádiz Evaluation of the impact of the Aznalcollar mining spill. **Environment International**, **28**: 111-116
- BLAUSTEIN, D.N.; DERBY, C.D.; SIMMONS, R.B.; *et al.* 1988. Structure of the brain and medulla terminalis of the spiny lobster *Panulirus argus* and the crayfish *Procambarus clarkii*, with emphasis on olfactory centers. **Journal of Crustacean Biology**, **8**:493-519.
- BLOCKWELL, S. J., TAYLOR, E. J., JONES, I. & PASCOE, D. 1998, The influence of fresh water pollutants and interaction with *Asellus aquaticus* (L.) on the feeding activity of *Gammarus pulex* (L.) **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, **34**: 41-47
- BOND-BUCKUP, G. & BUCKUP, L. 1989. Os Palaemonidae de águas continentais do Brasil meridional (Crustacea, Decapoda). **Revista Brasileira de Biologia**. **49**(4):883- 896.

- CAMPOS, M. L., BENDO, A., VIEL, F. C. 2002. Métodos de baixo custo para purificação de reagentes e controle da contaminação para a determinação de metais traços em águas naturais. **Química Nova**, **25**: 808-813.
- CARVALHO, H. A. 1978. Ciclo Sexual de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Decapoda): Relações com os Fatores Abióticos e Ciclo de Intermudas. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 199p.
- CHANDLER, G. T.; VOLZ, D. C. 2004. Semiquantitative Confocal Laser Scanning Microscopy Applied to Marine Invertebrates Ecotoxicology. **Marine Biotechnology**, **6**: 128-137.
- CORREA, C.; BAEZA, J.A.; HINOJOSA, I.A. & THIEL, M. 2003. Male dominance hierarchy and mating tactics in the rock shrimp *Rhynchocinetes typus* (Decapoda: Caridea). **Journal of Crustacean Biology**, **23**: 33-45.
- COSTA, M. S.; PACHECO, C.; NAZARI, E. M.; MÜLLER, Y. M. R. ; AMMAR, D. 2005. *Macrobrachium olfersi* (Wiegman) (Crustacea, Palaemonidae) embryo staging through morphological landmarks identified in each embryonic day. **Revista Brasileira de Zoologia**, **22**(2): 501-508.
- CROMARTY, S. I.; MELLO, J.; KASS-SIMON, G. 1998. Comparative Analysis of Escape Behavior in Male, and Gravid and Non-Gravid, Female Lobsters. **Biology Bulletin** **194**: 63-71.
- DIE, D. J.; MCGILVRAY, J. G.; COURTNEY, A. J.; COSGROVE, M. G. A quantitative method for staging penaeid prawn ovaries using image analysis. **Invertebrate Reproduction and Development**, 1995. **28** (3): 177-183.
- DUBÉ, P & PORTELANCE, B. 1992. Temperature and photoperiod effects on ovarian maturation and egg laying of the crayfish, *Orconectes limosus*. **Aquaculture**, **102** (1-2): 161-168.
- GOMES-CORRÊA, M. M. 1977. **Palaemonídeos do Brasil (Crustacea – Decapoda – Natantia)**, 135p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1977.

- HARZSCH, S. & DAWIRS, R. 1993. On the morphology of the central nervous system in larval stages of *Carcinus maenas* (Decapoda, Brachyura). **Helgoländer Meeresunters**, **47**: 61-79.
- HARZSCH, S. & DAWIRS, R. 1994. Neurogenesis in larval stages of the spider crab *Hyas araneus* (Decapoda, Brachyura): proliferation of neuroblasts in the ventral nerve cord. **Roux's Archives of Developmental Biology**, **204**: 93-100.
- HEBEL, D. K.; JONES, M. B.; DEPLEDGE, M. H. 1997. Responses of Crustaceans to Contaminant Exposure: a Holistic Approach. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, **44**: 177-184.
- FINGERMAN, M.; NAGABHUSHAN, R.; SAROJINI, R.; REDDY, P. S. 1994. Biogenic amines in crustacean: identification, localization and roles. **Journal of Crustacean Biology**, **14**: 413-437.
- FINGERMAN, M.; JACKSON, N. C.; NAGABHUSHANAM, R. 1998. Hormonally-regulated functions in crustaceans as biomarkers of environmental pollution. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, **120**, 342-350.
- FRIEDRICH R. W.; MOLNAR G. F.; SCHIEBE M.; MERCIER A. J. 1998. Protein Kinase C Is Required for Long-Lasting Synaptic Enhancement by the Neuropeptide DRNFLRFamide in Crayfish. **Journal of Neurophysiology**, **79**: 1127-1131.
- GRAZIANI, C. A.; CHUNG, K. S.; DONATO, M. 1993. Comportamiento reproductivo y fertilidad de *Macrobrachium carcinus* (Decapoda, Palaemonidae) en Venezuela. **Revista de Biología Tropical**, **41(3)**: 657-665.
- HARTNOLL, R. G. 1982. Growth. L.G. ABELE (ed) **Embriology morphology, and genetics**. New York, Academic Press, **2**: 111-196
- HARZSCH, S.; DAWIRS, R. R. 1995. A developmental study of serotonin-immunoreactive neurons in the larval central nervous system of the spider

- crab *Hyas araneus* (Decapoda, Brachyura). **Invertebrate Neuroscience**, **1**: 53-65.
- HELLUY, S.; HOLMES, J.C. 1990 Serotonin, octopamine, and the clinging behaviour induced by the parasite *Polymorpha paradoxus* (Acanthocephala) in *Gammarus lacustris* (Crustacea). **The Canadian Journal of Zoology**, **8**: 1214–1220.
- HELLUY, S.; SANDEMAN, R.; BELTZ, B.; SANDEMAN, D. 1993. Comparative Brain Ontogeny of the Crayfish and Clawed Lobster: Implications of Direct and Larval Development. **The Journal of Comparative Neurology**, **335**: 343-354.
- HOMBERG, U.; HILDEBRAND, J. G. 1989. Serotonin Immunoreactivity on the Optic Lobes of the Sphinx Moth *Manduca sexta* and Colocalization With FMRFamide and SCPB Immunoreactivity. **The Journal of Comparative Neurology**, **288**: 243-253.
- HUBER, R.; KRAVITZ, E. A. A Quantitative Analysis of Agonistic Behavior in Juvenile American Lobsters (*Homarus americanus* L.). 1995. **Brain Behavior and Evolution** **46**: 72-83.
- HUBER, R.; ORZESZYNA, M.; POKORNY, N.; KRAVITZ, E. A. 1997. Biogenic amines and aggression: experimental approaches in crustaceans. **Brain Behavior and Evolution**, **50**: 60-68.
- IPEMA (Instituto de Permacultura e Ecovilas da Mata Atlântica) - <http://www.ipemabrasil.org.br>
- JIVOFF, P.; HINES, A. 1998. Female behaviour, sexual competition and mate guarding in the blue crab, *Callinectes sapidus*. **Animal Behaviour**, **55**: 589-603.
- KAIÏM-MALKA, R. A.; DONADEY, C. 1984. Histological Alterations Observed in *Idotea balthica basteri* Audouin 1827 (Crustacea, Isopoda) Exposed to the Chronic Effect of Non-Ionic Detergents. **Marine Environmental Research**, **12**: 143-160.

- KARPLUS, I.; HARPAZ, S. 1990. Preliminary observations on behavioural interactions and distribution patterns of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* under semi-natural conditions (Decapoda, Caridea). **Crustaceana**, **59**: 193-203.
- KARPLUS, I.; HULATA, G. 1995. Social control of growth in *Macrobrachium rosenbergii* V. The effect of unilateral eyestalk ablation on jumpers and laggards. **Aquaculture**, **138**: 181-190.
- KARPLUS, I. 2005. Social control of growth in *Macrobrachium rosenbergii* (De Man): a review and prospects for future research. **Aquaculture research**, **36**: 238-254.
- KRAVITZ, E. A. 1988. Hormonal Control of Behavior: Amines and Biasing of Behavioral Output in Lobsters. **Science**, **241**: 1775-1781. Kaim-Malka e Donadey, 1984;
- KRETZSCHMAR, S. Z. 1984. Camarões de Água Doce do Litoral do Paraná. **Dissertação de Mestrado**, UFPR-PR, 147pp.
- LAVARÍAS, S.; POLLERO, R.J.; HERAS H. 2006. Activation of lipid catabolism by the water-soluble fraction of petroleum in the crustacean *Macrobrachium borellii*. **Aquatic Toxicology**, **77**: 190-196.
- LEE C. L.; FIELDER D. R. 1982. Maintenance and reproductive behaviour in the freshwater prawn *Macrobrachium australiense* Holthuis (Crustacea : Decapoda : Palaemonidae). **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, **33(4)** 629 – 646.
- MAGALHÃES V. F.; MARINHO M. M.; DOMINGOS P.; OLIVEIRA A. C.; COSTA S. M.; AZEVEDO L. O.; AZEVEDO S. M. 2003. Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). **Toxicology** **42(3)**:289-95.
- MARIAPPAN P.; BALASUNDARAM C. 2003. Sheltering behaviour of *Macrobrachium nobilii* (Henderson and Matthai, 1910). **Acta Ethological**, **5**:89–94.

- MARINÓ-BALSA, J. C.; POZA, E.; VÁZQUEZ, E.; BEIRAS, R. Comparative Toxicity of Dissolved Metals to Early Larval Stages of *Palaemon serratus*, *Maja squinado*, and *Homarus gammarus* (Crustacea:Decapoda). 2000. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** **39**: 345-351.
- MARTÍN-DÍAZ, L.; LINCOLN, A. V.; BAMBER, S.; BLASCO, J.; ÁNGELDELVALLS, T. 2005. An integrated approach using bioaccumulation and biomarker measurements in female shore crab, *Carcinus maenas*. **Chemosphere**, **58(5)**: 615-626.
- MARTINS, L. C. 2004. Efeito do detergente doméstico na reprodução e no desenvolvimento de camarões da espécie *Macrobrachium olfersi* (Wiegman, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). **Trabalho de Conclusão de Curso**. UFSC, SC.
- MARTINS, L. C.; AMMAR, D.; NAZARI, E. M.; MULLER, Y. M. R. In: XIII Congresso Brasileiro da Sociedade de Biologia Celular, 2006a. Búzios – RJ. **Effects of domestic detergent in the cerebral ganglia structure of freshwater prawn *Macrobrachium olfersi* (Crustacea, Decapoda)**. Cd de resumos.
- MARTINS, L. C.; ALVES, K. T.; NAZARI, E. M.; MULLER, Y. M. R. In: XXVI Congresso Brasileiro de Zoologia, 2006b. Londrina – PR. **Efeito do detergente no comportamento agonístico do camarão *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae)**. Cd de resumos.
- MARTINS L. C.; DA ROSA R. D.; RIVERO L. D.; NAZARI E. M.; MÜLLER Y. M. R. 2006. Ação de Detergente Doméstico na Biologia Reprodutiva do Camarão de Água Doce *Macrobrachium olfersi*. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, **1(1)**: 79-82.
- MERCIER, A. J.; ORCHARD, I.; TEBRUGGE, V.; SKERRETT, M. 1993. The isolation of two FMRFamide-related peptides from crayfish pericardial organs. **Peptides** **14**: 137–143.
- MÜLLER, Y.M.R., NAZARI, E.M., AMMAR, D. 1999. Biologia dos Palaemonidae (Crustacea, Decapoda) da bacia hidrográfica de Ratonés,

- Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** **16(3)**:629-636.
- MÜLLER, Y.M.R.; E.M. NAZARI & M.S. SIMÕES-COSTA. 2003. Embryonic stages of the freshwater prawn *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae). **Journal of Crustacean Biology**, **23**:869-875.
- MÜLLER, Y.M.R.; E.M. NAZARI & AMMAR, D. 2004. Embryonic development of four species of palaemonid prawns (Crustacea, Decapoda): pre-naupliar, naupliar and post-naupliar periods. **Revista Brasileira de Zoologia**. **21(1)**:27-32.
- NAZARI, E.M.; SIMÕES-COSTA, M.S.; MÜLLER, Y.M.R.; AMMAR, D. ; DIAS, M. 2003. Comparisons of fecundity, egg size, and egg mass volume of the freshwater prawns *Macrobrachium potiuna* and *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae). **Journal of Crustacean Biology**, **23**:862-868.
- PANKSEPP, J.; HUBER, R. 2004. Ethological analyses of crayfish behavior: a new invertebrate system for measuring the rewarding properties of psychostimulants. **Behavioural Brain Research**, **153**: 171-180.
- PFLÜGER, H. J. 1999. Neuromodulation during motor development and behavior. **Current Opinion in Neurobiology**, **9**: 683-689.
- RAYBURN, J. R. & FISCHER, W. S., 1997, Developmental toxicity of three carrier solvents using embryos of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. **Arch. Environment Contamination and Toxicology**, **33**: 217-221.
- RINDERHAGEN, M.; RITTERHOFF, J. and ZAUKE. Crustaceans as Bioindicators. Biomonitoring of Polluted Water - Reviews and Actual Topics (A. Gerhardt, ed.), **Trans Tech Publications** – Seitech Publications, Environmental Research Forum, 2000. v. 9, p. 161-194.
- RUDOLPH, P. H.; SPAZIANI, E. 1990. Distribution of serotonergic neurons in the eyestalk and brain of the crab, *Cancer antennarius*. **Comparative**

Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 97(2):241-245.

- SANDEMAN, D. C.; SCHOLTZ, G., SANDEMAN, R. E. 1993. Brain Evolution in Decapod Crustacea. **Journal of Experimental Zoology**, 265: 112-133.
- SANDEMAN, D.; SCHOLTZ, G. 1995. Ground plans, evolutionary changes, and homologies in decapod crustacean brains. **The Nervous Systems of Invertebrates: An Evolutionary and Comparative Approach**. 329-347.
- SAVAGE, A.; ATEMA, J. 2003. Neurochemical Modulation of Behavioral Response to Chemical Stimuli in *Homarus americanus*. **Biology Bulletin**, 205: 222-223.
- SKERRETT, M., PEAIRE, A., QUIGLEY, P., AND MERCIER, A. J. 1995. Physiological effects of two FMRFamide-related peptides from the crayfish, *Procambarus clarkia*. **Journal of Experimental Biology** 198: 109–116.
- SOUZA, T. M.; MARTINS, L. C.; NAZARI, E. M.; MÜLLER, Y. M. R. In: XIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2003, Florianópolis, SC. **Ação de detergentes na reprodução e desenvolvimento embrionário de Macrobrachium olfersi (Decapoda, Crustacea) coletados na Lagoa do Peri**, Caderno de Resumos.
- TIERNEY, A. J.; GREENLAW, M. A.; DAMS, K.; AIG, S.D.; PERNA, A. M. 2004. Behavioral effects of serotonin and serotonin agonists in two crayfish species, *Procambarus clarkii* and *Ornectes rusticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A 139: 495-502.
- UTTING, M.; AGRICOLA, H.-J.; SANDEMAN, R.; SANDEMAN D. 2000. Central complex in the brain of crayfish and its possible homology with that of insects. **The Journal of Comparative Neurology**, 416(2): 245-261.
- VINAGRE, A. S.; RIBARCKI, F. P.; AMARAL, A. P. N.; CHITTÓ, A. L. F.; NORO, C. K.; BUCKUP, L.; SILVA, R. S. M. 2004. Efeito de Monoaminas sobre a contração muscular em crustáceos decápodes. **Acta Scientiae**, 6: 19-27.

- SNEDDON, L. U.; TAYLOR, A. C.; HUNTINGFORD, F. A.; WATSON, D. G. 2000 Agonistic behaviour and biogenic amines in shore crabs *Carcinus maenas*. **The journal of Experimental Biology**, **203**: 537-545.
- WITHERS, M. D.; KENNEDY, M. B.; MARDER, E.; GRIFFITH, L. C. 1998. Characterization of Calcium/Calmodulin - Dependent Protein Kinase II Activity in the Nervous System of the Lobster, *Panulirus interruptus*. **Invertebrate Neuroscience**, **3**:335-345.
- WU, J. P.; CHEN, H. C. 2005. Metallothionein induction and heavy metal accumulation in white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to cadmium and zinc. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, **140 (3-4)**: 383-394.
- YEH, S.; MUSOLF, B. E.; EDWARDS, D. H. 1997. Neuronal adaptations to changes in social dominance status of crayfish. **Journal of Neuroscience**, **17**: 697-708.

Anexos

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)