



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO  
PROGRAMA DE CIÊNCIAS NATURAIS  
LICENCIATURA INTEGRADA EM BIOLOGIA E QUÍMICA**

**CÁSSIA ALBUQUERQUE DE MELO SILVA**

**DIFERENÇAS MORFOLÓGICAS E MOLECULARES DE  
*Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)  
DISTRIBUÍDOS AO LONGO DA BACIA DO RIO  
AMAZONAS, BRASIL**

**Santarém – Pará  
Outubro de 2018**

**CÁSSIA ALBUQUERQUE DE MELO SILVA**

**DIFERENÇAS MORFOLÓGICAS E MOLECULARES DE**  
*Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)  
**DISTRIBUÍDOS AO LONGO DA BACIA DO RIO**  
**AMAZONAS, BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Licenciatura Integrada em Biologia e Química da Universidade Federal do Oeste do Pará, para a obtenção do grau de Licenciada em Biologia.  
Orientador: Prof. Dr. Gabriel Iketani Coelho

**Santarém – Pará**  
**Outubro de 2018**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação  
(CIP) Sistema Integrado Bibliotecas – SIBI/UFOPA**

---

S586d Silva, Cássia Albuquerque de Melo  
Diferenças morfológicas e moleculares de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) distribuídos ao longo da Bacia do Rio Amazonas, Brasil. / Cássia Albuquerque de Melo Silva. – Santarém, 2018. 30fl.il; .

Orientador: Gabriel Iketani Coelho  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Instituto de Ciências da Educação. Curso de Licenciatura em Biologia.

1. Crustáceos decápodes. 2. *Macrobrachim Amazonicum*. 3. Caracterização morfológica. 4. Análises moleculares. I. Coelho, Gabriel Iketani., *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 574

---

Bibliotecário - Documentalista: Selma M. Souza Duarte – CRB/2 1096

**CÁSSIA ALBUQUERQUE DE MELO SILVA**

**DIFERENÇAS MORFOLÓGICAS E MOLECULARES DE**  
*Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)  
**DISTRIBUÍDOS AO LONGO DA BACIA DO RIO**  
**AMAZONAS, BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Colegiado do Curso de  
Licenciatura Integrada em Biologia e  
Química da Universidade Federal do Oeste  
do Pará, para a obtenção do grau de  
Licenciada em Biologia.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Iketani Coelho

Conceito:

Data de Aprovação \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Prof. Dr. Gabriel Iketani Coelho – Presidente/Orientador  
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA

---

Prof. Dr. Alfredo Pedroso dos Santos Junior - 1º examinador  
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA

---

Profa. Dra. Síría Lisandra de Barcelos Ribeiro - 2º examinador  
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA

Dedico este trabalho a todos que contribuíram para a sua realização. Em especial a minha mãe, irmãs e sobrinhos por serem minha base e por todo apoio e incentivo durante todo o tempo.

## Agradecimentos

Primeiramente a Deus pela dádiva da vida e por sempre estar comigo em todas as situações sendo a minha força diária.

Ao meu orientador Dr. Gabriel Iketani por todo o apoio e confiança ao longo de todos esses anos e por acreditar em minha capacidade quando eu mesma não a possuía.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Alfredo Pedroso dos Santos Junior e Profa. Dra. Síria Lisandra de Barcelos Ribeiro pelas contribuições e sugestões para melhoria deste trabalho.

As minhas irmãs Danielle, Daiane e Vivian por estarem sempre torcendo e querendo o meu melhor.

A minha amada mãe Celina que me colocou nesse mundo e desde sempre me mostra o quanto as mulheres são fortes e merecedoras de todas as suas conquistas. Com certeza é a pessoa que eu mais amo nesse mundo.

Ao meu esposo Marcos Sean por todo o companheirismo e compreensão em todas as ausências.

Aos meus amigos Relyane Pauper, Antonio Neto e Daniela Oliveira por dividirem comigo todas as alegrias e anseios da graduação. Amigos que guardo com muito carinho no coração.

Aos meus amigos do laboratório LGBIO e agora LEDEVO por todos esses anos de convivência, desejo o melhor para todos.

Aos meus colegas da turma de licenciatura integrada em Biologia e Química 2013 por compartilharem comigo todos esses anos de experiências maravilhas, choros e alegrias. Grata por conhecer cada um.

A todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação. Muito obrigada!

“Rafiki bate em Simba...

Simba: Ai! Ei, que história é essa?

Rafiki: Não interessa! Está no passado!

Simba: É, mas ainda dói.

Rafiki: Ah sim, o passado pode doer. Mas do jeito que eu vejo você pode fugir dele, ou... aprender com ele”.

(Rei leão)

## RESUMO

Os camarões são artrópodes pertencentes ao subfilo Crustacea, ordem Decapoda. O gênero *Macrobrachium*, possui aproximadamente 243 espécies descritas, 18 ocorrendo no Brasil. A espécie *Macrobrachium amazonicum* é um camarão natural da América do Sul que possui ampla distribuição geográfica. Apresenta grande variabilidade morfológica, principalmente entre populações geograficamente afastadas. Este trabalho teve como objetivo caracterizar morfológica e geneticamente populações de *M. amazonicum* distribuídas ao longo da bacia do Rio Amazonas, estado do Pará, Brasil, através do peso, comprimento da carapaça (CC) e comprimento total. Adicionalmente, duas populações de ambientes continental e costeiro foram testadas quanto a utilização do marcador molecular do íntron 2 do gene nuclear do hormônio hiperglicemiante (CHH), a variabilidade deste marcador pode ter associação com as características morfométricas analisadas. A amostra analisada apresentou comprimento máximo de 126,07mm para espécimes do município de Almeirim, estado do Pará, Brasil (400 km da costa). Apesar de haver diferenças estatisticamente significativas entre as populações analisadas quanto ao CT, CC e peso, não foi possível separá-las com clareza entre continentais e costeiras. Este trabalho é uma contribuição à biologia de *M. amazonicum* em ambiente natural, sendo necessária a continuação de análises moleculares e morfológicas para maior entendimento da biologia da espécie.

Palavras chave: Crustáceos decápodes. *Macrobrachium amazonicum*. Caracterização morfológica. Análises moleculares.

## **ABSTRACT**

The prawns are arthropods belonging to the subphylum Crustacea, Decapoda order. The genus *Macrobrachium*, has approximately 243 described species, 18 occurring in Brazil. *Macrobrachium amazonicum* is a natural prawn from South America that has a wide geographic distribution. It presents great morphological variability, mainly among geographically distant populations. This work aimed to characterize morphologically and genetically *M. amazonicum* populations distributed along the Amazon River basin, state of Pará, Brazil, by weight, carapace length (CC) and total length. In addition, two continental and coastal pollutions were tested for the use of the molecular marker of intron 2 of the hyperglycemic hormone (CHH), the variability of this marker may be associated with the morphometric characteristics analyzed. The analyzed sample had a maximum length of 126.07 mm for specimens from the municipality of Almeirim, state of Pará, Brazil (400 km from the coast). Although there were statistically significant differences between the populations analyzed for TC, CC and weight, it was not possible to separate them clearly between continental and coastal. This work is a contribution to the biology of *M. amazonicum* in a natural environment, being necessary the continuation of molecular and morphological analyzes for a better understanding of the biology of the species.

Key words: Crustaceans decapods. *Macrobrachium amazonicum*. Morphological characterization. Molecular analyzes.

## Lista de ilustrações

- Figura 1:** Pontos de coleta de *Macrobrachium amazonicum* do presente estudo. ....16
- Figura 2:** Desenho esquemático da característica de diferenciação sexual no segundo par de pleópodos de machos e fêmeas de *Macrobrachium*. Fonte: Valenti (1996). ....17
- Figura 3:** Dados morfométricos analisados em *Macrobrachium Amazonicum*. A medida do abdômen é realizada com ele reto. Fonte da foto: laboratório de aquicultura da Universidade Federal do Pará. ....18
- Figura 4:** Comprimento da carapaça dos exemplares de *Macrobrachium amazonicum* das seis localidades analisadas pelo presente trabalho. Letras diferentes correspondem às diferenças entre as médias com valor de  $P < 0,05$  através dos testes de Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn. ....21
- Figura 5:** Comprimento total dos exemplares de *Macrobrachium amazonicum* das seis localidades analisadas pelo presente trabalho. Letras diferentes correspondem às diferenças entre as médias com valor de  $P < 0,05$  através dos testes de Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn. ....21
- Figura 6:** Peso dos exemplares de *Macrobrachium amazonicum* das seis localidades analisadas pelo presente trabalho. Letras diferentes correspondem às diferenças entre as médias com valor de  $P < 0,05$  através dos testes de Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn. ....22
- Figura 7:** Cromatograma de uma sequência do íntron 2 do gene do hormônio hiperglicemiante (CHH) de *Macrobrachium amazonicum*, destaque para sequência de Timinas repetidas por volta do par de base 110. ....23

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1:</b> Pontos de coleta de <i>Macrobrachium amazonicum</i> amostrados em seis municípios do estado Pará, Brasil.....	<b>17</b>
<b>Tabela 2:</b> Medidas do comprimento da carapaça e do comprimento total de <i>Macrobrachium amazonicum</i> amostrados em seis municípios do estado Pará, Brasil, analisadas pelo presente trabalho. ....	<b>20</b>
<b>Tabela 3:</b> Medidas do peso para <i>Macrobrachium amazonicum</i> amostrados em seis municípios do estado Pará. ....	<b>22</b>

## Sumário

INTRODUÇÃO.....	12
OBJETIVOS.....	15
Geral.....	15
Específicos .....	15
METODOLOGIA .....	15
Obtenção das amostras .....	15
Análise de Dados Morfométricos .....	18
Análises Moleculares .....	18
Extração de DNA e Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	18
RESULTADOS.....	20
Análises morfométricas.....	20
Análises Moleculares .....	22
DISCUSSÃO.....	23
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	26
REFERÊNCIAS .....	27

## INTRODUÇÃO

O subfilo Crustacea constitui-se em um dos maiores grupos do filo Arthropoda com milhares de espécies identificadas. A ordem Decapoda é a que detém maior diversidade sendo que alguns de seus representantes possuem grande interesse econômico como, por exemplo, caranguejos, siris, lagostas e camarões (BARROS, 2009). Dentre os decápodes, os camarões do gênero *Macrobrachium*, Bate, 1868, possuem aproximadamente 243 espécies descritas, sendo que 18 ocorrem no Brasil (Aguiar, 2016; De Grave e Fransen, 2011). Muitas espécies apresentam grande interesse comercial, sendo explorado pela pesca artesanal principalmente nas regiões Norte e Nordeste (MACIEL e VALENTI, 2009; VERGAMINI, 2009).

Os representantes do gênero habitam uma grande diversidade de ambientes ao redor do mundo, desde regiões tropicais e subtropicais até regiões polares, colonizando de ambientes salinos a estritamente dulcícolas, como cavernas subterrâneas. Possuem, portanto, representantes marinhos e de água doce, com algumas espécies assumindo comportamento anfídromo, o qual é tido como um traço plesiomórfico de clados costeiros e estuarinos invasores de água doce (HOLTHUIS, 1952; ANGER, 2013; SILVA, 2014).

Os camarões do gênero *Macrobrachium* pertencem à família Palaemonida (Bate, 1868), possuindo comportamentos crípticos e noturnos, estando em maior atividade no final da tarde e à noite, ficando durante o dia abrigados em raízes e folhas submersas (GUERRA, 2011). As principais características morfológicas que distinguem esse gênero dos demais palaemonídeos são rostro bem desenvolvido, dentes ou denticulos presentes, mandíbulas com três palpos articulados, três artículos, dactilo dos últimos três pares de pereiópodos simples, segundo par de pereiópodos bem desenvolvido e espinho sobre a margem posterior do telso presente.

Quanto ao critério de estratégia reprodutiva, Vergamini (2009) dividiu as espécies do gênero em três grupos distintos, considerando o grau de influência marinha durante o desenvolvimento larval: (1) espécies com desenvolvimento larval completo e dependentes da influência marinha; (2) espécies com desenvolvimento larval abreviado, independentes da influência marinha e exclusivos de ambientes interiores; e (3) espécies com desenvolvimento mais

ou menos completo cuja distribuição se estende de regiões costeiras a continentais. Em *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) essas diferentes estratégias de reprodução, diferenças morfológicas e fisiológicas podem sugerir um princípio de especiação (Vergamini, 2009).

*Macrobrachium amazonicum* conhecido popularmente como camarão-da-Amazônia, possui ampla distribuição geográfica sendo encontrado em ambientes com diferentes concentrações de salinidade (SILVA, 2014). A espécie ocorre no Brasil, Venezuela, Argentina, Guiana, Suriname, Colômbia, Peru, Equador, Bolívia e Paraguai. Apresenta grande variabilidade morfológica e reprodutiva à medida que suas populações se distanciam geograficamente, (MACIEL e VALENTE, 2009; VERGAMINI, 2009).

A ampla distribuição de *M. amazonicum* pode ser um dos fatores que contribuiu para o surgimento de variações em algumas de suas características morfológicas e reprodutivas (ver Maciel e Valenti, 2009 para revisão), que permitiram separar as populações da espécie em dois grupos: continental e costeiro. Odinetz-Collart e Rabelo (1996), por exemplo, observaram que o tamanho dos ovos aumenta em função da maior distância em relação ao oceano, sugerindo uma progressiva divergência entre estes grupos. A população continental geralmente desenvolve uma estratégia reprodutiva caracterizada por um desenvolvimento larval a partir de um número reduzido de ovos de tamanho grande, que se desenvolvem totalmente na água doce (MAGALHÃES, 1985). Por outro lado, a população costeira produz ovos pequenos e numerosos, do qual o desenvolvimento larval necessita da água salobra dos estuários (GUEST, 1979).

Diferenças morfológicas também já foram evidenciadas. Porto (2004) ao analisar 19 populações de diferentes bacias hidrográficas observou que os exemplares provenientes das bacias hidrográficas dos rios Paraguai e Paraná apresentam diferenças no rostro, comprimento da carapaça, no telso e no segundo par de pereiópodos em relação às populações do Norte e Nordeste do Brasil. Também sugeriu que essas diferenças são fortes indícios que as populações dos Rios Paraguai e Paraná devem ser consideradas como uma espécie diferente da encontrada nas regiões Norte e Nordeste. Vergamini (2009) obteve resultados muito similares aos encontrados por Porto (2004) ao analisar as mesmas características: rostro, comprimento da carapaça, telso e

segundo par de pereiópodos, mas considerou as variações apenas como plasticidade fenotípica em resposta aos diferentes ambientes.

Diferenças moleculares também já foram evidenciadas usando o DNA mitocondrial. O primeiro estudo foi realizado por Bastos (2002) que usando o gene COI mostrou a ocorrência de três linhagens diferentes, duas constituídas por cada uma das populações interiores amostradas (Santarém-Pará e Goiânia-Goiás) e outra pelas várias populações costeiras do Pará. Vergamini *et al.* (2011), usando sequências de rRNA 16S e também de COI, encontraram resultados similares, isto é, separação das populações em três linhagens. Mas, nesse caso, uma linhagem com populações do interior da Amazônia; outra do interior da região hidrográfica do Paraná/Paraguai e outra formada pelas populações costeiras do Norte e Nordeste do Brasil.

O crescimento populacional de *M. amazonicum* acontece de forma heterogênea devido aos machos sexualmente maduros diferenciarem-se em quatro morfotipos, estes morfotipos representam um estágio de crescimento e sofrem influência da hierarquia social, variando de acordo com a cor e comprimento do quelípode, sendo classificados em: (1) Machos TC (*translucent claw*) (2) Machos CC (*cinnamon claw*) (3) Machos GC1 (*green claw 1*) com quelípodos longos (4) Machos GC2 (*green claw 2*) com quelípodos maiores que em GC1 (Moraes-riodades; Valenti; 2004, Maciel; Valenti, 2009; Vergamini, 2009; Silva, 2014). Existem poucos estudos que associam o crescimento dos camarões com variações genéticas. Thanh *et al.* (2010) associou significativamente alguns Polimorfismo de Base Única (SNP) com três características (peso, comprimento da carapaça e comprimento total) em fêmeas de *Macrobrachium rosenbergii*. Ainda segundo esses autores, a opção de analisar apenas fêmeas foi justificada, pois o crescimento dos machos *M. rosenbergii* é afetado pela hierarquia social imposta pelos morfotipos.

Assim, seguindo a mesma premissa, no presente trabalho somente os dados das fêmeas serão utilizados. O trabalho buscou caracterizar morfologicamente diferentes populações de *M. amazonicum* através dos caracteres (peso, comprimento da carapaça e comprimento total), buscando comparar com resultados já descritos na literatura. E através de análises moleculares fazer comparações entre populações continentais e costeiras coletados nos rios Amazonas e Tapajós.

## **OBJETIVOS**

### **Geral**

Caracterizar morfológicamente e geneticamente populações de *Macrobrachium amazonicum* ao longo da bacia hidrográfica do Amazonas, no Estado do Pará.

### **Específicos**

Avaliar a variação morfométrica entre as diferentes populações amostradas.

Verificar possíveis diferenças genéticas entre duas populações da espécie.

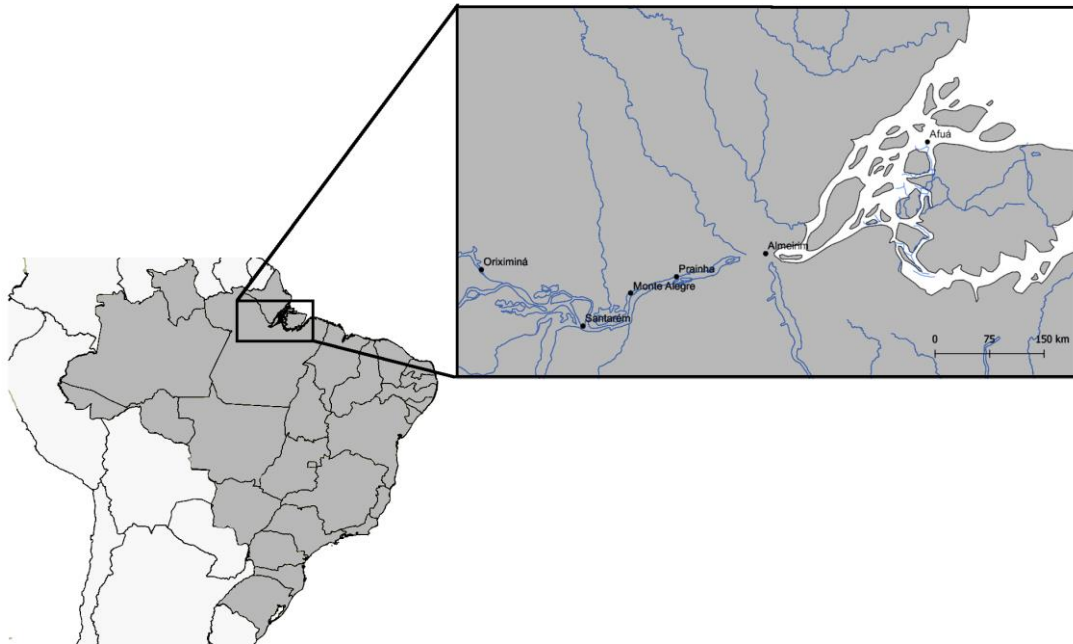
Isolar parte do intron 2 do gene nuclear do hormônio hiperglicemiante (CHH) para testar como marcador genético.

## **METODOLOGIA**

### **Obtenção das amostras**

A coleta dos exemplares de *M. amazonicum* ocorreu em seis municípios do estado Pará, Brasil: Oriximiná, Santarém, Monte Alegre, Prainha, Almeirim e Afuá (Figura 1). Os animais foram pescados e levados para o Laboratório de Genética e Biodiversidade da Universidade Federal do Oeste do Pará, unidade Rondon, campus Santarém, sendo acondicionados congelados. A identificação morfológica foi realizada com chaves taxonômicas propostas por Holthuis (1952) e Melo (2003). Após a confirmação taxonômica os animais de cada localidade passaram por uma seleção aleatória sendo submetidos às análises morfométricas.

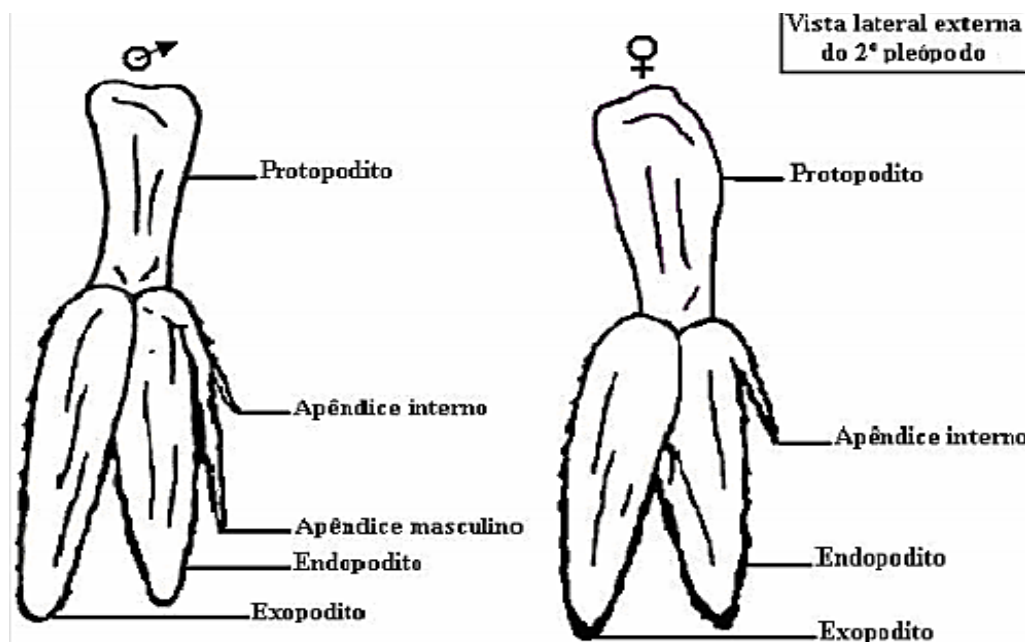
**Figura 1:** Pontos de coleta de *Macrobrachium amazonicum* do presente estudo.



### **Análises morfométricas**

Analizamos 265 espécimes fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* de seis municípios do estado do Pará, Brasil (Tabela 1). A determinação sexual dos animais foi realizada através da análise de presença (machos) ou ausência (fêmeas) do apêndice sexual masculino no segundo par de pleópodos (Figura 2). A presença de ovos também foi utilizada para a determinação imediata de fêmeas. Uma lupa (aumento final de 40x) foi utilizada para facilitar a identificação.

**Figura 2:** Desenho esquemático da característica de diferenciação sexual no segundo par de pleópodos de machos e fêmeas de *Macrobrachium*. Fonte: Valenti (1996).

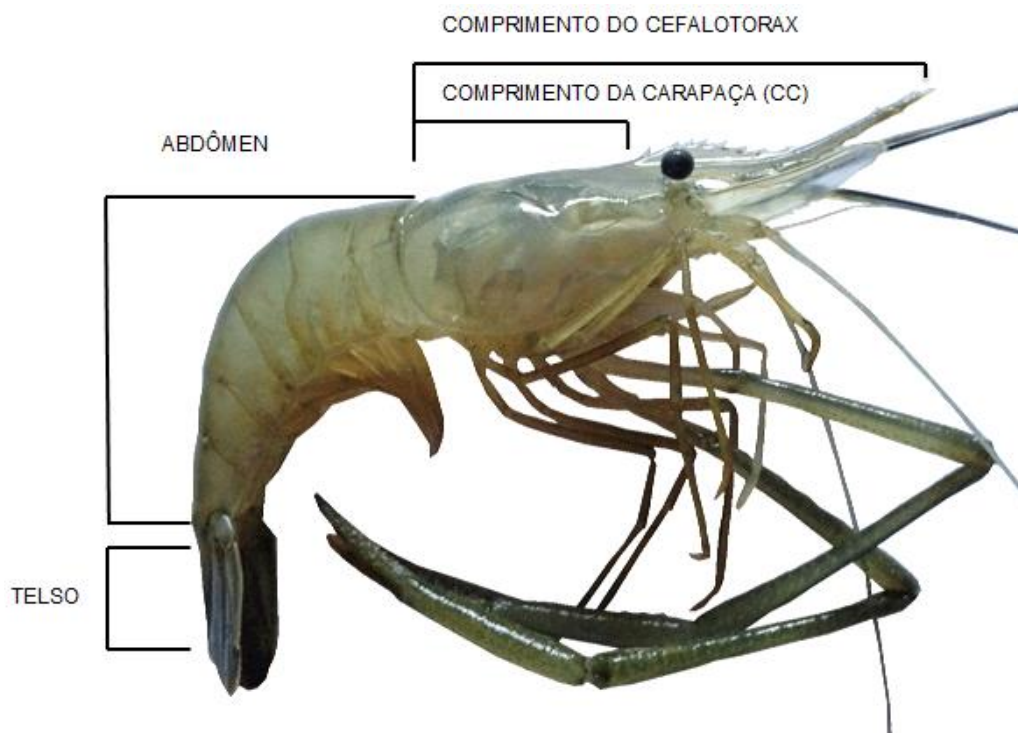


Posteriormente, os camarões foram pesados com auxílio de balança digital e medidos com o auxílio de paquímetro digital de precisão (0,01mm). Foram analisadas as seguintes variáveis morfométricas: (01) o comprimento da carapaça (CC), que é a distância da parte posterior da orbita até a extremidade posterior da carapaça; (02) comprimento do cefalotórax, que é a medida da extremidade posterior da carapaça até a porção anterior do rostro; (03) comprimento do abdômen, a medida do abdômen é realizada com ele reto; e (04) comprimento do telso. A soma das medidas 02, 03 e 04 fornece o comprimento total do animal (CT) (Figura 3).

**Tabela 1:** Pontos de coleta de *Macrobrachium amazonicum* amostrados em seis municípios do estado Pará, Brasil.

Local	Coordenadas		Número de espécimes analisados
Oriximiná	01°43'8,32"S	55°54'17,48"O	27
Santarém	02°24'56,47"S	54°38'51,99"O	90
Monte Alegre	02° 00'28,28"S	54° 3'32,58"O	39
Prainha	01° 48'25,9"S	53° 29'27,4"O	44
Almeirim	01° 31'16,77"S	52° 34'55,29"O	56
Afuá	00° 08'36,29"S	50°23'12,15"O	9

**Figura 3:** Dados morfométricos analisados em *Macrobrachium Amazonicum*. A medida do abdômen é realizada com ele reto. Fonte da foto: laboratório de aquicultura da Universidade Federal do Pará.



### **Análise de Dados Morfométricos**

Foi realizada a estatística descritiva para o conjunto de dados de cada variável (média, desvio padrão, valores máximo e mínimo). Posteriormente foi avaliada a significância das diferenças entre as médias das variáveis. Inicialmente aplicaram-se os testes de normalidade (Kolmogorov – Smirnov), para verificar a normalidade e homocedasticidade dos caracteres e das razões dentro das populações. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado, devido à presença de desvio da normalidade de todas as variáveis. A estatística descritiva foi analisada com o auxílio do software Bioestat 5.0 (2010) e os gráficos no programa R.

### **Análises Moleculares**

#### **Extração de DNA e Reação em cadeia da polimerase (PCR)**

Após a morfometria, foram selecionadas as cinco maiores e cinco menores fêmeas de duas localidades (Santarém e Almeirim) para a extração de DNA a partir do tecido muscular abdominal. Para isso foi utilizado o

protocolo de extração com Acetado de Amônio segundo Bruford *et al.* (1998). A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada com os primers CHH2in-F (5'- ACCAGTCCTGCAAAGGTATC-3') e CHH2in-R (5'- CCACGCAATGACCAAAGTC-3') que isola parte do intron 2 do gene nuclear do hormônio hiperglicemiante (CHH), conforme protocolo utilizado por Thanh *et al.* (2010) em *Macrobrachium rosenbergii*.

As PCRs foram realizadas com volume final de 25µL nas seguintes concentrações finais de reagentes: dNTPs – 0,2mM, MgCl<sub>2</sub> – 2mM, Primers – 0,1µM, Taq (InvitrogenCorp.) – 0,5 unidade, DNA 50 – 100ng e água ultrapura para completar o volume final. O programa utilizado foi desnaturação inicial a 94°C por 180 segundos (s), seguido de 35 ciclos de 94°C (30 s), 52°C (30 s) e 72°C (45 s), concluindo com extensão final a 72°C por 300 s.

Os resultados das extrações de DNA e das amplificações da PCR foram serão avaliados através de eletroforese em gel de agarose 1% com as amostras coradas com GelRed (Biotium). O sequenciamento foi realizado no sequenciador automático ABI 3500 (Applied Biosystems), usando o kit Big Dye 3.1 (Applied Biosystems) seguindo as instruções do fabricante. As reações de sequenciamento foram realizadas em ambas as direções através dos mesmos iniciadores utilizados nas reações de PCR.

A prospecção de SNPs foi realizada no programa CodonCode Aligner v7.0.1 (CodonCode Corporation) através da inspeção visual de picos sobrepostos em uma mesma posição do eletroferograma, cuja presença e interpretada como um polimorfismo de um indivíduo heterozigoto. As bases que contenham picos sobrepostos seriam codificadas com código de degeneração de bases (IUPAC). Identificaremos os SNPs e o seu posicionamento conforme a sequência descrita para o gene por Thanh *et al.* (2010) padronizando a nomenclatura destes SNPs de acordo com as bases nucleotídicas envolvidas na substituição e a posição de ocorrência do SNP. Sendo assim, por exemplo, um SNP constituído pela troca de uma adenina por uma guanina na posição 295 da sequência foi nomeado como A295G.

## RESULTADOS

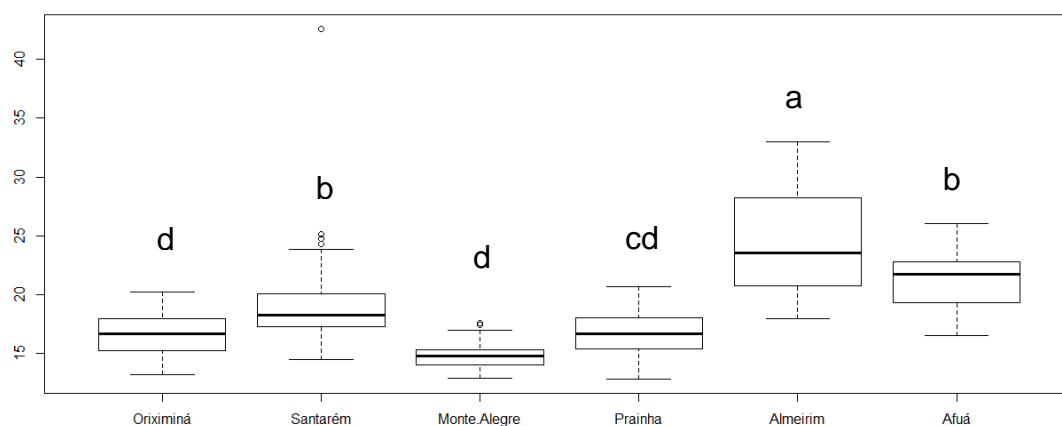
### Análises morfométricas

Para este trabalho foram analisadas 265 fêmeas e através dos dados estatísticos foi verificada a ocorrência de variação significativa comparando o comprimento total (CT) (que variou de 48,9 – 126,1 mm), o comprimento da carapaça (12,8 – 42,6 mm) e o peso (1 – 11,4 mg) dos espécimes coletados (Tabela 2 a 4; Figuras 4 a 6). A média dos maiores indivíduos foi registrada em Almeirim e os menores em Monte Alegre.

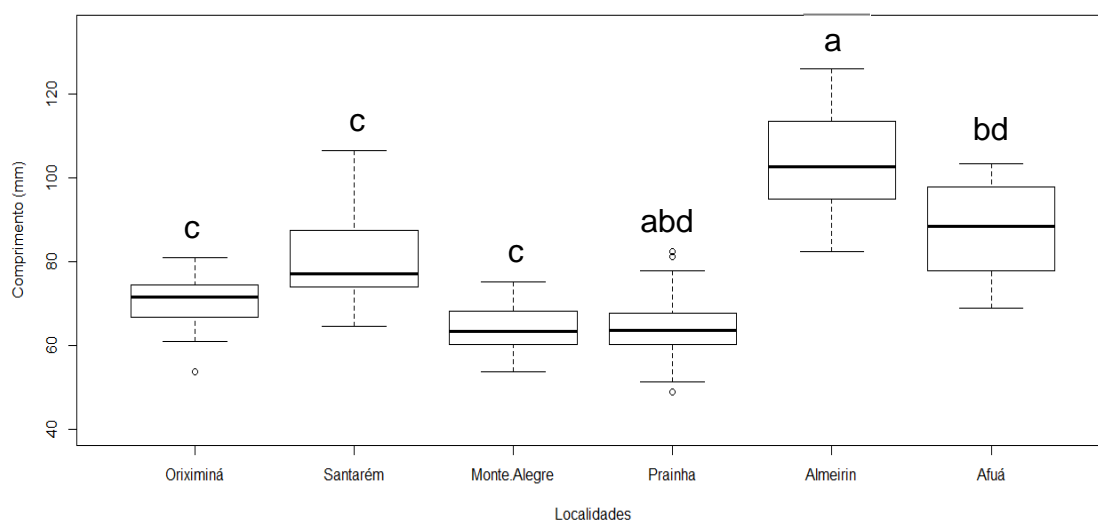
**Tabela 2:** Medidas do comprimento da carapaça e do comprimento total de *Macrobrachium amazonicum* amostrados em seis municípios do estado Pará, Brasil, analisadas pelo presente trabalho.

Fêmeas Locais	Carapaça (mm)				Comprimento Total (mm)			
	Média	d.p	Mín.	Máx.	Média	d.p	Mín.	Máx.
<b>Oriximiná (n =27)</b>	16,6737	1,7393	13,23	20,23	70,2011	6,2752	53,76	81,01
<b>Santarém (n = 90)</b>	19,0313	3,4272	14,48	42,59	80,5091	10,3314	64,49	106,63
<b>Monte alegre (n = 39)</b>	14,8697	1,1315	12,91	17,6	64,1467	5,3926	53,79	75,25
<b>Prainha (n = 44)</b>	16,74	1,8697	12,85	20,7	64,4811	7,6293	48,89	82,48
<b>Almeirim (n = 59)</b>	24,5036	4,543	18	33,01	103,6482	12,008	82,44	126,07
<b>Afuá (n = 9)</b>	21,48	3,02	16,51	26,02	87,2356	12,4501	69	103,45

**Figura 4:** Comprimento da carapaça dos exemplares de *Macrobrachium amazonicum* das seis localidades analisadas pelo presente trabalho. Letras diferentes correspondem às diferenças entre as médias com valor de  $P < 0,05$  através dos testes de Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn.



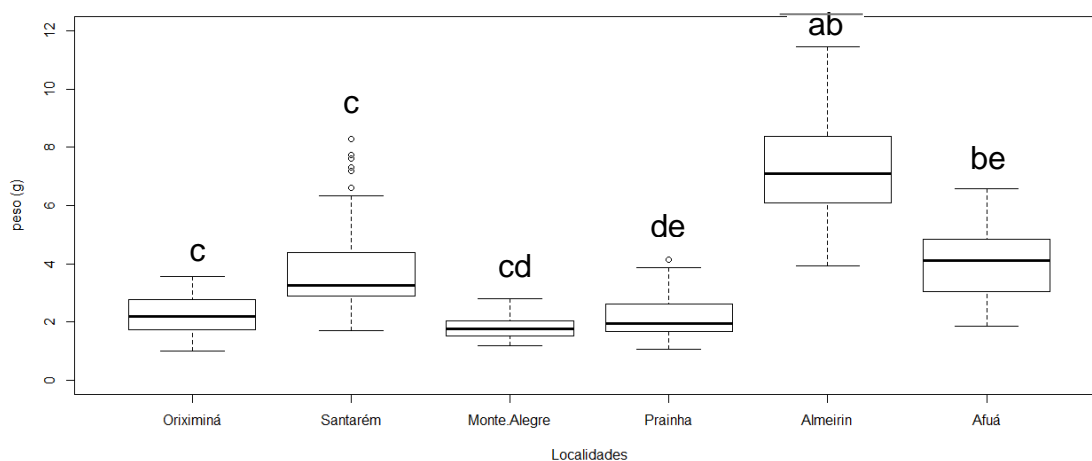
**Figura 5:** Comprimento total dos exemplares de *Macrobrachium amazonicum* das seis localidades analisadas pelo presente trabalho. Letras diferentes correspondem às diferenças entre as médias com valor de  $P < 0,05$  através dos testes de Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn.



**Tabela 3:** Medidas do peso para *Macrobrachium amazonicum* amostrados em seis municípios do estado Pará.

Fêmeas	Peso (mg)				
	Locais	Média	d.p	Mín.	Máx.
<b>Oriximiná (n =27)</b>		2,237	0,6604	1	3,56
<b>Santarém (n = 90)</b>		3,778	1,4955	1,69	8,27
<b>Monte alegre (n = 39)</b>		1,8192	0,3831	1,19	2,8
<b>Prainha (n = 44)</b>		2,1511	0,7385	1,05	4,14
<b>Almeirim (n = 56)</b>		7,1991	1,8203	3,91	11,44
<b>Afuá (n = 9)</b>		4,0956	1,4843	1,85	6,59

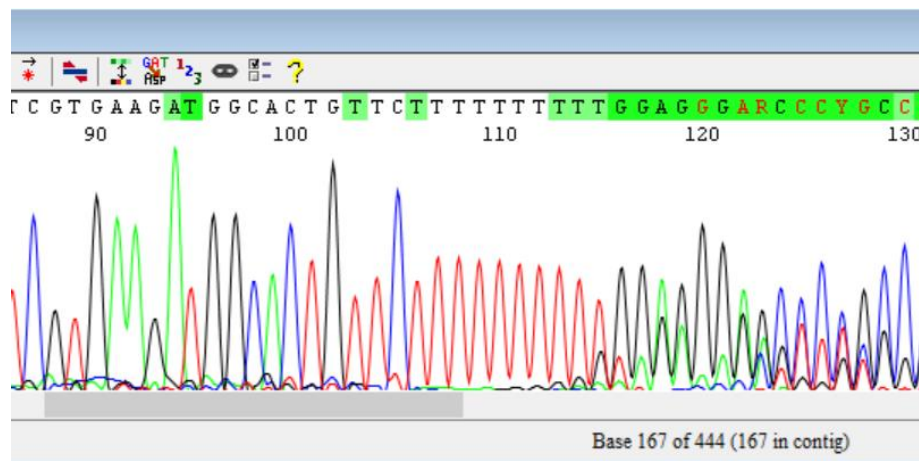
**Figura 6:** Peso dos exemplares de *Macrobrachium amazonicum* das seis localidades analisadas pelo presente trabalho. Letras diferentes correspondem às diferenças entre as médias com valor de  $P < 0,05$  através dos testes de Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn.



## Análises Moleculares

O DNA foi extraído de 20 amostras, 10 de cada localidade (Santarém e Almeirim), considerando os cinco maiores e os cinco menores indivíduos. Deste total, foi possível obter sequência de apenas 10 amostras. As sequências apresentaram um comprimento de pouco mais de 430 pares de base. Entretanto, por volta do par de base 110, uma sequência repetida de Timinas inviabilizou a continuidade da leitura da sequência de forma confiável (Figura 7). Assim, não foi possível realizar qualquer análise destes dados.

**Figura 7:** Cromatograma de uma sequência do íntron 2 do gene do hormônio hiperglicemiante (CHH) de *Macrobrachium amazonicum*, destaque para sequência de Timinas repetidas por volta do par de base 110.



## DISCUSSÃO

A vasta distribuição de *Macrobrachium amazonicum* na América do Sul e consequentemente a variedade de ambientes ecológicos influenciam fortemente as condições de crescimento e desenvolvimento da espécie. Na Amazônia essas variações são mais acentuadas e o estado do Pará encontra-se rodeado por vários ecossistemas de água doce, tendo o seu território recortado por vários rios como o Amazonas e seus afluentes Tapajós, Xingu e Tocantins. Além, de regiões estuarinas mais próximas a foz. Assim, essas características especiais de variação ecológica da região podem explicar o fato de termos encontrado diferenças significativas de CT, CC e peso entre diferentes populações e de um local para outro. Estudos realizados por Maciel e Vantenti (2009) apontam que *M. amazonicum* apresenta alta plasticidade fenotípica decorrente da variação ambiental no local que estão localizados, outros fatores também participam como competições intraespecíficas e interespecíficas, além de sobrepesca já que o espécime é bastante apreciado pela gastronomia local.

Pereira (2015) fazendo análises de dados morfométricos (CT e peso) agrupou as populações em continentais (Manacapuru, Juruti, Monte Alegre e Prainha) e costeiras (Almeirim, Gurupá e Mosqueiro). Obtendo sequências de DNA das mesmas populações, a amostragem de Prainha agrupou com o grupo costeiro. A separação entre esses dois grupos populacionais não foi tão

evidente no presente trabalho. Para CT e peso, a população de Prainha fica mais próxima de populações costeiras; já considerando o comprimento da carapaça, essa população foi próxima das continentais (ver figuras 4 a 6). Uma possível explicação para tal diferença pode ser os períodos de coleta de Pereira (2015) e o presente estudo que foram em períodos diferentes. Em outras palavras, ao longo do ano o tamanho dos camarões pode variar com o presente estudo e o de Pereira (2015), retratando momentos diferentes desta variação. Portanto, é necessário repetir tais análises considerando uma escala temporal.

Odinetz-Collart (1993) observou que os camarões quando capturados em águas correntes de rios apresentam comprimentos maiores do que os coletados em águas mais calmas como lagos e igarapés, provavelmente devido ao maior fluxo de nutrientes disponíveis. Assim, isto pode explicar a ocorrência de animais maiores do que o esperado nos lotes de Santarém e Oriximiná, pois estes foram pescados em águas mais agitadas do Rio Tapajós e Rio Trombetas, respectivamente. Outra hipótese que justificaria essa diferença seria o período sazonal de coleta diferenciado em ambos os trabalhos. Essas diferenças no período de coleta podem indicar que as populações de *M. amazonicum* apresentam flutuações de crescimento durante o ano sendo essas variações de crescimento apresentadas em ambos os trabalhos.

Os camarões-da-Amazônia registrados no baixo Amazonas nos estados do Pará e Amapá e na Venezuela são caracterizados por atingirem comprimento total relativamente grande (10-16 cm) (Holthuis 1952; Pereira, 1996; López, 1999), com alta fecundidade (Maciel e Valenti, 2009) e menor tamanho dos ovos (Odinetz-Collart e Rabelo, 1996), dependendo ainda de água salobra para completar o seu ciclo larval (Guest, 1979). As populações continentais do alto Amazonas e bacias hidrográficas da Colômbia, apresentam portes menores, com o comprimento total cerca de 5 cm, baixa fecundidade, menor tamanho dos ovos e metamorfose completa em água doce (Magalhães, 1985).

Freire *et al* (2012) analisando a espécie *M. amazonicum* em dois pontos de um estuário encontrou em um deles a amplitude 5,0 a 32,5 mm de CC e no outro 9,3 a 27,0 mm de CC para fêmeas. Silva (2014) fazendo coletas da mesma espécie na Represa de Miranda em Minas Gerais encontrou amplitude

de 3,0 a 10,6 mm de CC. Podemos observar que nestes dois trabalhos a variação de amplitude da CC foi bastante significativa em decorrência das diferenças ecológicas onde os animais estavam localizados. Nas nossas coletas quando analisados os seis pontos ao longo dos rios Amazonas e Tapajós a amplitude mínima e máxima de CC encontradas foram de 12,85 a 42,49 mm. De acordo com Silva (2011) os elevados comprimentos e pesos dos indivíduos observados se devem às condições do local de coleta. Como nossos pontos de coleta são influenciados pelos fatores ambientais já descritos, isso explique essa variação encontrada.

Foi observada uma amplitude na variação de comprimento e peso dos animais, onde visivelmente os maiores animais foram registrados em Almeirim (cerca de 400 km da costa) (ver figuras 4, 5 e 6). Ainda que este padrão esteja bem definido, foram encontrados animais de pequeno porte em todas as populações. Diferenças no porte dos indivíduos em relação às populações costeiras e continentais já haviam sido identificadas anteriormente, corroborando os dados obtidos no presente estudo.

Infelizmente, pouco pode ser discutido a respeito dos dados moleculares, já que as sequências apresentaram uma região repetida de Timinas por volta do par de bases 110 que inviabilizaram o sequenciamento. Sequências desse tipo, frequentemente, levam ao “deslizamento” da enzima polimerase responsável no decorrer dos 35 ciclos (separa das fitas, anelamento do *primer* e extensão) da reação (Nucleics, 2018). Assim, ao longo dos ciclos são gerados produtos amplificados com ligeiras diferenças de tamanho (algumas bases a mais ou a menos), que ao serem submetidas ao sequenciador causam uma sobreposição de base após a repetição. O esperado para essa análise era encontrar SNP que caracterizassem os indivíduos e as populações de maior porte como já encontrado por Thanh *et al.* (2010) para *M. rosenbergii*. Assim, é necessário a avaliação de outras *primers* para gene do hormônio hiperglicemiante (CHH) ou outros genes como o gene constitutivo da proteína do choque térmico (HSC70) (Blanck *et al.*, 2013) desenvolvido especificamente para *M. amazonicum*.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O camarão-da-Amazônia é considerado uma espécie que apresenta grande potencial para a aquicultura, tornando-se tema de diversos estudos, culminando em tecnologias de cultivo nas fases larval e de engorda que já estão praticamente controladas. Ainda assim, o crescimento heterogêneo das populações é um fator que precisa ser melhor explicado para melhorar essas peculiaridades zootécnicas. Desta forma a continuidade das análises moleculares testando outros marcadores (primes) para gene do hormônio hiperglicemiante (CHH) ou para outros genes como o gene constitutivo da proteína do choque térmico (HSC70) são necessárias, assim como das análises morfológicas para maior entendimento da espécie.

As colaborações que este estudo apresenta estão na identificação de populações que apresentam maior porte para o cultivo ao longo dos rios Amazonas e Tapajós e conseqüentemente a possibilidade da escolha de reprodutores para o cultivo em cativeiro.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, Fernanda Pinotti. Dinâmica populacional e hábitos alimentares em *Macrobrachium* sob influência de barragem / Fernanda Pinotti Aguiar. – Lavras: UFLA, 2016. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/handle/1/1100>. Acesso em 21 de setembro de 2018.

ANGER, Klaus. Neotropical *Macrobrachium* (Caridea: Palaemonidae): on the biology, origin, and radiation of freshwater-invading shrimp. **Journal of Crustacean Biology**, v. 33, n. 2, p. 151-183, 2013.

BARROS, Samara de Paiva. **Biodiversidade de caranguejos braquiúros (Crustacea, Decapoda) associada a banco de alga *Sargassum cymosum* (C. Agardh, 1820) na região de Ubatuba, Litoral Norte Paulista**. 2009. Tese de Doutorado. Dissertação de mestrado. Instituto Basico de Biociencias. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/258128833\\_biodiversidade\\_de\\_caranguejos\\_braquiuros\\_crustacea\\_decapoda\\_associada\\_a\\_bancos\\_da\\_alga\\_sargassum\\_cymosum\\_c\\_agardh\\_1820\\_na\\_regiao\\_de\\_ubatuba\\_litoral\\_norte\\_paulist](https://www.researchgate.net/publication/258128833_biodiversidade_de_caranguejos_braquiuros_crustacea_decapoda_associada_a_bancos_da_alga_sargassum_cymosum_c_agardh_1820_na_regiao_de_ubatuba_litoral_norte_paulist). Acesso em 21 de setembro de 2018.

BASTOS, S. N. **Caracterização molecular e biologia reprodutiva de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae)**. 2002. Tese de Doutorado. Master Thesis, Universidade Federal do Pará, Bragança, Pará, Brazil.

BLANCK *et al.* (2013). Mononucleotide Slippage on A/t Runs. Disponível em: [https://www.nucleics.com/DNA\\_sequencing\\_support/DNA-sequencing-AT-slippage.html](https://www.nucleics.com/DNA_sequencing_support/DNA-sequencing-AT-slippage.html).

BURKE, T. A. et al. Multilocus and single-locus DNA fingerprinting. 1998.

DE GRAVE, Sammy; FRANSEN, C. H. J. M. Carideorum catalogus: the recent species of the dendrobranchiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda). **Zoologische Mededelingen**, n. 9, 2011.

FREIRE, Julliany Lemos; MARQUES, Cleide Barbosa; SILVA, Bianca Bentes. Estrutura populacional e biologia reprodutiva do camarão-da-amazônia *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)(Decapoda: Palaemonidae) em um estuário da região nordeste do Pará, Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 16, n. 2, p. 65-76, 2012.

GUERRA, Ana Letícia. Caracterização molecular da estrutura genética de populações e espécies camarões palemonídeos *Macrobrachium* do gênero *Macrobrachium*. São José do Rio Preto 2011. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/92491>. Acesso em 21 de setembro de 2018.

GUEST, W. Clell. Laboratory life history of the palaemonid shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Palaemonidae). **Crustaceana**, v. 37, n. 2, p. 141-152, 1979.

HOLTHUIS, Lipke Bijdeley. **A general revision of the Palaemonidae (crustacea Decapod Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaemonidae.** 1952.

LÓPEZ GRECO, L. S.; RODRÍGUEZ, E. M. Size at the onset of sexual maturity in *Chasmagnathus granulatus* Dana, 1851 (Grapsidae, Sesarminae): a critical overall view about the usual criteria for its determination. In: **Proc. Fourth International Crustacean Congress, Leiden.** 1999. p. 675-689.

MACIEL, Cristiana Ramalho; VALENTI, Wagner C. Biology, fisheries, and aquaculture of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*: a review. **Nauplius**, v. 17, n. 2, p. 61-79, 2009.

MAGALHAES, Celio. Desenvolvimento larval obtido em laboratório de palaemonídeos da Região Amazônica. I. *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda). **Amazoniana**, v. 9, n. 2, p. 247-274, 1985.

MELO, Gustavo Augusto Schmidt. **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil.** Edições Loyola, 2003.

MORAES-RIODADES, Patrícia MC; VALENTI, Wagner C. Morphotypes in male Amazon River prawns, *Macrobrachium amazonicum*. **Aquaculture**, v. 236, n. 1-4, p. 297-307, 2004.

ODINETZ COLLART, Olga. Ecologia e potencial pesqueiro do camarão-canela, *Macrobrachium amazonicum*, na bacia Amazônica. 1993.

COLLART ODINETZ, O.; RABELO, H. Variation in egg size of the fresh-water prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 16, n. 4, p. 684-688, 1996.

PEREIRA, G. A cladistic analysis of the freshwater shrimps of the family Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Caridea). **Acta Biologica Venezuelica**, v. 17, n. Suppl, p. 1-69, 1997.

PEREIRA, Janekeile Macedo. É possível identificar o ponto de inflexão entre as populações continentais e costeiras da Amazônia para a espécie *Macrobrachium amazonicum*? Trabalho de conclusão de curso. Universidade federal do Pará. Bragança, p.38.2015.

PORTO, L. A. C. Estudos morfológicos em populações do complexo *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em diferentes bacias hidrográficas brasileiras. **São Paulo, USP, 149p (Ph. D. Thesis)**, 2004.

SILVA, Bianca Bentes da *et al.* Ecologia, pesca e dinâmica populacional do camarão-da-Amazônia-*Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)(Decapoda: Palaemonidae)–capturado na região das ilhas de Belém-Pará-Brasil. 2011.

SILVA, Raquel Costa e. Ecologia populacional e reprodutiva de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda: Palaemonidae) no reservatório da Usina Hidrelétrica de Miranda, Rio Araguari, MG. Uberlândia, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/13409>. Acesso em 21 de setembro de 2018.

THANH, Nguyen Minh et al. Single nucleotide polymorphisms in the actin and crustacean hyperglycemic hormone genes and their correlation with individual

growth performance in giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, v. 301, n. 1-4, p. 7-15, 2010.

VERGAMINI, Fernanda Gamper. **Análise comparativa entre populações costeiras e continentais do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)(Crustacea, Palaemonidae) por meio de dados morfológicos e moleculares**. 2009. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado. Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Disponível em: [http://bdpi.usp.br/single.php?\\_id=001759977](http://bdpi.usp.br/single.php?_id=001759977). Acesso em 21 de setembro de 2018.

VERGAMINI, Fernanda G. et al. Genetic variability of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). **Contributions to Zoology**, v. 80, n. 1, p. 67-83, 2011.