

**Estudo da morfologia funcional reprodutiva e desenvolvimento  
larval em laboratório de *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811)  
(Crustacea, Decapoda, Stenopodidea)**

**Rafael Augusto Gregati**

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Lucia Negreiros Fransozo  
Co-orientadora: Laura Suzana López Greco

Tese apresentada ao Instituto de  
Biociências da Universidade Estadual  
Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus  
de Botucatu, como parte dos requisitos para  
a obtenção do título de Doutor em Ciências  
Biológicas – **Área de Concentração  
Zoologia**

Botucatu, SP  
2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO  
E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Gregati, Rafael Augusto.

Estudo da morfologia funcional reprodutiva e desenvolvimento larval em laboratório de *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Crustacea, Decapoda, Stenopodidea) / Rafael Augusto Gregati. – Botucatu : [s.n.], 2009.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu 2009

Orientador: Maria Lucia Negreiros Fransozo  
Assunto CAPES: 20400004

1. Decapoda (Crustacea) - Reprodução 2. Zoologia

CDD 597.384

Palavras-chave: Desenvolvimento larval; Morfologia reprodutiva; Stenopodidae; Stenopodidea; *Stenopus hispidus*



**NEBECC**  
Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia  
e Cultivo de Crustáceos

## RESUMO

A hipótese de que a deposição espermática e a fecundação em *Stenopus hispidus* ocorram externamente ao corpo foram testadas, baseando-se no comportamento reprodutivo em laboratório e na anatomia reprodutiva. Adicionalmente, o ciclo ovariano e os estágios larvais iniciais de também foram descritos. Para isso, 12 casais adultos foram mantidos em aquários, em salinidade 35‰, temperatura 26°C, fotoperíodo 12 horas. As larvas foram em grupos de 50 e 100 larvas em placas de Petri com 100 ml. As observações e alimentação foram diárias. Fêmeas em diferentes fases do ciclo ovariano foram anestesiadas em água com gelo e tiveram o ovário removido, fotografado, fixado e processado para microscopia de luz. O comportamento reprodutivo foi filmado e fêmeas recém-copuladas tiveram os esternos analisados. Posteriormente, os casais foram anestesiados e dissecados para a descrição da forma e localização das gônadas e pleópodos. O aparelho reprodutivo (AR) de ambos os sexos, esternos, genitálias e primeiro pleópodo também foram preparados e fotografados em microscopia eletrônica de varredura. O tempo médio de incubação dos ovos foi de  $22,8 \pm 2,1$  dias e os períodos de intermuda foram de  $25,5 \pm 2,3$  dias para as fêmeas e  $26 \pm 4,1$  dias para os machos. Durante cada ciclo reprodutivo, os ovários apresentaram diferenciação em tamanho e coloração, identificados macroscopicamente pela transparência da carapaça e classificados em quatro estágios distintos de desenvolvimento ovariano, ao longo de um ciclo reprodutivo. A cópula ocorre quando a fêmea está em pós-muda, e espermatozóides foram observados em seus esternos fazendo-se um esfregaço. O primeiro pleópodo masculino parece estar envolvido na cópula, já que é diferenciado dos demais. O AR masculino é reduzido e restrito à carapaça, com testículos lobulados e vasos deferentes não enovelados, abrindo-se na base do 5° pereiópodo. O AR feminino é bem desenvolvido, com o ovário ocupando grande parte da carapaça e alcançando até o terceiro somito abdominal; os ovidutos são curtos e sem estrutura aparente para estocagem de espermatozóides. As fendas genitais femininas se abrem na base do terceiro par de pereiópodos e são circundadas por cerdas plumosas, comuns também nos esternitos torácicos. Assim, o macho deposita uma massa espermática simples na região ventral da fêmea, e a fecundação ocorre no momento da exteriorização dos oócitos maduros. Todos os estágios larvais descritos apresentam carapaça cilíndrica, rostro longo armado com espinhos na extremidade. Os somitos abdominais apresentam espinhos ventro-laterais proeminentes (1° somito), laterais e dorsais (3° e 5° somitos). Mandíbula, maxílula, maxila e maxilípedes apresentam pequenas mudanças ao longo do desenvolvimento. As principais alterações ocorrem nos olhos (sésseis em Z1 e pedunculados nos demais), antênulas, antenas e urópodo (aparecimento a partir de Z3). O 1° par de pereiópodos é funcional e natatório na ZI; o 2° par surge na ZIII; o 3°, na ZVII; o 4°, na ZVIII e o 5° par aparece como um rudimento na ZIX. Este trabalho confirma as descrições anteriores a partir de larvas obtidas no plâncton, entretanto, maiores detalhes são adicionados, principalmente em relação aos tipos de cerdas e no menor tempo de duração larval.

**Palavras chave:** *Stenopus hispidus*, Stenopodidea, Stenopodidae, morfologia reprodutiva, desenvolvimento larval



# **Considerações Iniciais**

Acredita-se que existem no mundo entre 1,5 e 2 milhões de pessoas que mantêm aquários marinhos em suas residências, constituídos basicamente por espécies associadas aos recifes de coral (Wood, 2001; Wabnitz *et al.* 2003). O comércio mundial dessas espécies movimenta valores financeiros impressionantes, estimando-se mais de um bilhão de dólares quando associado a acessórios e equipamentos do ramo. Com a porção marinha representando a menor parcela deste valor, estima-se que somente o comércio de invertebrados marinhos vivos para aquários movimenta mais de 30 milhões de dólares anuais nos Estados Unidos (Andrews, 1990; Larking & Degner, 2001). Tais valores do ramo são consideráveis e refletem principalmente sobre os estoques naturais, pois ao contrário do que ocorre com peixes de água-doce, estima-se que mais de 90% das espécies marinhas são retiradas da natureza para suprir essa demanda (Tlusty, 2002).

O Brasil é um importante exportador de espécies aquáticas ornamentais, principalmente devido aos peixes de água-doce provenientes da bacia amazônica. As espécies marinhas, embora representem uma parcela menor do volume comercializado, constituem um grande incremento da receita, já que o valor unitário dos espécimes comercializados vivos é geralmente bem maior do que os de água-doce (Barreto, 2002). As conseqüências ecológicas causadas pela retirada em larga escala destas espécies de seus ecossistemas naturais ainda são incertas. Sabe-se que as atividades humanas, principalmente pesqueiras ou de extração, são exemplos de causas primárias que podem acarretar em modificações sérias e irreversíveis na diversidade biológica local, especialmente nas áreas litorâneas (Norse, 1993; Ellingsen, 2001).

### *Os crustáceos ornamentais*

O subfilo Crustacea apresenta uma grande diversidade de organismos entre os Arthropoda, comuns em todas as profundidades nos diversos ambientes marinhos, salobros, água-doce e até mesmo no ambiente terrestre. São os animais mais abundantes e diversificados em todos os oceanos, divididos em seis classes, 13 subclasses e 47 ordens, sendo a ordem Decapoda a mais representativa, com cerca de 10 mil espécies descritas e agrupadas em mais de 1.200 gêneros (Martin & Davis, 2001). Neste grupo incluem-se os mais populares invertebrados bentônicos: camarões, lagostas, lagostins, ermitões, caranguejos e siris, conhecidos pelo homem desde os tempos antigos, principalmente por servir como importante fonte de alimento.

Além dos peixes e corais, que são os principais organismos marinhos coletados e comercializados para ornamentação, muitas espécies de crustáceos também são populares na aquarofilia. Tais espécies recebem o *status* de “espécies ornamentais”, principalmente, por possuírem uma coloração intensa, facilidade de manutenção em aquários e serem consideradas *reef safe* (espécies que convivem pacificamente com outros habitantes em um aquário marinho; ver Sprung, 2001).

Algumas espécies apresentam características que as tornam alvos ainda maiores da exploração, como hábitos de camuflagem (por exemplo, caranguejos que aderem pólipos e algas em seu corpo), comportamentos complexos de associação com outras espécies (por exemplo, camarões simbiontes de anêmonas), ou são responsáveis por alguma função específica no aquário (por exemplo, pequenos ermitões que são colocados em grandes quantidades em aquários para combater algas filamentosas). Tal interesse está concentrado principalmente nas famílias Stenopodidae, Hippolytidae, Rhynchocinetidae, Palaemonidae, Alpheidae, Hymenoceridae e Gnathophyllidae (Calado *et al.* 2003a,b).



Gasparini (2005) apresenta uma lista com 15 espécies de crustáceos decápodos marinhos explorados ao longo da costa brasileira para ornamentação em aquários, classificando três delas como altamente exploradas e sete delas como raras (que são avistadas em menos de 10% dos mergulhos).

#### *A espécie Stenopus hispidus*

Entre os crustáceos marinhos altamente explorados para ornamentação em aquários, encontra-se a espécie-alvo deste trabalho, o camarão *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Ordem Decapoda, Infraordem Stenopodidea) (figura 1). Os crustáceos decápodos desta Infraordem são representados por apenas duas famílias, Spongicolidae Schram, 1986 e Stenopodidae Claus, 1872, que juntas compreendem nove gêneros com cerca de 40 espécies descritas (Holthuis, 1993).

Conhecido como “camarão-palhaço”, pela sua coloração branca com bandas vermelhas, ou “camarão-limpador”, pelo seu hábito de remover ectoparasitas de peixes recifais e até mesmo de tartarugas marinhas (Sazima *et al.* 2004), *S. hispidus* é uma das espécies mais cobiçadas entre aquaristas no mundo todo (Zhang *et al.* 1998). Sem dúvida, é o decápodo marinho mais comum entre aquaristas no Brasil. Além de sua rusticidade de manutenção e intensa coloração, peculiaridades comportamentais como o hábito de viver em casais e a remoção de ectoparasitas de peixes, aumentam ainda mais sua popularidade (Limbaugh *et al.*, 1961; Johnson Jr., 1977).

No Brasil, *S. hispidus* é facilmente encontrado em lojas especializadas do ramo e *pet shops*, onde o valor de cada indivíduo vivo pode ultrapassar R\$ 30,00 (trinta reais). Quando já pareados, o valor do casal pode ser ainda maior. Os animais disponíveis no mercado nacional, geralmente, são sub-adultos ou adultos, capturados principalmente nos Estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Ceará.

A pesca dessa espécie envolve populações ribeirinhas tradicionais nesta atividade e mergulhadores embarcados, com licença para pesca profissional. O procedimento é o mesmo e simultâneo à captura de peixes ornamentais marinhos: em áreas rasas usa-se apenas máscara, *snorkel* e nadadeiras (apnéia) e em áreas mais profundas usa-se um barco equipado com um compressor de ar, que supre o mergulhador para que fique mais tempo submerso (Nottingham *et al.* 2000). Obviamente, neste segundo caso os pescadores capturam maiores quantidades de espécies e de indivíduos. Os apetrechos utilizados são pequenas redes com cabo, que os permitem vasculhar entre corais e rochas, além de sacos plásticos para transporte individual dos camarões. Depois de capturados, a estocagem dos espécimes também é de forma individual, realizada em potes de plásticos tampados e perfurados para a circulação da água, que ficam amontoados em grandes tanques com água do mar, normalmente proveniente do próprio local do desembarque. Na maioria das vezes a água é de péssima qualidade, o que acarreta em grandes taxas de mortalidade.

Embora *S. hispidus* seja muito popular e com grande interesse comercial em vários países, inclusive no Brasil, poucos trabalhos científicos são devotados a esta espécie. A maioria dos estudos aborda sua distribuição e áreas de ocorrência (Holthuis, 1946; Kruczynski & Jenner, 1969; Lukens, 1978; Coelho & Ramos-Porto, 1998; Gregati *et al.* 2006), alguns tratam sobre seu comportamento de reprodução (Johnson Jr., 1969, 1977; Zhang *et al.* 1998), bem como suas interações com peixes e tartarugas marinhas (Limbaugh *et al.*, 1961; Jonasson, 1987, Sazima *et al.* 2004). Trabalhos que envolvam sua biologia reprodutiva são escassos (ver Zhang *et al.* 1997 e Chockley & St. Mary, 2003; Calado *et al.* 2008), o histórico de tentativas de cultivo é de pouco progresso (Zhang *et al.* 1997) e o seu desenvolvimento larval ainda é desconhecido na íntegra (ver Broocks & Herrick, 1891; Gurney, 1924 e 1936; Lebour, 1940 e Williamson 1976).

Na natureza, *S. hispidus* pode ser encontrado em uma variedade de habitats recifais, incluindo grandes formações coralíneas e fendas naturais em formações rochosas, habitando desde águas rasas onde peixes são abundantes até grandes profundidades (Limbaugh *et al.*, 1961; Colin, 1978). A espécie ocorre ao longo do Indo-Pacífico, desde o Mar Vermelho e África do Sul até o Havaí e Ilhas Tuamotu. No Atlântico Oeste, ocorre desde as Bermudas e costa da Carolina do Norte, Golfo do México e Sul da Florida até a costa Norte da América do Sul (Holthuis, 1946; Kruczynski & Jenner, 1969; Lukens, 1978). No Brasil, é registrada no arquipélago de Fernando de Noronha e ao longo da costa, desde o Estado do Ceará até o Estado de São Paulo como limite Sul (Coelho & Ramos-Porto, 1998; Gregati *et al.* 2006).

Os adultos, que tipicamente são encontrados em casais reprodutivos (Johnson Jr., 1977; Young, 1979), habitam uma área restrita com cerca de um metro quadrado e demonstram forte comportamento agonístico contra outros espécimes solitários ou outros casais (Limbaugh *et al.*, 1961; Young, 1979; Fletcher *et al.* 1995). Este comportamento faz com que a densidade populacional desta espécie seja baixa em seu ambiente natural, e os impactos da retirada de poucos indivíduos desta espécie dos recifes de coral podem causar redução na abundância dos peixes recifais, bem como aumento da incidência de ulcerações e ectoparasitas de nadadeiras e brânquias nos peixes locais (Linbaugh *et al.* 1961).

### *A realização deste trabalho*

Para a realização deste trabalho, foi necessário um planejamento cuidadoso quanto à manutenção dos camarões marinhos por um longo período de tempo, em condições totalmente artificiais, em pleno interior do Estado de São Paulo. A manutenção dos camarões vivos e se reproduzindo, só foi possível devido às instalações do Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos (NEBECC), com salas climatizadas (96m<sup>2</sup> e 30 m<sup>2</sup>) providas de sistema de aeração central e depósito e filtragem de água do mar.

Todos os camarões utilizados neste trabalho (45 no total) são provenientes do ambiente natural, coletados em várias localidades dentro da Bahia de Todos os Santos, Salvador, Bahia. A obtenção foi através de uma empresa licenciada para pesca e comércio de organismos marinhos ornamentais, de acordo com cotas estabelecidas por lei. Para o envio, os camarões foram individualizados em saco plástico inflado com oxigênio puro, lacrado com anel metálico e dispostos em caixa de isopor com avisos sobre carga viva. O transporte foi por meio aéreo até o Aeroporto Internacional de Guarulhos e posteriormente por meio terrestre até o laboratório, e todo o procedimento desde a embalagem até a soltura nos aquários foi inferior a 24 horas.

Em uma fase prévia, os camarões foram mantidos aos casais em 10 aquários com capacidade para 27 litros (0,45 m x 0,20 m x 0,30 m), com filtro interno de espuma, substrato e fragmentos de rocha calcária para refúgio (figura 2). Mesmo com o sucesso obtido no acompanhamento de eventos reprodutivos, despendia-se muito esforço para a manutenção da qualidade da água em cada aquário, com realização de trocas parciais de água muito freqüentes (cerca de 20% do volume semanalmente), bem como lavagem ou substituição da espuma dos filtros. A captura das larvas também foi problemática, já que a liberação ocorre sempre no período noturno e as larvas, mesmo sendo atraídas por um foco luminoso, foram constantemente sugadas para o filtro ou predadas pelos adultos. Para resolver este problema,

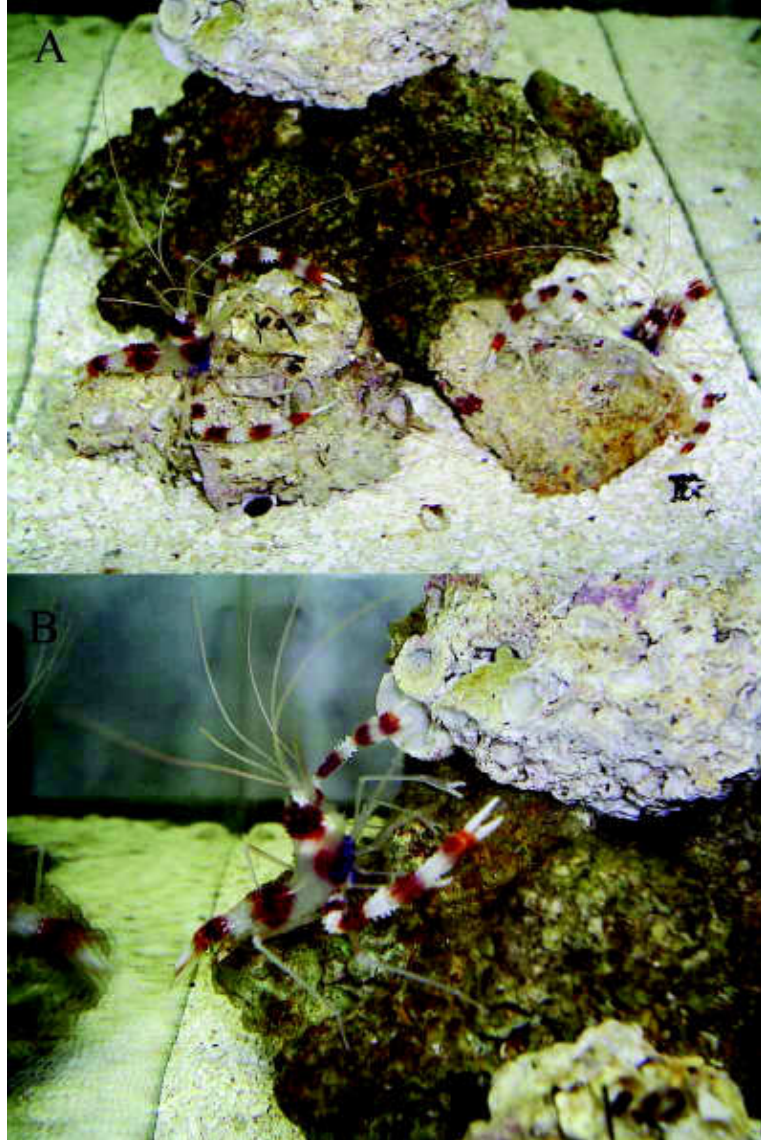
foi confeccionado um recipiente em acrílico (figura 3), que acomodava a fêmea com ovos prestes a eclodir no mesmo aquário e impedia a predação das larvas. Porém, o manuseio da fêmea e sua separação do macho por muitas horas geravam um estresse que poderia influenciar em eventos reprodutivos posteriores, principalmente comportamentais.

A solução encontrada foi a construção de um sistema que associasse uma maior eficiência na manutenção da qualidade da água e obtenção de larvas sem causar estresse aos adultos: aquários com as mesmas dimensões dos tipos anteriores foram interligados, aumentando o volume total de água do sistema. Os aquários que também continham substrato e fragmentos de rocha calcária para refúgio dos animais, foram conectados em paralelo, formando um sistema de recirculação de água com um *sump* para equipamentos (0,70 m x 0,50 m x 0,40 m), totalizando cerca de 460 litros (figura 4). O sistema dispõe de uma bomba de recalque (3000 L h<sup>-1</sup>) que distribui igualmente a água entre os aquários por torneiras, um controlador digital de temperatura (variação máxima de 0,5 °C), *skimmer* e filtro ultravioleta com lâmpada de 32w. Neste sistema, foi elaborado um dispositivo para a captação das larvas em que não fosse necessário manuseio dos camarões, utilizando-se apenas um foco luminoso e aproveitando as saídas de água dos aquários (figura 5).

Por fim, alguns eventos reprodutivos foram acompanhados simultaneamente em camarões mantidos das duas formas descritas acima (aquários individuais com filtro de espuma interno e sistema de aquários com água compartilhada). Como foi comprovada a melhor qualidade da água com um esforço muito menor, bem como captação de larvas com sucesso sem o manuseio e estresse dos adultos e, ainda, nenhuma diferença pôde ser constatada em eventos relacionados à reprodução, todo o desenvolvimento deste trabalho foi baseado na reprodução de camarões adultos mantidos em um sistema de água compartilhada.

## *Apresentação*

Visando contribuir com o conhecimento relacionado à reprodução de *S. hispidus*, espécie com grande interesse comercial e pobremente estudada, este trabalho foi intitulado “Estudo da morfologia funcional reprodutiva e desenvolvimento larval em laboratório de *Stenopus hispidus* Olivier, 1811 (Crustacea, Decapoda, Stenopodidea)”. O texto aqui apresentado foi dividido em três partes (capítulos), a fim de facilitar a apresentação dos resultados e mostrar a estrutura de sua futura publicação. No *capítulo um*, além de descrever todo o processo de cópula, foi descrita pela primeira vez a anatomia dos aparelhos reprodutivos de um representante Stenopodidea, bem como estruturas relacionadas à reprodução, a fim de desvendar o modo de transferência espermática na espécie. Além do uso de desenho, fotografias de microscopia eletrônica de varredura enriqueceram ainda mais o trabalho, com detalhes morfológicos antes desconhecidos; no *segundo capítulo* foram apresentadas informações sobre as modificações macroscópicas e microscópicas que ocorrem ao longo do ciclo ovariano de um representante Stenopodidea, mantidos e acompanhados em condições laboratoriais. No caso de *S. hispidus*, espécie com grande interesse comercial, tais informações podem ser essenciais em tentativas de cultivo futuras da espécie; por fim, no *terceiro capítulo* foi descrito o desenvolvimento larval de *S. hispidus* provenientes do Atlântico Sul, a partir de larvas criadas em laboratório, comparando-se sua morfologia com descrições anteriores, de larvas obtidas no plâncton e de outros locais de origem.

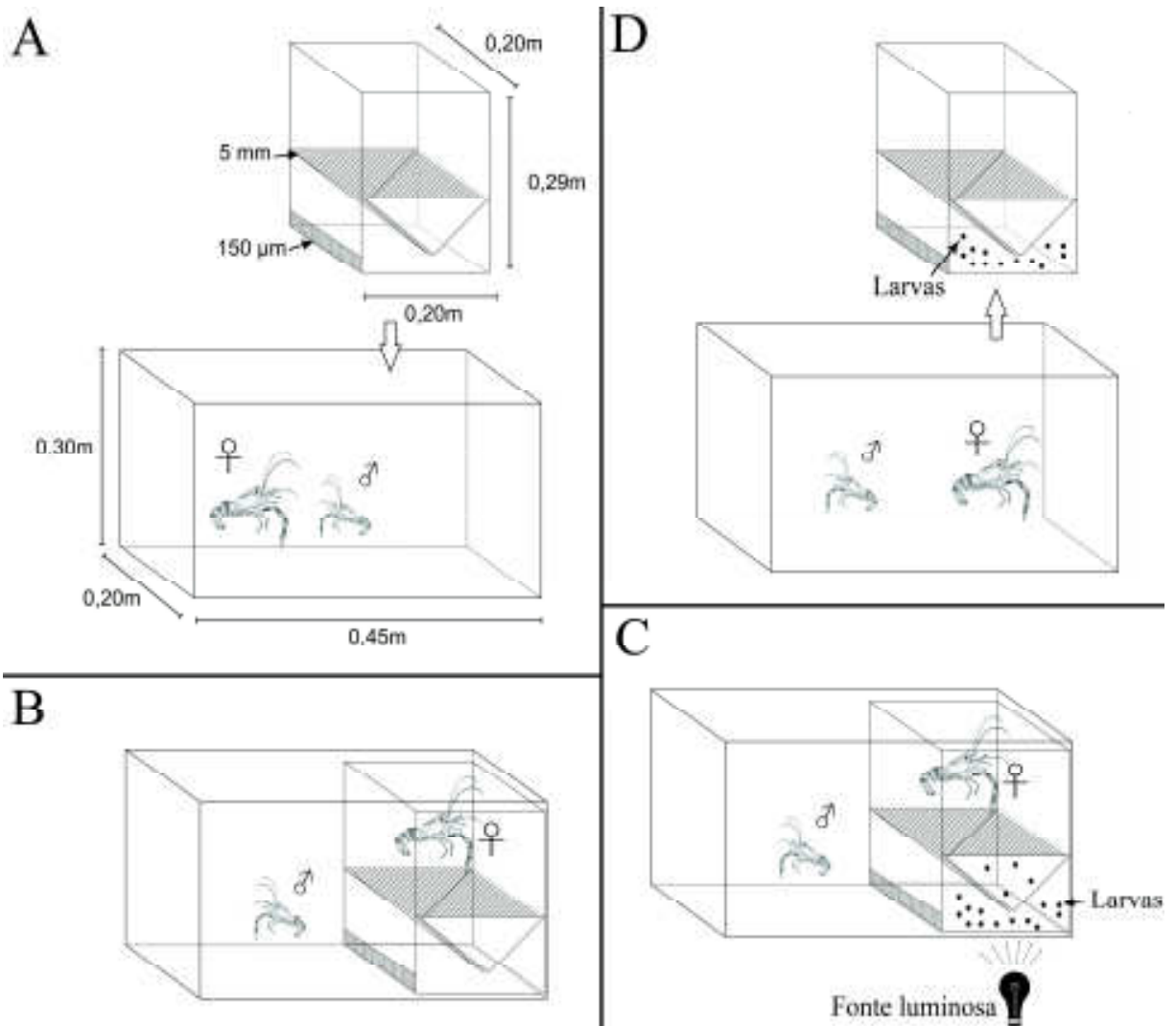


**Figura 1:** *Stenopus hispidus* adultos em aquário. A) um casal e B) fêmea em detalhe.



**Figura 2:** Aquários utilizados para manutenção de casais adultos de *Stenopus hispidus* (0,45 m x 0,20 m x 0,30 m), com filtro interno de espuma e sistema de aeração central.

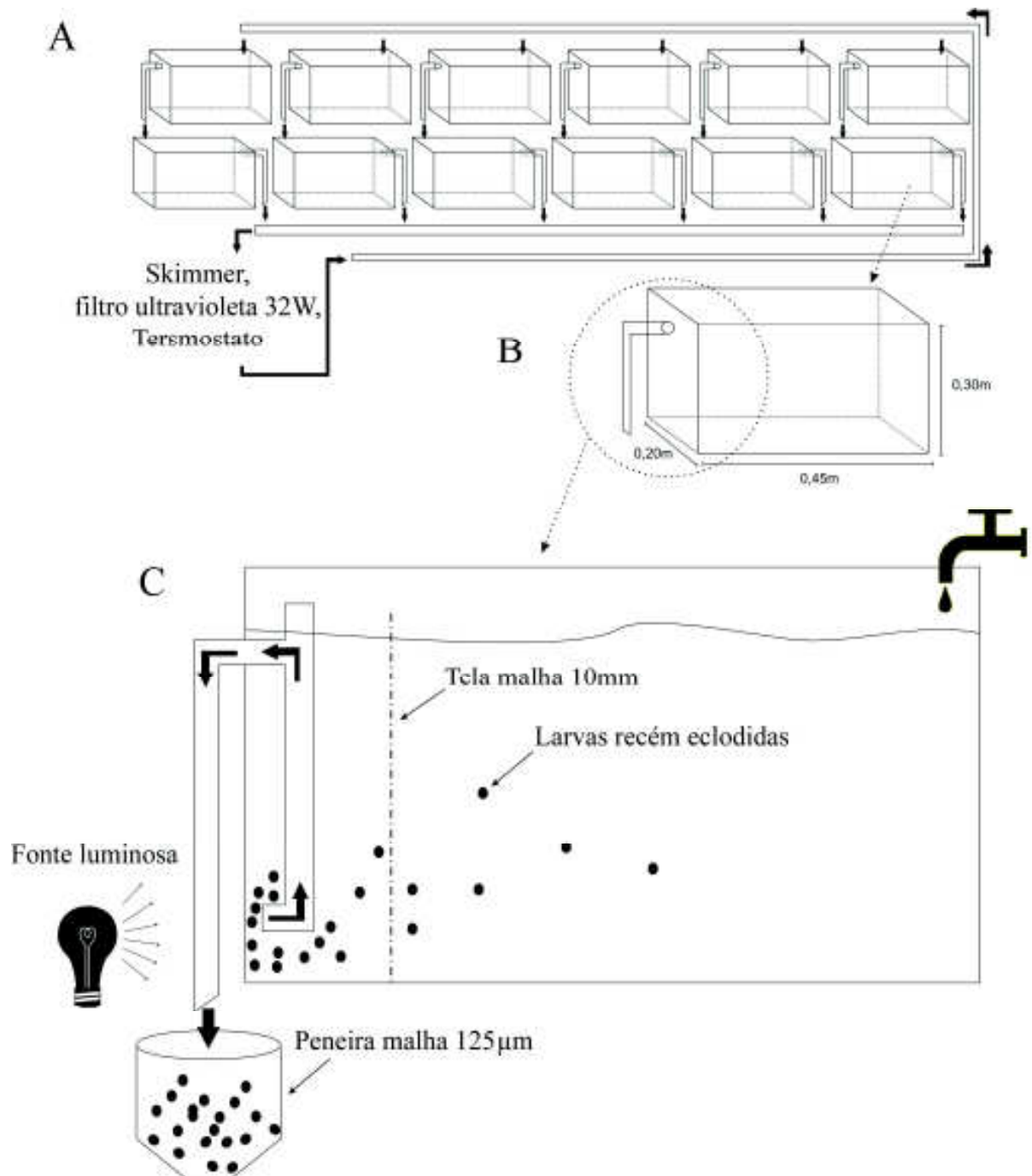




**Figura 3:** Modo de captação de larvas recém-eclodidas de *Stenopus hispidus*, em aquários utilizados para manutenção de casais adultos (0,45 m x 0,20 m x 0,30 m) com filtro interno de espuma. **A)** separador de larvas confeccionado em acrílico é adicionado ao aquário com fêmea portando ovos em estágio final de desenvolvimento; **B)** fêmea portando ovos em estágio final de desenvolvimento é transferida para compartimento superior do separador; **C)** larvas ao eclodir são traídas pela fonte luminosa para compartimento inferior do separador, evitando contato com a fêmea; **D)** após a eclosão, a fêmea é retornada ao aquário, e separador de larvas é removido com larvas vivas para cultivo.



**Figura 4:** Fotografia do sistema de água recirculante utilizado neste trabalho, para manutenção de espécimes adultos de *Stenopus hispidus*. 1) aquários com medidas 0,45 m x 0,20 m x 0,30 m; 2) torneiras para retorno da água; 3) controlador digital de temperatura; 4) filtro com lâmpada ultravioleta; 5) *sump* de recirculação; 6) *skimmer*.



**Figura 5:** Esquema do sistema de água recirculante utilizado neste trabalho, para manutenção de espécimes adultos de *Stenopus hispidus*. **A)** esquema geral do sistema recirculante; **B)** aquário em detalhe, apresentando as medidas dos aquários utilizados e a saída de água; **C)** detalhe da captura de larvas neste sistema: em todos os aquários, as larvas recém-eclodidas são atraídas por fonte luminosa e são sugadas pela saída de água. A tela com malha 10 mm impede a aproximação dos adultos ao aglomerado de larvas que se forma na entrada do cano. Setas pretas indicam o sentido da água.

## Referências

- Andews, C. 1990. The ornamental fish trade and fish conservation. *Journal of Fish Biology*, 37: 53-59.
- Barreto, L. M. 2002. Estudo sobre o comércio de peixes ornamentais marinhos no Ceará com ênfase na taxa de descarte nas capturas. Dissertação de Mestrado, Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, 59p.
- Broocks, W. K. & Herrick, F. H. 1891. The embriology and metamorphosis of the Macrourea. *Memoirs of the National Academy of Sciences*, 5: 321-576.
- Calado, R.; Bartilotti, C.; Goy, J. W. & Dinis, M. T. 2008. Parasitic castration of the stenopodid shrimp *Stenopus hispidus* (Decapoda: Stenopodidae) induced by the bopyrid isopod *Argeiopsis inhacae* (Isopoda: Bopyridae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88: 307-309.
- Calado, R.; Lin, J.; Rhyne, A. L.; Araújo, R. & Narciso, L. 2003a. Marine ornamental decapods – popular, pricey, and poorly studied. *Journal of Crustacean Biology*, 23(4): 963-973.
- Calado, R.; Narciso, L.; Araújo, R. & J. Lin 2003b. Overview of marine ornamental shrimp aquaculture. *In: Cato, J. C. & Brown, C. L. (Eds.) Marine Ornamental Species: Collection, Culture & Conservation*. Iowa State Press, p. 221-230.
- Chockley, B. R. & St. Mary, C. M. 2003. Effects of body size on growth, survivorship, and reproduction in the banded coral shrimp, *Stenopus hispidus*. *Journal of Crustacean Biology*, 23(4): 836-848.
- Coelho, P. A. & Ramos-Porto, M. 1998. Malacostraca. Eucarida. Stenopodea. *in: Young, P. S. (Ed.) Catalogue of Crustacea of Brazil*. Série Livros n. 6, Museu Nacional, Rio de Janeiro, pp. 323-324.
- Colin, P. L. 1978. *Carribean Reef Invertebrates and Plants*. THF Publications, Inc., Ltd., Neptune City, 512p.
- Ellingsen, K. E. 2001. Biodiversity of a continental shelf soft-sediment macrobenthos community. *Marine Ecology Progress Series*, 218: 1-15.
- Fletcher, D. J.; Kotter, I.; Wunsch, M. & Yasir, I. 1995. Preliminary observations on the reproductive biology of ornamental cleaner prawns. *International Zoological Yearbook*, 34: 73-77.

- Gasparini, J. L.; Floeter, S. R.; Ferreira, C. E. L. & Sazima, I. 2005. Marine ornamental trade in Brazil. *Biodiversity and Conservation*, 14: 2883-2899.
- Gregati, R. A., Pinheiro, A. P. & Cobo, V. J. 2006. New records of *Stenopus hispidus* Olivier, 1811 (Stenopodidae) and *Enoplometopus antillensis* Lütken, 1865 (Enoplometopidae) in the Southeastern of the Brazilian coast. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 1(1): 20-23.
- Gurney, R. 1924. *British Antarctic ("Terra Nova") Expedition, 1910*. Natural History Reports. Zoology, Volume VIII, Crustacea IX, Decapod larvae. The British Museum of Natural History, London, 202 p.
- Gurney, R. 1936. Larvae of Decapod Crustacea. Part I: Stenopidea. *Reproduction*, 12: 379-392.
- Holthuis, L. B. 1946. The Stenopodidae, Nephropsidae, Scyllaridae and Palinuridae. The Decapoda, Macrura of the Snellius Expedition 1. *Temminckia*, 7: 1-178.
- Holthuis, L. B. 1993. *The recent genera of the Caridean and Stenopodidean shrimps (Crustacea, Decapoda) with an appendix on the order Amphionidacea*. Nationaal Natuurhistorisch Museum, Leiden, 328 p.
- Johnson Jr., V. R. 1969. Behavior associated with pair formation in the banded shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier). *Pacific Science*, 23: 40-50.
- Johnson Jr., V.R. 1977. Individual recognition in the banded shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier). *Animal Behaviour*, 25: 418-428.
- Jonasson, M. 1987. Fish cleaning behavior of shrimp. *Journal of Zoology*, 213: 117-131.
- Kruczynski, W. L. & Jenner, C. E. 1969. *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Decapoda, Natantia, Stenopodidae), a Northern on the East coast of the U.S.A. *Crustaceana*, 16: 105-106.
- Larking, S. L. & Degner, R. L. 2001. The U.S. wholesale market for marine ornamentals. *Aquarium Sciences and Conservation*, 3: 13-24.
- Lebour, M. V. 1940. The stenopid larvae of Bermuda. In: Gurney, R. & M. V. Lebour (eds.) *On the larvae of certain Crustacea Macrura, mainly from Bermuda*. Linnean Society Journal of Zoology (Special Issue), p. 161-181.

- Limbaugh, C., Pederson, H., Chace, F.A., 1961. Shrimps that clean fishes. *Bulletin of Marine Science*, 11(2): 237-257.
- Lukens, R. 1978. Notes on *Stenopus scutellatus* and *Stenopus hispidus* (Decapoda, Stenopodidae) from Mississippi. *Gulf Research Reports*, 6: 75-76.
- Martin, J. W. & Davis, G. E. 2001. *An updated classification of the recent Crustacea*. Natural History Museum of Los Angeles, Science Series 39, 124 p.
- Norse, E. A. 1993. *Global marine biological diversity: a strategy for building conservation into decision making*. Island Press, Washington, 383 p.
- Nottingham, M. C.; Cunha, F. E. A. & Monteiro-Neto, C. 2000. Captura de peixes ornamentais marinhos no Estado do Ceará. *Arquivos de Ciências do Mar*, 33: 119-124.
- Sazima, I.; Grossman, A. & Sazima, C. 2004. Hawksbill turtles visit moustached barbers: cleaning symbiosis between *Eretmochelys imbricata* and the shrimp *Stenopus hispidus*. *Biota Neotropica*, 4: 1-6.
- Sprung, J. 2001. *Invertebrates, a Quick Reference Guide*. Ricordea Publishing, Florida, 240 p.
- Tlusty, M. 2002. The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade. *Aquaculture*, 205: 203-219.
- Wabnitz, C.; Taylor, M.; Green, E. & Razak, T. 2003. *From Ocean to Aquarium: the Global Trade in Marine Ornamental Species*. Cambridge: UNEP-WCMC, 64 p.
- Williamson, D. I. 1976. Larvae of Stenopodidae (Crustacea, Decapoda) from the Indian Ocean. *Journal of Natural History*, 10: 497-509.
- Wood, E. 2001. *Collection of Coral Reef Fish For Aquaria: Global Trade, Conservation Issues and Management Strategies*. UK: Marine Conservation Society, 80 p.
- Young, F. 1979. Spawning of the banded coral shrimp, *Stenopus hispidus*. *Freshwater and Marine Aquarium Magazine*, 2: 16-17.

Zhang, D.; Lin, J. & Creswell, R. L. 1997. Effect on eyestalk ablation on molt cycle and reproduction in the banded shrimp *Stenopus hispidus*. Journal of Shellfish Research, 16(2): 363-366.

Zhang, D.; Lin, J. & R. L. Creswell 1998. Matting behavior and spawning of the banded coral shrimp *Stenopus hispidus* in the laboratory. Journal of Crustacean Biology, 18(3): 511-518.

# Capítulo 1

**Morfologia reprodutiva e transferência espermática em  
*Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Crustacea, Decapoda,  
Stenopodidea)**



## Resumo

A hipótese de que a deposição espermática e a fecundação no camarão *Stenopus hispidus* ocorrem externamente ao corpo foram testadas, baseando-se no comportamento reprodutivo em laboratório e na anatomia reprodutiva. Para isso, 12 casais adultos foram mantidos em aquários interligados, em salinidade 35‰, temperatura 26°C, fotoperíodo 12 horas e alimentados com ração industrializada para peixes. O comportamento reprodutivo foi filmado e fêmeas recém-copuladas tiveram os esternos analisados. Posteriormente, os casais foram anestesiados e dissecados para a descrição da forma e localização das gônadas e pleópodos. O aparelho reprodutivo (AR) de ambos os sexos, esternos, genitálias e primeiro pleópodo também foram preparados e fotografados em microscopia eletrônica de varredura. A cópula ocorre quando a fêmea está em pós-muda, e espermatozóides puderam ser observados em seus esternos somente fazendo-se um esfregaço em lâmina. Apenas o primeiro pleópodo masculino parece estar envolvido na cópula, já que é diferenciado dos demais. O AR masculino é reduzido e restrito à carapaça, com testículos lobulados e vasos deferentes não enovelados, abrindo-se na base do 5º pereiópodo. O AR feminino é bem desenvolvido, com o ovário ocupando grande parte da carapaça e alcançando até o terceiro somito abdominal; os ovidutos são curtos e sem estrutura aparente para estocagem de espermatozóides. As fendas genitais femininas se abrem na base do terceiro par de pereiópodos e são circundadas por cerdas plumosas, comuns também nos esternitos torácicos. Assim, o macho deposita uma massa espermática simples na região ventral da fêmea, e a fecundação ocorre no momento da exteriorização dos oócitos maduros.

**Palavras-chave:** *Stenopus hispidus*, Stenopodidea, transferência espermática, comportamento reprodutivo, morfologia reprodutiva

## **Abstract**

**Reproductive morphology and sperm transfer in *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Crustacea, Decapoda, Stenopodidae).** The hypothesis that the deposition of sperm and fertilization in the shrimp *Stenopus hispidus* occurs externally of the body were tested, based on reproductive behavior in the laboratory and reproductive anatomy. For this, 12 adult pairs were kept isolated on interconnected aquaria with salinity 35‰, temperature 26°C, photoperiod 12 hours and daily fed with ornamental fish food. The reproductive behavior was taken with video camera and females had the sternum analyzed after mate. After that, the shrimps were anesthetized and dissected to describe the shape and location of the gonads and pleopods morphology. The reproductive systems (RS), sternum, first pleopods and genitalia were prepared and photographed by scanning electron microscopy. The mating occurs when the female was in pos-molt, and spermatozoa were seen in their sternum only by microscope slide smear preparation. Only the first male pleopod seems to be involved in the mating, since it is different from the others. The male RS is reduced and restricted to the carapace, with lobulated testis and vas deferens not convolute, opening in the 5th pereopod basis. The female RS is well developed, with the ovary occupying much of the carapace and reaching the third abdominal segment; the oviduct is short and without apparent structure for sperm storage. The female genitalia open at third pereopod basis and are surrounded by dense plumose setae, common also in the sternites. Thus, the male deposits a simple spermatophoric mass in the ventral region of the female and the fertilization occurs at the moment of the mature oocytes exteriorization.

**Keywords:** *Stenopus hispidus*, Stenopodidea, sperm transfer, reproductive behavior, reproductive morphology

## Introdução

A grande variabilidade da morfologia reprodutiva e de seus produtos constitui uma boa fonte de caracteres que podem auxiliar na solução de alguns problemas filogenéticos entre os muitos grupos de crustáceos (Bauer, 1986 e 1991). Descrições da morfologia de genitálias, a transferência espermática, os mecanismos de estocagem e estrutura dos espermatóforos e espermatozóides vêm sendo amplamente utilizados para este fim nos últimos anos (Kronenberger *et al.* 2004; Mantelatto *et al.* 2009).

Embora os sistemas sexuais (comportamento de cópula, interações pré e pós-cópula, modo de transferência espermática e sucesso de inseminação) em crustáceos marinhos vêm sendo alvo constante de pesquisa nas últimas décadas, as informações ainda são escassas quando comparadas ao conhecimento acerca dos artrópodes terrestres (Bauer, 1992). Ainda, a compreensão do comportamento sexual e o processo de transferência espermática trazem informações importantes sobre a história de vida dos crustáceos (Hazlett, 1975; Wickler & Seibt, 1981; Bauer, 1986). Tais descrições foram anteriormente realizadas para Ostracoda (Cohen & Morin, 1990; Morin & Cohen, 1991), Copepoda (Blades & Youngbluth, 1980; Blades-Eckelbarger, 1991), Isopoda (Shuster, 1991), Stomatopoda (Caldwell, 1991) e diversos grupos de Decapoda, principalmente, Penaeoidea (Yano *et al.* 1988; Bauer, 1991 e 1992; Misamore & Browdy, 1996), Caridea (Correa & Thiel, 2003), Astacidea (Farmer, 1974; Bauer, 1986; Waddy & Aiken, 1991), Brachyura (Hartnol, 1969; Diesel, 1991) e Anomura (Hess & Bauer, 2002).

Em crustáceos decápodos, os espermatozóides formados nos testículos recebem fluídos seminais ao longo dos vasos deferentes e dutos ejaculatórios, alcançando o meio externo em agrupamentos chamados espermatóforos (Hinsch, 1991). Durante a transferência espermática, os espermatóforos podem apresentar-se como uma massa espermática simples (*spermatophoric mass*) que é depositada na superfície ventral do esterno das fêmeas, como

ocorre na maioria das espécies de Caridea (Bauer, 1986, 2004); ou ser morfologicamente complexos, como as formas pedunculadas de alguns Anomura (Mantelatto *et al.* 2009) ou as formas ornamentadas e adesivas de alguns Penaeoidea (Bauer & Min, 1993). Neste último caso, os espermátóforos normalmente são depositados em estruturas específicas conhecidas como télico, relacionadas com fixação e/ou estocagem para uma fecundação posterior. Télicos do tipo aberto geralmente recebem espermátóforos mais complexos, enquanto télicos do tipo fechado recebem espermátóforos menos elaborados morfologicamente (Bauer, 1994; Misamore & Browdy 1996; Pérez-Farfante & Kensley 1997; Alfaro *et al.* 2003).

Dentre as mais de 40 espécies descritas de Stenopodidea, a espécie *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) é a única que possui o comportamento de cópula conhecido, e ainda assim, a transferência espermática é um processo controverso. Sabe-se que a cópula ocorre sempre após a ecdise da fêmea e com o macho pareado (Young, 1979; Zhang *et al.* 1998), já que são tipicamente encontrados em casais reprodutivos na natureza (Brooks & Herrick, 1891; Johnson Jr., 1977). Enquanto alguns autores afirmam que o processo de transferência espermática nesta espécie ocorre de forma semelhante aos Caridea, no qual o macho deposita uma massa espermática simples no esterno da fêmea, e a fecundação ocorre externamente ao corpo durante a extrusão dos ovos (Balss, 1944; Bauer, 1986), outros pesquisadores sugerem que tanto a deposição dos espermatozoides quanto a fecundação podem ocorrer em uma região mais interna do poro genital feminino (Zhang *et al.* 1998).

Informações sobre a reprodução de *S. hispidus* são escassas (podemos citar ainda Zhang *et al.* 1997; Chockley & St. Mary, 2003). A maioria dos trabalhos sobre esta espécie estão relacionados com sua distribuição (Holthuis, 1946; Kruczynski & Jenner, 1969; Lukens, 1978; Coelho & Ramos-Porto, 1998; Gregati *et al.* 2006) e comportamento (Johnson Jr., 1969 e 1967; Jonasson, 1987; Zhang *et al.* 1998).

A espécie *S. hispidus* distribui-se pelos oceanos Indo-Pacífico, Atlântico e Mar Vermelho (Holthuis, 1946 e 1993), podendo ser observada em uma variedade de habitats recifais, incluindo formações coralíneas e fendas em rochas, principalmente em águas rasas onde peixes são abundantes (Limbaugh *et al.* 1961; Colin, 1978). Na natureza, os casais habitam uma área extremamente restrita e exibem um forte comportamento agonístico contra coespecíficos solitários ou outros casais (Limbaugh *et al.* 1961; Johnson Jr., 1969; Young, 1979; Fletcher *et al.* 1995). Nesta espécie, os relacionamentos entre macho e fêmea são considerados de longo prazo, já que os machos defendem a fêmea por mais de um ciclo reprodutivo (Johnson Jr., 1969).

A fim de desvendar o modo de transferência espermática em *S. hispidus*, e testar a hipótese de que a fecundação em Stenopodidea ocorre externamente ao corpo da fêmea, os objetivos deste trabalho foram descrever, pela primeira, vez a morfologia dos aparelhos reprodutivos de indivíduos adultos, como os ovários e testículos, genitálias e pleópodos, empregando o uso de microscopia eletrônica de varredura; além de descrever, com maiores detalhes, o comportamento reprodutivo da espécie em condições laboratoriais.

## **Material e Métodos**

### ***Obtenção e manutenção dos espécimes em laboratório***

A espécie *Stenopus hispidus* é um dos decápodos mais populares no mercado da aquariofilia marinha devido à sua coloração intensa e rusticidade de manutenção em aquários (Zhang *et al.* 1998). Estes animais são coletados e comercializados pelo mundo todo para suprir uma grande demanda e, para a realização deste trabalho, espécimes adultos provenientes de Salvador, BA, Brasil, foram obtidos através de comerciantes de peixes marinhos ornamentais licenciados.

Em laboratório, os camarões foram identificados quanto ao sexo de acordo com as descrições de Johnson Jr. (1969): as fêmeas são facilmente identificadas pela presença de ovos aderidos aos pleópodos (quando ovígeras) ou pela coloração verde da gônada desenvolvida, facilmente visualizada pela transparência da carapaça. Os machos são facilmente identificados pela presença de um espinho curto mediano na superfície ventral de cada segmento abdominal. De acordo com estes critérios, uma chave de identificação ilustrada foi confeccionada para facilitar o manejo dos camarões, em laboratório.

Após a identificação dos sexos, os camarões foram mantidos, aos casais, em 12 aquários interligados (0,45 m x 0,20 m x 0,30 m), em fotoperíodo de 12 horas, salinidade 35 ‰ e temperatura  $26 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Cada aquário continha o fundo escuro, areia de praia como substrato e fragmentos de rocha calcária para refúgio dos animais.

Efetou-se testes de salinidade (com auxílio de um refratômetro de mão), amônia, nitrito, pH e alcalinidade quinzenalmente (testes titulométricos Tropic Marin<sup>®</sup>). Uma renovação parcial de água (80 litros) foi realizada com água do mar filtrada e irradiada por ultravioleta mensalmente. Diariamente, os camarões foram alimentados em excesso com ração própria para peixes ornamentais (Tetra Marine Flakes<sup>®</sup> e Tetra Color<sup>®</sup>), pedaços de músculo de camarão, lula e bivalves.

### ***Comportamento reprodutivo***

Para a descrição do comportamento de reprodução, os 12 casais foram acompanhados quanto aos ciclos reprodutivos em laboratório até o momento de liberação das larvas. Posteriormente, como todo o processo de cópula ocorre no período noturno, os casais foram separados no mesmo aquário com uma tela plástica removível, de modo que ainda mantivessem um contato visual e físico de antenas e quelípodos (tela com malha de 1 cm). Pela manhã, ao constatar a ecdise da fêmea, a tela plástica foi removida e o comportamento

foi filmado com uma câmera digital (Sony® 8.1 megapixels). Este procedimento foi realizado com sucesso por nove vezes com casais diferentes. Os vídeos foram editados em programas específicos e apresentados em forma de fotografias em pranchas.

#### ***Análise de fêmeas recém-copuladas***

Logo após as filmagens, quatro fêmeas recém copuladas tiveram os esternos analisados sob um estereomicroscópio SV6 Zeiss®. Os esternos também foram raspados cuidadosamente com um estilete entomológico, realizando-se esfregaço em lâminas de vidro com lamínula, sem corante. As lâminas foram analisadas imediatamente após o esfregaço em um microscópio Axioskop 2 Zeiss®, provido de Nomarski, com contraste de fases e sistema de captação de imagem.

#### ***Morfologia reprodutiva, esterno e pleópodos***

Seis casais foram utilizados para a descrição dos aparelhos reprodutivos e da morfologia do esterno e pleópodos. A seleção dos casais foi baseada no acompanhamento visual dos ciclos ovarianos, sendo utilizados os casais em que as fêmeas estavam com as gônadas desenvolvidas (coloração verde-escuro). Os camarões selecionados foram anestesiados em água com gelo para a retirada da região dorsal do cefalotórax, permitindo assim a visualização das gônadas inteiras. A forma e localização das gônadas de ambos os sexos, bem como todos os pleópodos foram desenhadas sob um estereomicroscópio SV6 Zeiss® com câmara clara.

Posteriormente, mais seis casais tiveram os aparelhos reprodutivos completos removidos, juntamente com seus esternos e pleópodos. Desta vez, o material foi fixado imediatamente em solução de glutaraldeído 2,5% e paraformaldeído 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 (solução de Karnovsky) por 48 horas. Em seguida, realizou-se o procedimento de rotina para microscopia eletrônica de varredura, com lavagem do material em tampão

fosfato 0,1 M pH 7,3 (três vezes de cinco minutos); pós-fixação em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão (por 30 minutos); desidratação em seqüência crescente de soluções de álcool etílico; secagem em aparelho ponto crítico CPD 020 (Balzer Union<sup>®</sup>) com CO<sub>2</sub> líquido; colagem dos materiais em suportes apropriados (*stubs*) e metalização em aparelho MED 010 (Balzer Union<sup>®</sup>), com camada de 10 nm de ouro em pó. As observações foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura Quanta 200 (Fei Company<sup>®</sup>), com voltagens variando de 10-20 kV e documentadas por fotografia digital com escala, no Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências de Botucatu.

## **Resultados**

### ***Comportamento reprodutivo***

Apenas no momento de soltura nos aquários e formação dos casais, é que se puderam observar alguns sinais de comportamento agonístico. Neste momento, os camarões esticam seus quelípodos maiores quando vêem o outro indivíduo, porém ao aproximar-se tocam e entrelaçam suas antenas e antênulas, como uma forma de reconhecimento. Uma vez reconhecido o sexo oposto, imediatamente abrigam-se juntos e nenhum sinal de agressividade ou briga foi registrado a partir deste momento.

O comportamento reprodutivo exibido foi similar em todos os eventos acompanhados, com diferenças apenas no tempo do comportamento de pré-copula, no qual variou desde alguns minutos até cerca de seis horas em alguns casais (tabela 1). Em todos os eventos registrados, o comportamento pré-copulatório iniciou-se assim que a tela divisória foi retirada do aquário. Ao notar a ausência da barreira, o macho desloca-se imediatamente em direção à fêmea em pós-muda. Não foi registrado nenhum tipo de corte ou dança realizado pelo macho, havendo apenas contato sutil das antenas e antênulas entre o casal. A fêmea neste primeiro momento aguarda a aproximação do macho e posteriormente caminha pelo aquário. O macho



persegue a fêmea na maior parte do tempo, tateando todo o seu corpo rapidamente (*tightening*) com seus quelípodos menores (primeiro e segundo pares) (figuras 1a, b). Enquanto o macho toca a fêmea com seus quelípodos menores, mantém seus quelípodos maiores em volta da fêmea.

A cópula ocorre quando a fêmea mostra-se receptiva ao macho, erguendo o abdome e movimentando os pleópodos rapidamente na sua frente por alguns segundos (figura 1c, d). O macho coloca-se em posição perpendicular ( $90^\circ$ ) (figura 1e), depois na posição abdome *versus* abdome, agora tateando mais a região das aberturas genitais da fêmea (figura 1f), e rapidamente gira o corpo, invertendo para uma posição perpendicular abdome *versus* cefalotórax, com uma inclinação de aproximadamente  $45^\circ$  (figura 1g). A transferência espermática acontece nesta posição, e o processo pode demorar de 9 a 14 segundos. Durante a transferência, os gonóporos ficam muito próximos, podendo-se observar o batimento rápido de todos pares de pleópodos da fêmea, e todos os pleópodos de um dos lados do macho. Os pleópodos do macho de um dos lados não podem ser observados.

O comportamento pós-copulatório pode ser observado a partir da separação do casal (figura 1h), que é de forma súbita e o macho pode distanciar-se com um movimento natatório rápido ou caminhar calmamente. Mesmo separados, o macho se mantém voltado para a fêmea e continua movimentar os pleópodos rapidamente por até 18 segundos. A fêmea bate seus pleópodos fortemente apenas três ou quatro vezes, com intervalos de tempo de dois segundos. Podem ocorrer reaproximações, porém não foi registrado *tightening* neste momento, nem cópulas consecutivas, apenas contatos sutis de antenas e antênulas. Imediatamente a fêmea procura abrigo enquanto o macho assume uma posição próxima.

A exteriorização dos ovos ocorre normalmente em poucos minutos após a cópula. Uma vez iniciado, o processo de exteriorização demora cerca de 10 minutos, ocorrendo sempre em uma região mais abrigada do aquário (atrás dos fragmentos de rochas). Para a realização do

processo, a fêmea mantém-se quase imóvel, com o abdome distendido e pleópodos imóveis, enquanto os quelípodos são mantidos à frente ao corpo. Na maior parte do tempo o macho acompanha próximo e voltado para a fêmea. Pode-se perceber nitidamente o esvaziamento da gônada pela transparência da carapaça e o aparecimento de ovos nos pleópodos durante o processo (figura 2).

### ***Análise de fêmeas recém-copuladas***

Entre todas as fêmeas recém copuladas que tiveram seus esternos analisados, nada pode ser constatado visualmente. Com auxílio de um estereomicroscópio, a massa espermática apresenta-se de forma transparente e em pequena quantidade, de difícil visualização. Após a realização da raspagem do esterno de quatro fêmeas recém-copuladas, todas apresentaram espermatozóides elípticos, confirmadas pelo esfregaço em lâmina. Três delas apresentaram poucas quantidades de espermatozóides, porém uma delas apresentou uma grande quantidade que puderam ser fotografados (figura 3). Após a realização da raspagem, todas as fêmeas analisadas exteriorizaram ovos, que não se desenvolveram e foram abortados em menos de 48 horas.

### ***Morfologia reprodutiva***

O aparelho reprodutor masculino de *S. hispidus* é formado por estruturas pareadas muito reduzidas, de difícil visualização pela transparência da carapaça. Todo o sistema reprodutivo está localizado na porção central do cefalotórax, em região posterior ao estômago e próxima ao coração (figura 4a). Os testículos são estruturas lobuladas, de coloração clara, medindo aproximadamente 1 mm de diâmetro (figuras 4b, c). Os vasos deferentes medem aproximadamente 4 mm de comprimento total, apresentando-se como tubos delgados não-enovelados e com a porção mediana mais alargada (figuras 4b, d).

Na porção final dos vasos deferentes se podem visualizar espermatozóides agrupados e imersos em uma matriz, o que caracterizaria um espermatóforo ou uma típica massa espermática (*spermatophoric mass*) (figura 5). Os espermatozóides observados na porção final do vaso deferente apresentam-se de forma elíptica simples e sem ornamentos, medindo aproximadamente 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro (figura 5). Os vasos deferentes originam-se na porção ventral mediana dos testículos, comunicando-se com o exterior por pequenas aberturas genitais arredondadas (aproximadamente 180  $\mu\text{m}$  de diâmetro), na base do quinto par de pereiópodos (figura 6).

O aparelho reprodutor feminino de *S. hispidus* é formado por estruturas pareadas e unidas, bem desenvolvidas, de fácil visualização pela transparência da carapaça. Os ovários são granuloso, e estão localizados principalmente na porção dorsal do cefalotórax (figura 7), dorsal e paralelamente ao trato digestivo. Os lobos anteriores alcançam a região anterior da carapaça, logo atrás dos olhos, enquanto lobos posteriores estão posicionados na região dorsal do abdome, alcançando até o terceiro somito abdominal (figura 7a). A extensão total da gônada, nas direções lateral e longitudinal, dependem do estágio de desenvolvimento ovariano. Em estágio de desenvolvimento avançado, os ovários possuem a coloração verde-escuro e ocupam quase toda a carapaça, bem como boa parte dos somitos abdominais 1, 2 e 3. O oviduto é tubular e curto, com espessura pouco maior de um oócito maduro (aproximadamente 520  $\mu\text{m}$ ) e comprimento de aproximadamente 3 mm (figura 7b). O oviduto liga o ovário diretamente ao meio externo pelas genitálias, que se abrem nas axilas da base do terceiro par de pereiópodos (quelípodos maiores). Neste caso, cada abertura genital feminina é uma fenda longitudinal que mede aproximadamente 0,5 mm, circundado por muitas cerdas plumosas densas (figura 8).

### ***Esternitos e pleópodos: dimorfismo sexual***

Em indivíduos machos de *S. hispidus*, as placas dos esternitos cefalotorácicos possuem algumas cerdas plumosas e espinhos muito evidentes nas suas bordas (figura 9a), que facilita a identificação sexual de indivíduos adultos. Na região dos esternitos cefalotorácicos das fêmeas, não se observa nenhuma estrutura específica para recebimento da massa espermática. Neste caso, os esternitos são desprovidos de espinhos e caracterizados pela presença de uma grande quantidade de cerdas plumosas nas suas margens, principalmente na junção com as bases dos pereiópodos e entorno das aberturas genitais (figura 9b). Os machos possuem ainda um espinho central bem evidente em cada esternito abdominal, o que não ocorre em fêmeas, auxiliando também na identificação correta dos sexos e manejo em laboratório (figura 10).

Os pleópodos são localizados ventralmente, sendo um par por segmento abdominal. Em ambos os sexos, o primeiro par é reduzido enquanto os outros têm formato muito semelhante entre si, com uma diminuição de tamanho em ordem crescente de posição (figura 11).

Em machos, o primeiro pleópodo é unirreme e bisegmentado, com um espinho evidente no protopodito. O segmento proximal possui 4 espinhos fortes e curtos, cerdas esparsamente plumosas na margem interna e cerdas plumosas na margem externa (figura 12a, b). O segmento distal tem forma pontiaguda com a extremidade diferenciada (figura 12c), com cerdas plumosas esparsas na margem (figura 12d). De forma geral, os pleópodos 2, 3, 4 e 5 possuem um protopodito globular, armado com espinhos fortes alinhados no centro e um na margem externa, juntamente com algumas cerdas simples e esparsamente plumosas mais curtas. Do protopodito partem um exopodito proximal e um endopodito mais distal, ambos achatados no sentido dorso-ventralmente, levemente pontiagudos, com fileiras de espinhos curtos na superfície ventral e cerdas plumosas marginais (figura 11). O segundo pleópodo, quando dobrado junto ao cefalotórax, não ultrapassa a base do quarto par de pereiópodos. Este mesmo pleópodo possui a metade proximal da margem interna do endopodito lisa.

No caso das fêmeas, o primeiro pleópodo também é reduzido, unirreme e bisegmentado (figura 13a). Ao contrário dos machos, o protopodito e segmento proximal são desprovidos de espinhos, possuindo muitas cerdas plumosas longas (figura 13b), organizadas em fileiras ou às vezes em tufos. O segmento distal é pontiagudo, com muitas cerdas plumosas longas por toda a margem (figura 13c). Os pleópodos 2, 3, 4 e 5 apresentam protopodito com um único espinho, às vezes nenhum, além de cerdas plumosas e esparsamente plumosas organizadas em fileiras. Tanto o exopodito (mais proximal) quanto o endopodito (mais distal) são achatados dorso-ventralmente e desprovidos de espinhos nas suas superfícies, porém com uma fileira de cerdas plumosas no terço final. Todos têm a forma mais arredondada e cerdas plumosas mais densas por toda a margem (figura 11). Neste caso, o segundo pleópodo quando dobrado junto ao cefalotórax alcança até a base do segundo par de pereiópodos.

## **Discussão**

### ***Comportamento reprodutivo***

Em laboratório, espécimes adultos de *Stenopus hispidus* exibem forte comportamento agonístico, quando colocados juntos em um mesmo aquário, principalmente se forem do mesmo sexo (Johnson Jr., 1969). Erros de identificação sexual, neste caso, podem acarretar em combates sérios com risco de morte para ambos os indivíduos envolvidos. Segundo Johnson Jr. (1969), quando os camarões são de tamanhos semelhantes e de sexo oposto, este comportamento agonístico é menos intenso. Assim, para a realização deste trabalho, os camarões foram selecionados quanto ao sexo ainda no saco plástico de transporte, sendo adicionados em cada aquário exemplares de sexo oposto e com tamanho aproximado, logo que chegaram ao laboratório. O comportamento agonístico pôde ser observado e monitorado durante a primeira aproximação do casal, particularmente, o reconhecimento do sexo oposto

pelo contato e entrelaçamento de antenas e antênulas, fato que não foi registrado posteriormente.

Este comportamento de reconhecimento do sexo oposto, por entrelaço de antenas e antênulas, talvez tenha sido relatado como um comportamento pré-copulatório em descrições de cópula anteriores para esta espécie. Zhang *et al.* (1998), removeram as fêmeas com ovos prestes a eclodir para outro aquário, e somente a retornavam ao aquário inicial com o macho pareado originalmente depois da eclosão das larvas e a realização da sua ecdise, cerca de 10 horas após a separação. Separando-se o casal por uma tela removível no mesmo aquário, como realizado neste trabalho, além de não submeter a fêmea em pós-muda a um estresse de manejo e de parâmetros (temperatura, salinidade, etc.), os camarões puderam manter contato visual, olfativo e táctil durante toda a noite. Dessa forma, o reconhecimento do sexo oposto não foi necessário para que a cópula ocorresse assim que a tela foi removida.

O comportamento pré-copulatório registrado caracterizou-se apenas pela perseguição da fêmea pelo aquário, toques sutis de antenas (diferente dos toques de reconhecimento comentados anteriormente) e o *tightening* realizado pelo macho em todo o corpo da fêmea durante o tempo da perseguição. Segundo Valenti (1985), toques com quelípodos em momentos que precedem a cópula são comuns em camarões de água doce do gênero *Macrobrachium* Bate, 1868.

Em descrições anteriores, Johnson Jr. (1969) também relata o entrelaço de antenas e antênulas, um tipo de dança de exibição do macho, além de um “abraço” com os quelípodos (*chelipeds surround*) como comportamentos pré-copulatórios. Zhang *et al.* (1998) registrou além do reconhecimento já comentado, um “suave movimento dos quelípodos grandes” e, assim como neste trabalho, nenhum tipo de dança foi observado.

A perseguição registrada neste trabalho é sutil, realizada por uma simples caminhada pelo aquário, sobre a areia e rochas, como parece ocorrer em *Sicyonia dorsalis* Kingsley, 1878

(ver Bauer, 1992). Outros camarões peneídeos como *Marsupenaeus japonicus* (Bate, 1888), *Litopenaeus schmidt* (Burkenroad, 1936), *L. setiferus* (Linnaeus, 1767) e *L. vannamei* (Boone, 1931) realizam rápidas perseguições natatórias nesse momento (Hudinaga, 1942; Bueno, 1990; Misamore & Browdy, 1996). Nesses casos, normalmente os machos encorajam as fêmeas com toques na região da base dos pereiópodos posteriores e tólico, utilizando seu rostro e região dorsal do cefalotórax. Somente quando as fêmeas estão receptivas, diminuem a velocidade da natação e erguem levemente seu abdome. Todo o processo assemelha-se com o que ocorre em *S. hispidus*, porém neste caso, o *tightening* é o que parece servir para encorajar a fêmea, que ergue e mostra seus pleópodos quando ela está de fato receptiva.

O momento da cópula em *S. hispidus* também se apresenta de forma semelhante ao que ocorre em camarões peneídeos. A posição abdome *versus* abdome que precede a transferência espermática é comum em muitas espécies com cópula já descritas (Bauer, 1991 e 1996). Pequenas diferenças observadas neste momento são devido ao fato de que as fêmeas de *S. dorsalis* mantêm-se muito próximas ao substrato, e por isso o macho não se alinha perfeitamente. Nos outros casos, a diferença se dá porque o processo ocorre durante o nado. O abraço final apresentado por *S. hispidus*, em uma orientação perpendicular com certa angulação para a transferência espermática, segue o padrão apresentado por muitas outras espécies de camarões Penaeoidea e Caridea com o comportamento de cópula conhecido (tabela 2).

### ***Morfologia reprodutiva e transferência espermática***

A morfologia geral dos aparelhos reprodutivos de *S. hispidus*, principalmente sua forma, segue um padrão anatômico comum a outros grupos de camarões. As diferenças, neste caso, são evidentes principalmente em relação ao tamanho e extensão da gônada quando desenvolvida.

Os ovários, por exemplo, possuem progressões posteriores paralelas e não propriamente fusionadas, comuns em Penaeoidea. Neste grupo, os ovários ocupam quase todo o espaço disponível do cefalotórax e, como em *Aristaemorpha foliacea* (Risso, 1826) e *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817), podem estender-se ao longo do abdome em uma cavidade dorsal, paralelamente ao trato digestivo (Levi & Vacchi, 1988; Quintero & Gracia, 1998). Camarões carídeos, por sua vez, possuem os ovários restritos ao cefalotórax, como em camarões das profundezas *Alvinocaris muricola* Willians, 1988 e em espécies dulcícolas do gênero *Macrobrachium* (ver Valenti, 1985; Bauer, 2004; Ramirez-Llodra & Segonzac, 2006). Em alguns casos, como *Hippolyte inermis* Leach, 1815, o ovário se estende dorsalmente até no máximo ao primeiro somito abdominal (Cobos *et al.* 2005).

O aparelho reprodutor masculino de *S. hispidus* é reduzido e restrito ao cefalotórax, fato comum em outros grupos de camarões. A morfologia geral neste caso assemelha-se com Caridea, que possuem os testículos em posição dorsal ao intestino e hepatopâncreas, e o vaso deferente como um duto longo simples, às vezes pouco enovelado (Bauer, 2004). Em alguns penaeoidea como *L. setiferus*, *Trachypenaeus similis* (Smith, 1885), *Farfantepenaeus duorarum* Burkenroad, 1939, *F. aztecus* (Ives, 1891) e *Xiphopenaeus kroyeri*, (Heller, 1862) o vaso deferente pode ser anatomicamente diferenciado em até três partes, sendo uma parte mais proximal, vaso deferente médio e vaso deferente distal, com uma ampola terminal (Bauer & Cash, 1991; Bauer & Min, 1993; Fransozo, 2008), o que não ocorre em Stenopodidea.

Em muitos crustáceos decápodos, os machos possuem os endopoditos dos pleópodos anteriores (primeiro e segundo pares) diferentes da forma natatória mais típica e primitiva, a forma de remo. Localizados posteriormente aos gonóporos, mesmo pequenas modificações nos endopoditos destes pleópodos estão intimamente relacionadas com a inseminação de fêmeas (Bauer, 1986; Zhang & Lin, 2004).



Em Stenopodidea, a inseminação diferencia-se de muitos grupos de Decapoda, já que nem todos os pleópodos anteriores parecem participar ativamente do processo de transferência espermática. Durante as cópulas registradas, todos os pleópodos do macho de um dos lados aparecem claramente movimentando-se e não participando ativamente da transferência espermática, enquanto o macho posiciona os gonóporos bem próximos à base dos pereiópodos posteriores da fêmea.

Em Dendrobranchiata, as modificações morfológicas para transferência espermática são geralmente complexas e variadas entre os táxons. Nesse grupo, os endopoditos dos primeiros pleópodos unem-se para formar uma estrutura elaborada morfológicamente, denominada petasma, enquanto o segundo par apresentam estruturas que são apêndices masculinos. Ambas as estruturas auxiliam na transferência dos espermatóforos diretamente para o téllico das fêmeas (Pérez-Farfante, 1975; Bauer, 1986, 1991; Pérez-Farfante & Kensley, 1997, Alfaro *et al.* 2003).

Em Pleocyemata, a variação morfológica é ainda maior. Em Brachyura, os machos possuem um sistema de injeção, em que extensões da parte distal do vaso deferente introduzem o conteúdo seminal na base dos primeiros pleópodos modificados em forma tubular. O segundo pleópodo também modificado serve como um pistão, que empurra essa massa espermática pelo primeiro pleópodo, diretamente para fêmea durante a cópula (Cronin, 1947; Hartnoll, 1969, Bauer, 1986; Diesel, 1991). Em Astacidea, de forma geral, cada endopodito do primeiro pleópodo masculino forma a metade de um canal espermático, que também pode ser inserido na abertura genital feminina durante a cópula. Neste caso, o segundo par de pleópodos possui longos apêndices masculinos que empurram a massa espermática para o seu destino (Farmer, 1974; Bauer, 1986; Waddy & Aiken, 1991).

Os pleópodos de *S. hispidus*, que são visíveis durante a cópula, parecem agir de uma maneira mais passiva, gerando um fluxo de água naquela região e impedindo a dispersão e

perda do sêmen no ambiente. Dos pleópodos do macho que não aparecem nas imagens, apenas o primeiro pleópodo possui alguma diferenciação que pode estar relacionado com a transferência da massa espermática propriamente dita. Este pleópodo, mesmo reduzido, possui a extremidade diferenciada, visível somente sob microscopia eletrônica de varredura, enquanto o segundo é morfologicamente similar aos demais, em forma típica de remo.

Em Caridea, no endopodito do primeiro par de pleópodos podemos encontrar diminutos ganchos para engate denominados *cinccinuli*, e um apêndice masculino no endopodito do segundo par de pleópodos (Bauer, 1976, 1986, 2004). Embora estas modificações nos pleópodos anteriores sejam essenciais para o processo de transferência espermática em algumas espécies de Caridea, como por exemplo, *Palaemonetes pugio* Holthuis 1949, *Heptacarpus sitchensis* (Brandt, 1851) e *H. pictus* Stimpson, 1851 (Bauer, 1976; 1986; Berg & Sandifer, 1984; Wicksten *et al.*, 1996; Bauer & Holt, 1998; Laubenheimer & Rhyne, 2008), os autores Zhang & Lin (2004) provaram experimentalmente que camarões da espécie *Lysmata wudermanni* (Gibbes, 1850) têm capacidade de realizar a transferência espermática com sucesso, mesmo com os pleópodos anteriores removidos. Bauer (2004) cita ainda que machos do gênero *Synalpheus* Bate, 1888 não possuem apêndice masculino, e *Thor manningi* Chace, 1972, além de não possuir o respectivo apêndice, também são desprovidos de *cinccinuli*. Em *Lysmata amboinensis* De Man, 1888, apenas o primeiro par de pleópodos são necessários para transferir com sucesso a massa espermática para o esterno de fêmeas (Fiedler, 2000).

Phillips *et al.* (1980) e Bauer (1986) citam, ainda, que Palinura e alguns Anomura também não se encaixam na tendência geral dos Decapoda, com transferência e estocagem espermática de forma muito complexa. Segundo esses autores, machos da maioria das espécies de lagosta não possuem gonopódios e a massa espermática transferida tem a forma de tubos com espermatozóides rodeados por matrizes protetoras e adesivas, colados

diretamente entre os pereiópodos posteriores da fêmea durante a cópula. Algo parecido ocorre com o ermitão *Clibanarius vittatus* (Bosc, 1802). Nessa espécie, a massa espermática é aplicada diretamente do gonópodo masculino com substâncias adesivas na superfície do esterno da fêmea, sem o uso de gonopódios ou qualquer estrutura similar. Nos machos de *C. vittatus* o primeiro par de pleópodos é ausente e o segundo par é composto por estruturas simples, sem modificações aparentes na sua forma típica (Hess & Bauer, 2002).

O fato da massa espermática em *S. hispidus* já depositada no esterno da fêmea apresentar-se de coloração transparente e em quantidade diminuta, também dificulta a compreensão do modo correto da transferência espermática nesta espécie. Provavelmente por este motivo, Zang *et al.* (1998) analisando fêmeas desta espécie recém-copuladas, não puderam observar a massa espermática aderida diretamente ao seus esternitos cefalotorácicos, mesmo sob estereomicroscópio. Estes autores sugeriram que o espermatóforo poderia ser depositado em uma região mais interna do poro genital feminino e a fecundação ocorreria internamente ao corpo da fêmea, como ocorre na espécie *Crangon crangon* (Linnaeus, 1758), um carídeo com reprodução atípica (Boddeke *et al.* 1991). De fato, a observação direta da região ventral não indica a presença de uma massa espermática aderida ali. Porém, os espermatozóides detectados em microscópio pela raspagem dos esternitos cefalotorácicos de fêmeas recém-copuladas podem confirmar a hipótese anteriormente levantada por Balss (1944), de que tanto a deposição de esperma quanto a fecundação ocorrem externamente.

Os Stenopodidea possuem um nível reduzido de complexidade na transferência espermática, assim como ocorre na maioria dos camarões carídeos. A massa espermática em Caridea é simples, e como em *Macrobrachium rosembergii* De Man, 1879, fica aderida aos esternitos cefalotorácicos da fêmea, entre os pereiópodos posteriores, por meio de substâncias mucosas que envolvem os espermatozóides (Chow *et al.* 1982; Bauer, 1986, 2004). Em geral, fêmeas de Caridea não possuem estruturas para estoque de esperma. Além de *C. crangon*,

onde o macho deposita a massa espermática diretamente nos ovidutos das fêmeas, e pode ser considerado um tipo de estocagem (Boddeke *et al.* 1991), apenas outras três espécies da família Processidae apresentam estruturas similares a um téllico do tipo fechado, e uma espécie da família Atyidae apresenta uma modificação no esterno, homóloga a um téllico do tipo aberto. Em todos estes casos, a estocagem é por um curto período de tempo, não ultrapassando um ciclo reprodutivo (Correa & Thiel, 2003).

Em Stenopodidea, além da matriz em que os espermatozóides estão imersos mostrar-se evidente na porção final dos vasos deferentes, a grande quantidade de cerdas plumosas densas na região do esterno e no entorno dos gonóporos femininos também podem auxiliar na adesão da massa espermática até o momento da fecundação, corroborando com a hipótese de uma eventual fecundação externa. Ainda, o ato da fêmea de *S. hispidus* movimentar fortemente os pleópodos logo após a cópula, pode auxiliar na fixação da massa espermática, já que o seu segundo par de pleópodos recobrem todo o esterno, alcançando até a base dos pereiópodos anteriores. Desta forma, os oócitos maduros podem ser fecundados conforme vão sendo exteriorizados em sentido aos pleópodos para a sua encubação final, como ocorre na maioria das espécies de Caridea (Bauer, 1986, 2004; Correa & Thiel, 2003; Zhang & Lin, 2004).

Embora muitas informações sobre a transferência espermática em Stenopodidea possam ser obtidas por meio da anatomia e descrições morfológicas, principalmente com o uso de microscopia eletrônica de varredura, outros estudos complementares ainda devem ser realizados. Além de análises com outras espécies do grupo, experimentos em ablação de pleópodos, como os realizados por Bauer (1976), Wicksten *et al.* (1996) e Zhang & Lin (2004), e cortes histológicos seriados dos ovidutos de fêmeas recém-copuladas, como realizado por Boddeke *et al.* (1991), podem fortalecer ainda mais a hipótese aqui testada.

Tabela 1: Comportamento reprodutivo em *Stenopus hispidus* observados com sucesso em nove casais diferentes, em condições laboratoriais (26°C). Em todos os casos observados, as fêmeas exteriorizaram ovos férteis.

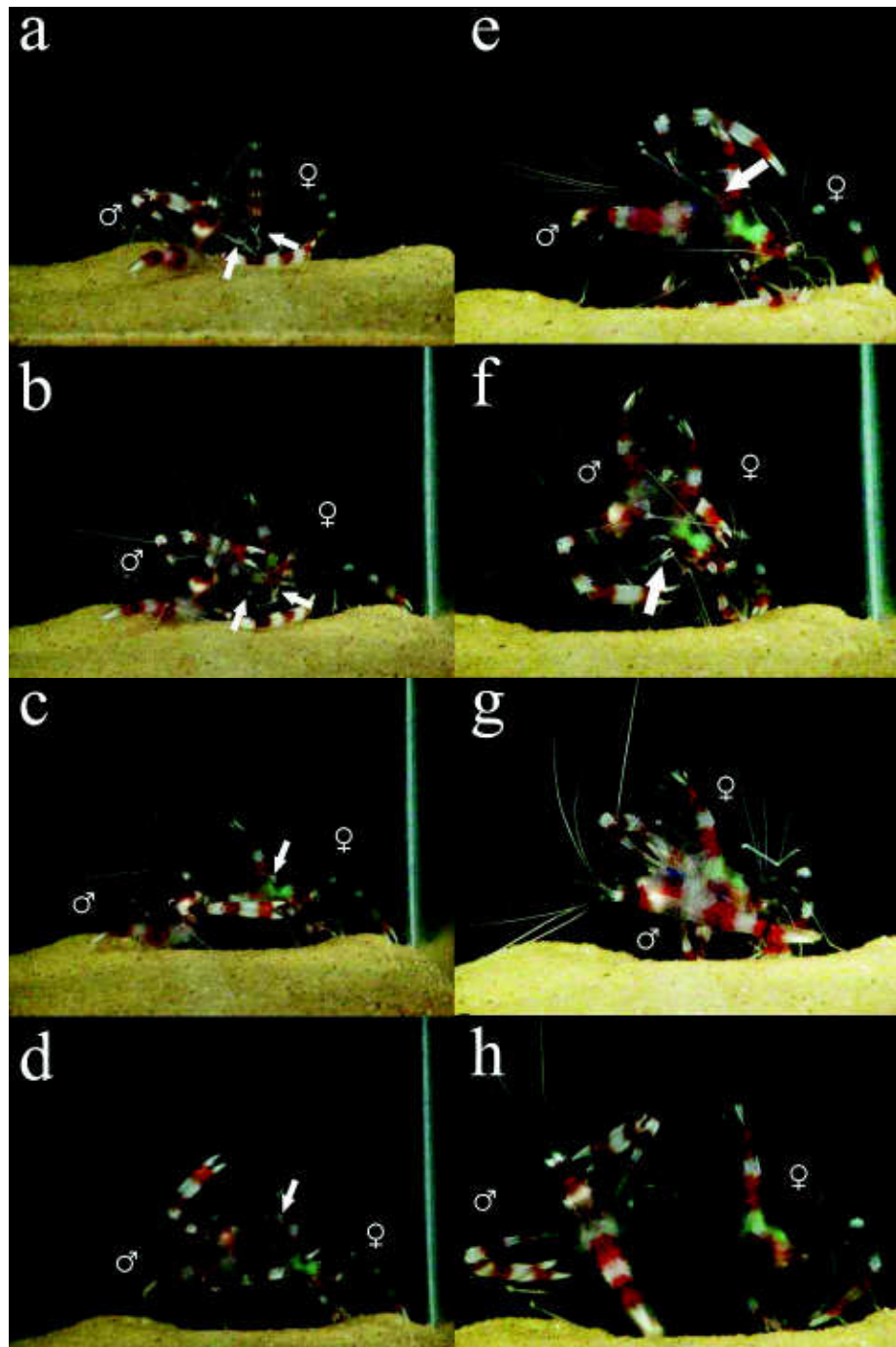
Número do casal	Tamanho do macho*	Tamanho da fêmea*	Comportamento pré-copulatório		Cópula		Comportamento pós-copulatório	
			<i>Tightening</i> (minutos)	Fêmea mostrando pleópodos (segundos)	Transferência espermiática (segundos)	Pleópodos do macho visíveis (lado)	Separação	<i>Tightening</i> ou cópula posterior
1	12,0	13,4	180	12	10	Direito	Calmamente	Não
2	13,1	12,6	49	16	11	Direito	Calmamente	Não
3	12,0	13,0	216	15	10	Direito	Rápida	Não
4	11,5	12,8	22	14	9	Esquerdo	Calmamente	Não
5	10,3	11,2	250	13	11	Direito	Calmamente	Não
6	10,2	10,7	200	17	12	Esquerdo	Calmamente	Não
7	11,0	10,8	145	14	10	Esquerdo	Rápida	Não
8	12,7	12,1	340	13	14	Direito	Calmamente	Não
9	11,0	11,9	360	13	11	direito	Rápida	Não

\* comprimento do cefalotórax, distância tomada da margem pós-orbital até a extremidade posterior da carapaça, excluindo-se o rosto.

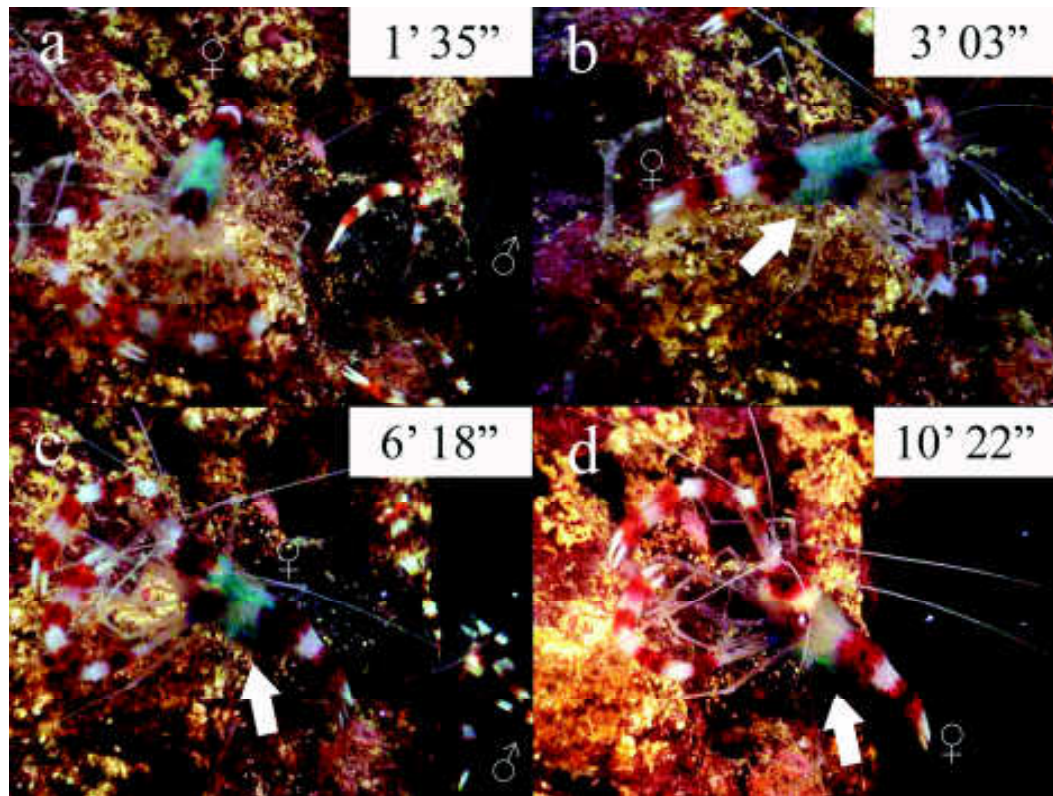
Tabela 2: Espécies de camarões com comportamento de cópula descrito, que realizam abraço em uma orientação perpendicular

	<i>Espécie</i>	<i>Referência</i>
<b>Penaeoidea</b>	<i>Penaeus monodon</i>	Primavera, 1979
	<i>Penaeus semisulcatus</i>	Browdy, 1989*
	<i>Litopenaeus schmitti</i>	Bueno, 1990
	<i>Litopenaeus setiferus</i>	Misamore & Browdy, 1996
	<i>Litopenaeus vanamei</i>	Misamore & Browdy, 1996
	<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	De Saint-Brisson, 1985
	<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Brisson, 1986
<b>Caridea</b>	<i>Sicyonia dorsalis</i>	Bauer, 1992
	<i>Heptacarpus pictus</i>	Bauer, 1976
	<i>Palaemonetes pugio</i>	Berg & Sandifer, 1984
	<i>Crangon Crangon</i>	Boddeke <i>et al.</i> 1991
	<i>Macrobrachium rosebergii</i>	Chow <i>et al.</i> 1982
<b>Stenopodidea</b>	<i>Stenopus hispidus</i>	<b>Presente trabalho</b>

\**apud* Misamore & Browdy, 1996

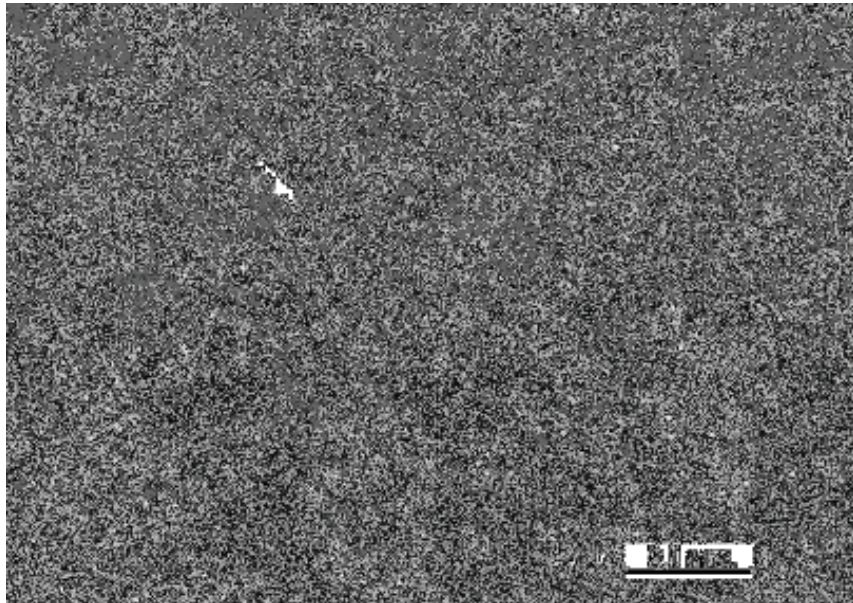


**Figura 1:** Comportamento de cópula em *Stenopus hispidus*: **a, b**) *tightening* pré-copulatório durante a perseguição; **c, d**) fêmea receptiva mostrando os pleópodos; **e**) macho em posição perpendicular (90°); **f**) macho coloca-se em posição *abdomen versus abdomen* (tateando a região das aberturas genitais da fêmea); **g**) macho dá um giro rápido, invertendo para posição perpendicular (aproximadamente 45°); **h**) separação do casal (setas brancas mostram atividade dos quelípodos menores do macho).

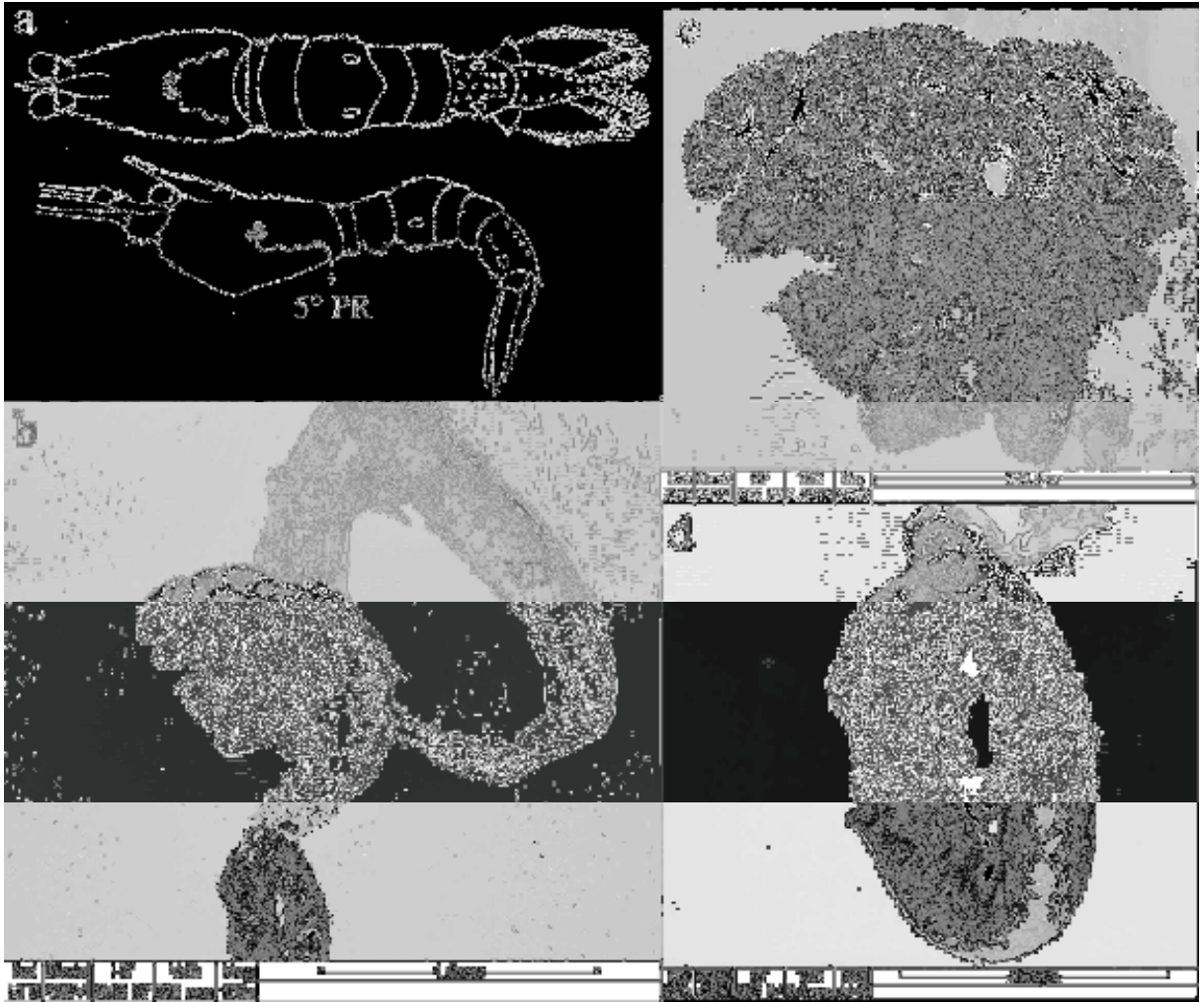


**Figura 2:** Fecundação em *Stenopus hispidus*. Após a cópula, a fêmea refugia-se e inicia o processo de exteriorização dos oócitos maduros, nitidamente visível pela transparência da carapaça. Os oócitos são fecundados conforme são exteriorizados, em sentido aos pleópodos. Neste caso acompanhado, em menos de dois minutos após a cópula pode-se notar a fêmea com quelípodos à frente (**a**). Os ovos podem ser observados já aderidos aos pleópodos em pouco mais de três minutos (**b e c**), e a gônada mostra-se completamente esgotada em 10 minutos (**d**). Notar a presença do macho durante o processo. Números acima das fotos indicam o tempo percorrido (minutos e segundos) e as setas brancas indicam os ovos aderidos aos pleópodos.

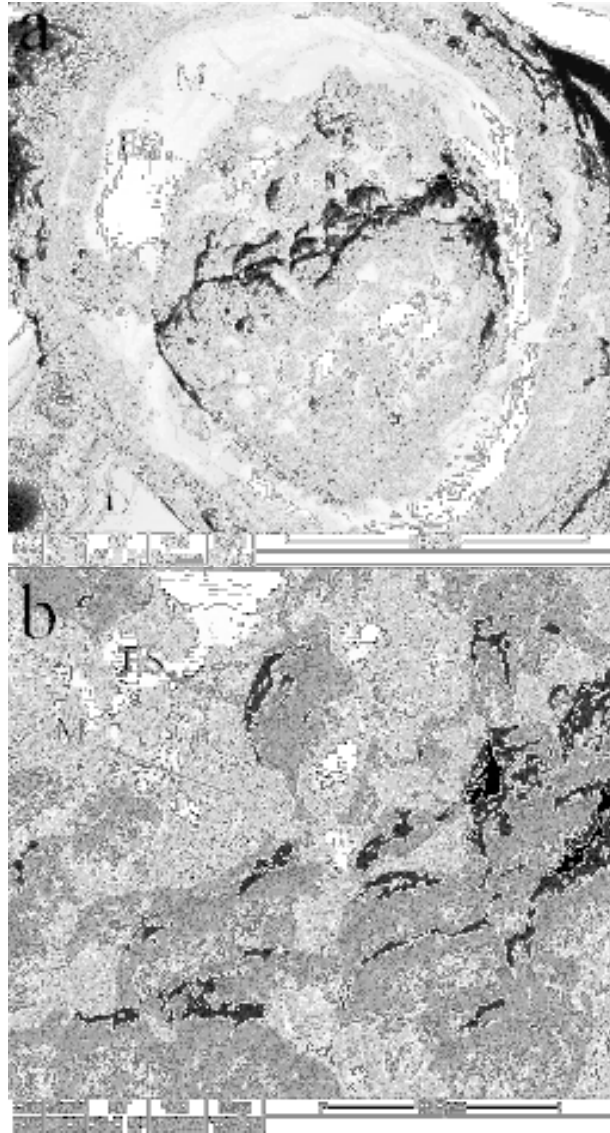




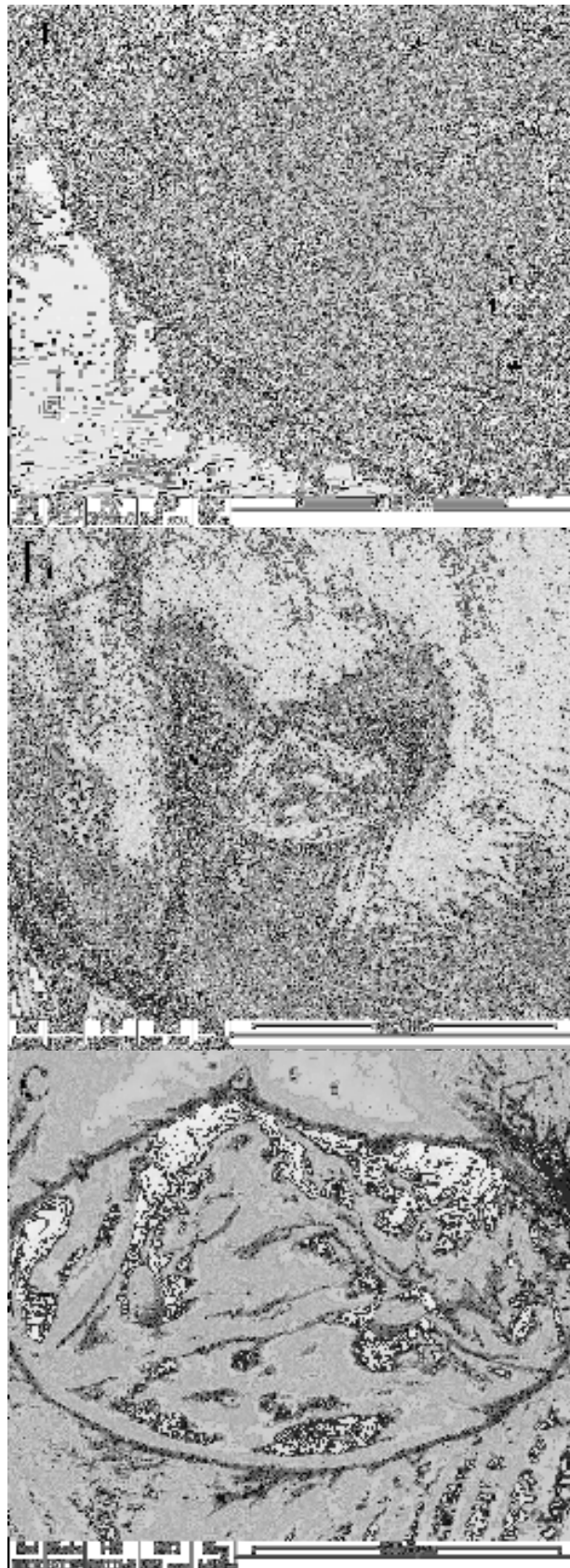
**Figura 3:** Fotografia em contraste de fase de material depositado pelo macho nos somitos cefalotorácicos de *Stenopus hispidus*. Seta branca indica espermatozóides (aumento 100x).



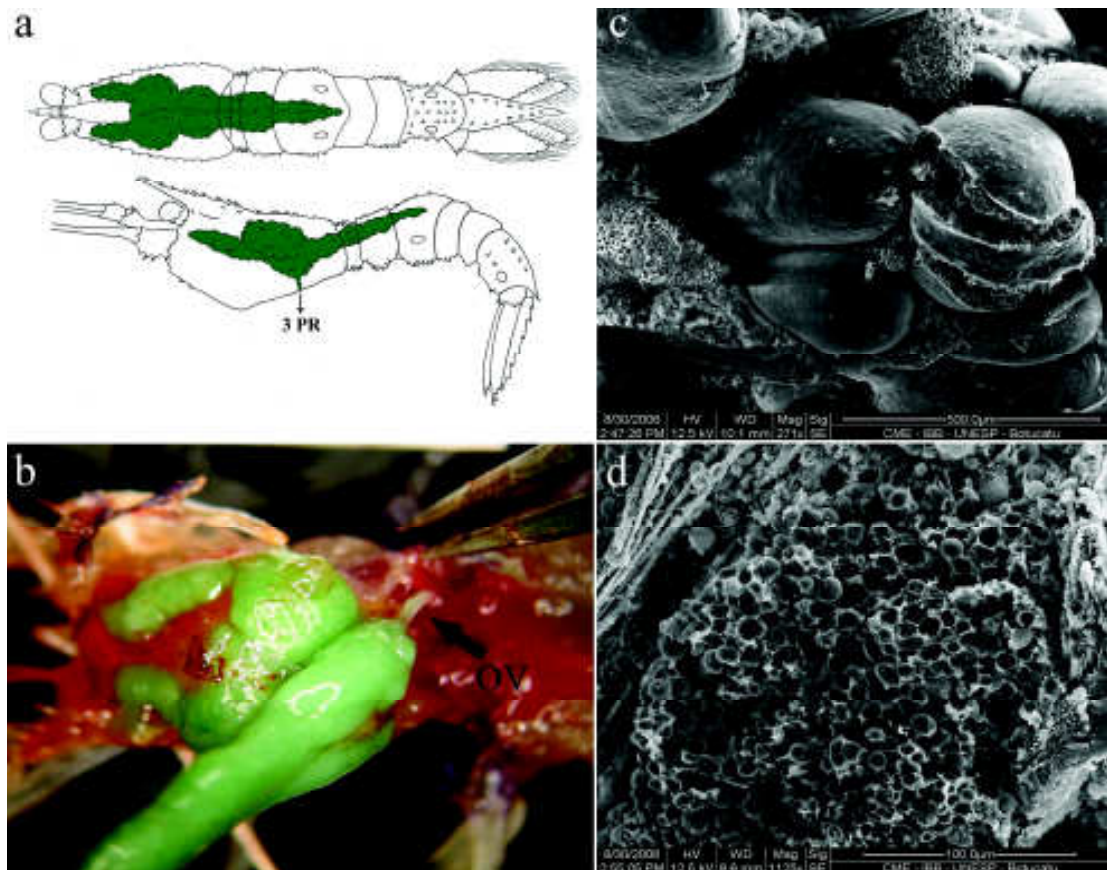
**Figura 4:** Aparelho reprodutor masculino de *Stenopus hispidus*. **a)** esquema da posição do sistema reprodutivo restrito ao cefalotórax (5°PR = quinto pereiópodo) em vista dorsal e lateral esquerda; **b)** fotografia de microscopia eletrônica de varredura do aparelho reprodutivo totalmente removido (T = testículo, VD = vaso deferente); **c)** detalhe de um testículo inteiro (L = lobos); **d)** detalhe da porção final do vaso deferente (VD = vaso deferente, ES = espermatóforo).



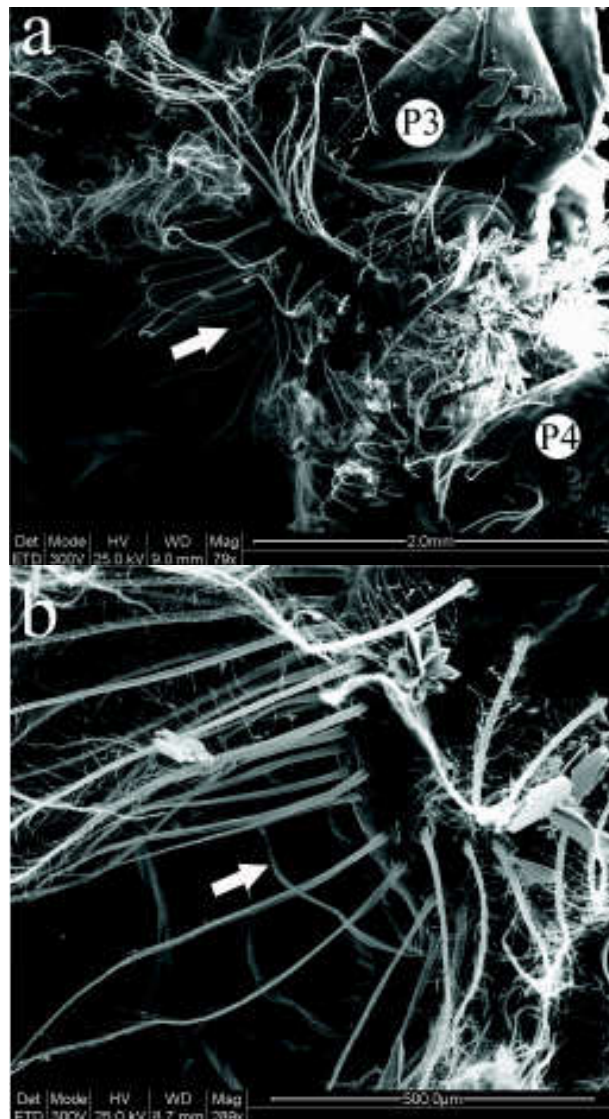
**Figura 5:** Fotografia de microscopia eletrônica de varredura da massa espermática de *Stenopus hispidus*; **a)** massa espermática visível na porção final do vaso deferente; **b)** detalhe de um espermatozóide envolto por matriz extracelular. M = matriz extracelular, ES = espermatozóide, PVD = parede do vaso deferente.



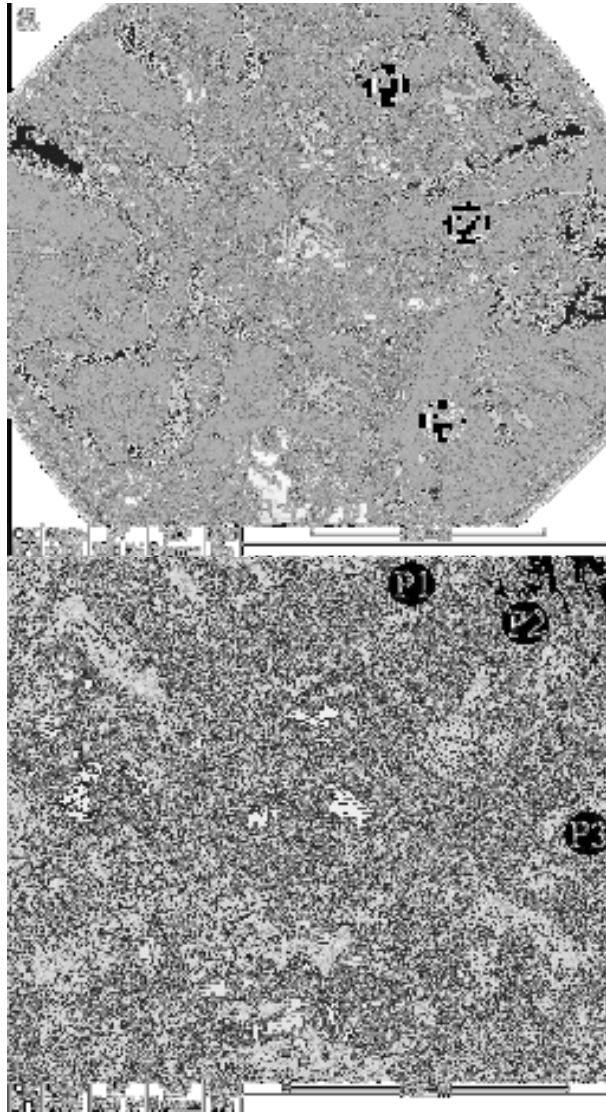
**Figura 6:** Fotografia de microscopia eletrônica de varredura do poro genital masculino de *Stenopus hispidus*. **a)** visão geral da coxa do quinto par de pereiópodos; **b e c)** poro genital masculino em detalhe.



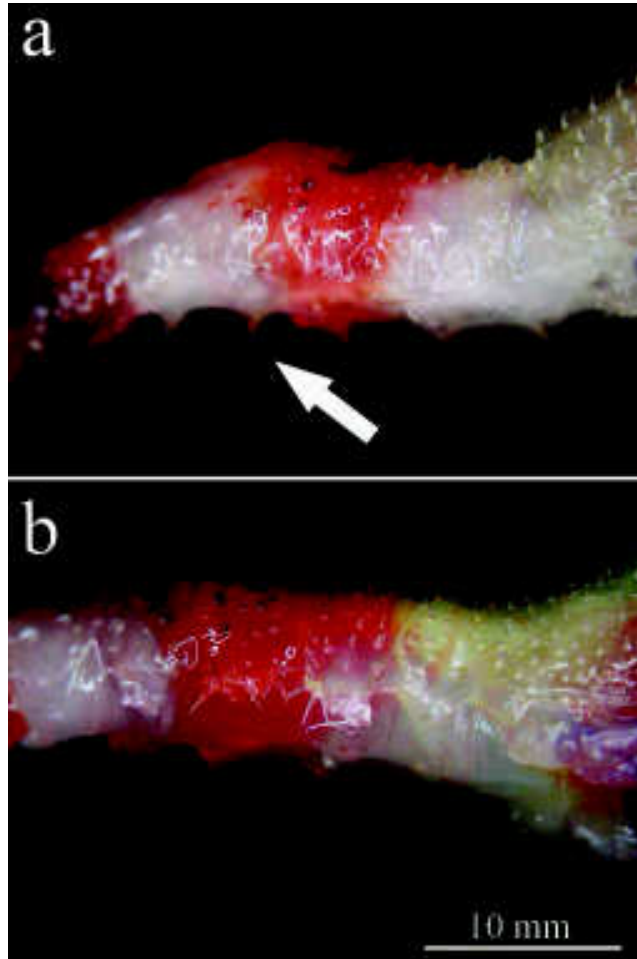
**Figura 7:** Aparelho reprodutor feminino de *Stenopus hispidus*: **a)** esquema da posição do sistema reprodutivo, ocupando grande parte do cefalotórax e avançando até o terceiro somito abdominal (3°PR = terceiro pereiópodo) em vista dorsal e lateral; **b)** fotografia do ovário de um animal com a carapaça removida mostrando o oviduto (OV = oviduto); **c)** fotografia de microscopia eletrônica de varredura de um ovário em estágio avançado (OM = oócito maduro); **d)** detalhe de um oócito maduro rompido, mostrando grânulos de vitelo.



**Figura 8:** Fotografia de microscopia eletrônica de varredura do poro genital feminino de *Stenopus hispidus*. **a)** visão geral da base do terceiro pereiópodo (seta indica fenda genital; PR3 = terceiro pereiópodo; PR4 = quarto pereiópodo); **b)** fenda genital feminina circundada por cerdas plumosas em detalhe.

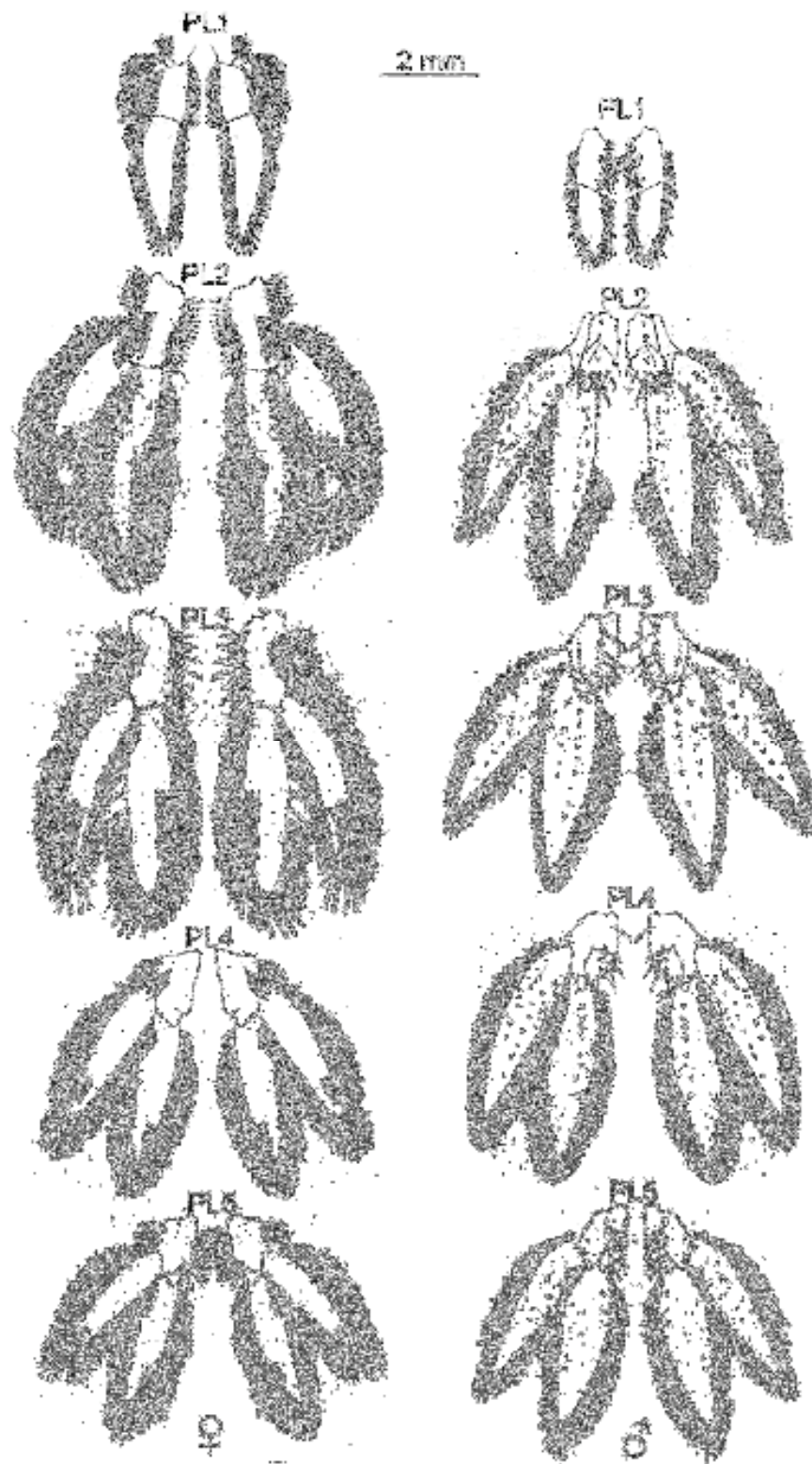


**Figura 9:** Fotografia de microscopia eletrônica de varredura da região dos esternitos cefalotorácicos de *Stenopus hispidus*. Acima, visão geral do esterno de um macho; Abaixo, visão geral do esterno de uma fêmea (P1 = primeiro pereiópodo; P2 = segundo pereiópodo; P3 = terceiro pereiópodo).

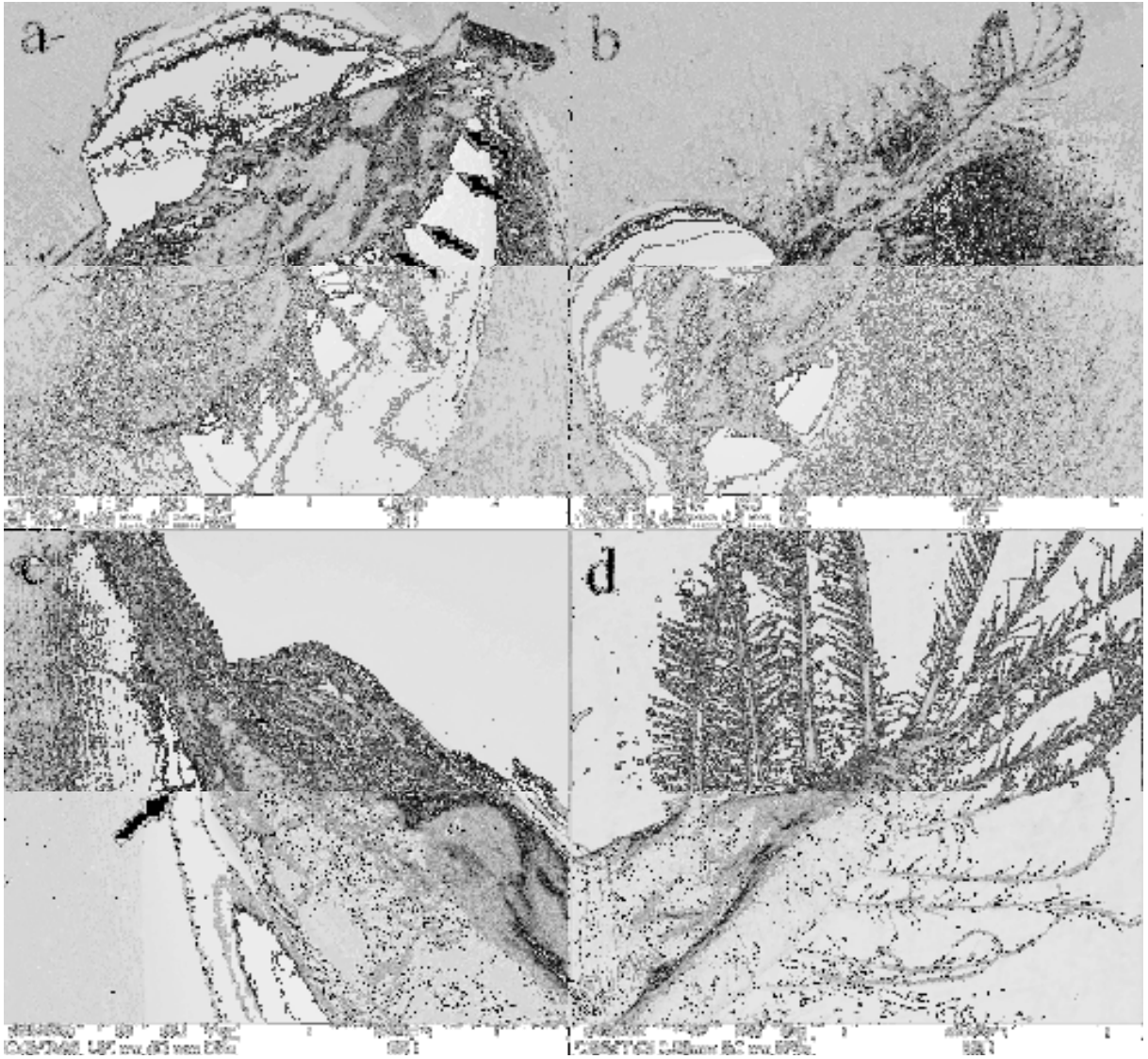


**Figura 10:** Visão lateral do abdome de *Stenopus hispidus* adultos, com pleópodos removidos. **a)** macho (seta indicando espinhos nos esternitos abdominais); **b)** fêmea.

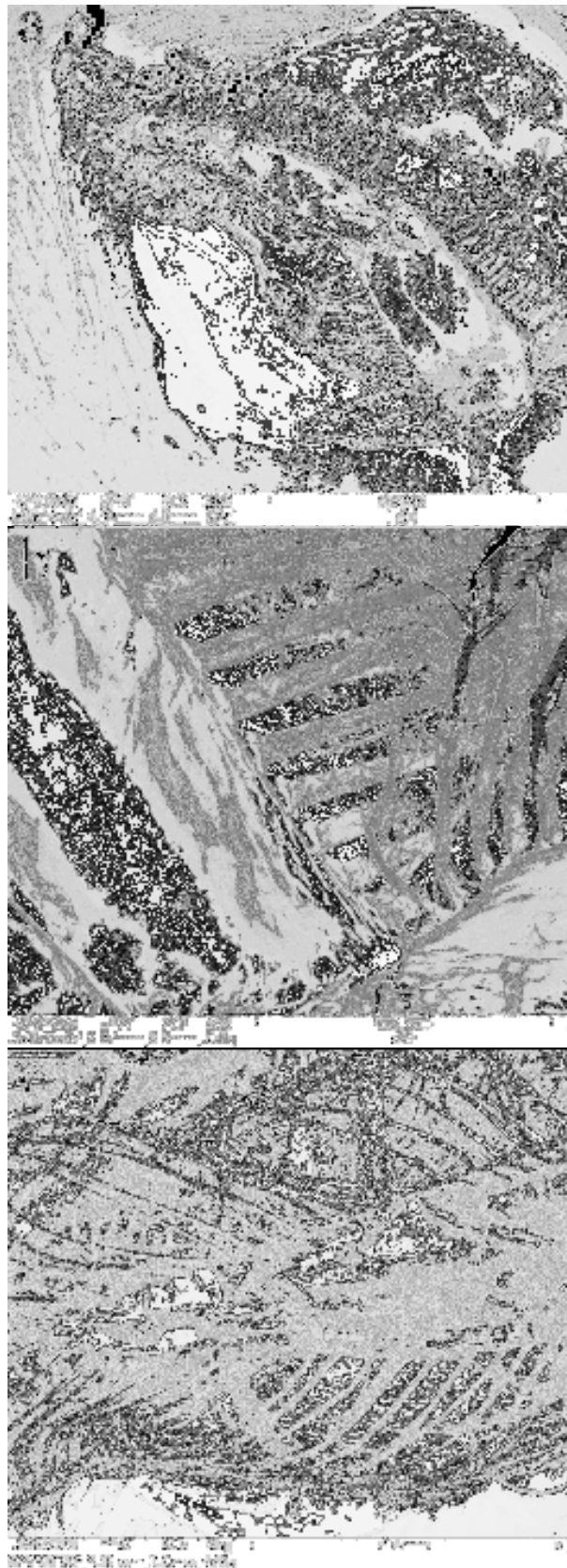




**Figura 11:** Desenho geral dos pleópodos de *Stenopus hispidus*. Coluna da esquerda, pleópodos femininos e coluna da direita, pleópodos masculinos (PL1 = primeiro pleópodo; PL2 = segundo pleópodo; PL3 = terceiro pleópodo; PL4, quarto pleópodo; PL5 = quinto pleópodo).



**Figura 12:** Fotografias de microscopia eletrônica de varredura do primeiro pleópodo masculino de *Stenopus hispidus*: **a e b)** visão geral do primeiro pleópodo (setas indicam os quatro espinhos no protopodite); **c)** detalhe da extremidade pontiaguda do segmento distal; **d)** detalhe das cerdas plumosas marginais do segmento distal.



**Figura 13:** Fotografias de microscopia eletrônica de varredura do primeiro pleópodo feminino de *Stenopus hispidus*: **a)** visão geral do primeiro pleópodo **b)** detalhe das cerdas plumosas densas da interface segmento proximal/distal; **c)** detalhe das cerdas plumosas densas marginais do segmento distal.

## Referências

- Alfaro, J.; Muñoz, N.; Vargas, M. & Komen, J. 2003. Induction of sperm activation in open and closed *thelycum* in penaeoid shrimps. *Aquaculture*, 216: 371-381.
- Balss, H. 1944. Decapoda. In: Bronn, H. G. (Ed.) *Klassen und Ordnungen des Tierreichs*. Akaemische Verlagsgesellschaft, Leipzig, Germany, 592-626 p.
- Bauer, R. T. 1976. Mating behaviour and spermatophores transfer in the shrimp *Heptacarpus pictus* (Stimpson) (Decapoda: Caridea: Hippotyidae). *Journal of Natural History*, 10: 415-440.
- Bauer, R. T. 1986. Phylogenetic trends in sperm transfer and storage complexity in decapod crustaceans. *Journal of Crustacean Biology*, 6(3): 313-325.
- Bauer, R. T. 1991. Sperm transfer and storage structures in penaeoid shrimps: a functional and phylogenetic perspective. In: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 184-207.
- Bauer, R. T. 1992. Repetitive copulation and variable success of insemination in the marine shrimp *Sicyonia dorsalis* (Decapoda: Penaeoidea). *Journal of Crustacean Biology*, 12(2): 153-160.
- Bauer, R. T. 1996. A test of hypotheses on male mating systems and female molting in decapod shrimp, using *Sicyonia dorsalis* (Decapoda: Penaeoidea). *Journal Crustacean Biology*, 16: 429-436.
- Bauer, R. T. 2004. *Remarkable Shrimps: Adaptations and Natural History of the Carideans*. University of Oklahoma Press, Norman, 282 p.
- Bauer, R. T. & Cash, C. E. 1991. Spermatophore structure and anatomy of the ejaculatory duct in *Penaeus setiferus*, *P. duorarum*, and *P. aztecus* (Crustacea: Decapoda): homologies and functional significance. *Transactions of the American Microscopical Society*, 110(2): 144-162.
- Bauer, R. T. & Holt, G. J. 1998. Simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae): an undescribed sexual system in the decapod Crustacea. *Marine Biology*, 132(2): 223-235
- Bauer, R. T. & Min, L. J. 1993. Spermatophores and plug substance of the marine shrimp *Trachypenaeus similis* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae): formation in the male reproductive tract and disposition in the inseminated female. *Biological Bulletin*, 185: 174-185.

- Berg, A. V. & Sandifer, P. A. 1984. Mating behavior of the grass shrimp *Palaemonetes pugio* Holthuis (Decapoda, Caridea). *Journal Crustacean Biology*, 3: 417-424.
- Blades, P. I. & Youngbluth, M. J. 1980. Morphological, physiological, and behavioral aspects of mating calanoid copepods. *In: Kerfoot, W. C. (Ed.) Evolution and Ecology of Zooplankton Communities*. University Press of New England, Hanover, pp. 39-51.
- Blades-Eckelbarger, P. I. 1991. Functional morphology of spermatophores and sperm transfer in calanoid copepods. *In: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 184-207.
- Boddeke, R.; Bosschieter, J. R. & Goudswaard, P. C. 1991. Sex change, mating, and sperm transfer in *Crangon crangon* (L.). *In: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 246-270.
- Brisson, S. 1986. Observations on the courtship of *Penaeus brasiliensis*. *Aquaculture*, 53: 75-78.
- Broocks, W. K. & Herrick, F. H. 1891. The embriology and metamorphosis of the Macrourea. *Memoirs of the National Academy of Sciences*, 5: 321-576.
- Bueno, S. L. S. 1990. Maturation and spawning of the white shrimp *Penaeus schmitti* Burkenroad, 1936, under large scale rearing conditions. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21: 170-179.
- Caldwell, R. L. 1991. Variation in reproductive behavior in stomatopod Crustacea *In: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 67-90.
- Chockley, B. R. & St. Mary, C. M. 2003. Effects of body size on growth, survivorship, and reproduction in the banded coral shrimp, *Stenopus hispidus*. *Journal Crustacean Biology*, 23(4): 836-848.
- Chow, S. 1982. Male reproductive system and fertilization of the Palaemonid shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48: 177-183.
- Cobos, V.; Díaz, V.; Raso, G.; Enrique, J. & Manjón-Cabeza, M. E. 2005. Insights on the female reproductive system in *Hippolyte inermis* (Decapoda, Caridea): is this species really hermaphroditic? *Invertebrate Biology*, 124(4): 310-320.

- Coelho, P. A. & Ramos-Porto, M. 1998. Malacostraca. Eucarida. Stenopodidea. *In*: Young, P. S. (Ed.) *Catalogue of Crustacea of Brazil*. Série Livros n. 6, Museu Nacional, Rio de Janeiro, pp. 323-324.
- Cohen, A. C. & Morin, J. G. 1990. Patterns of reproduction in Ostracoda: a review. *Journal Crustacean Biology*, 9: 287-340.
- Colin, P. L. 1978. *Carribean Reef Invertebrates and Plants*. THF Publications, Inc., Ltd., Neptune City, 512 p.
- Correa, C. & Thiel, M. 2003. Mating systems in caridean shrimp (Decapoda: Caridea) and their evolutionary consequences for sexual dimorphism and reproductive biology. *Revista Chilena de Historia Natural*, 76: 187-203.
- Cronin, L. E. 1947. Anatomy and histology of the male reproductive system of the *Callinectes sapidus*, Rathbun. *Journal of Morphology*, 81(2): 209-239.
- De Saint-Brisson, S. C. 1985. The mating behavior of *Penaeus paulensis*. *Crustaceana*, 50: 108-110.
- Diesel, R. 1991. Sperm competition and the evolution of mating behavior in Brachyura, with special reference to spider crabs (Decapoda, Majidae). *In*: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 145-163.
- Farmer, A. S. D. 1974. Reproduction in *Nephrops norvegicus* (Decapoda: Nephropidae). *Journal of Zoology*, 174: 161-183.
- Fiedler, G. C. 2000. Sex determination and reproductive biology of two caridean shrimp genera: *Hymenocera* and *Lysmata*. Ph.D. Dissertation, University of Hawaii, 220p.
- Fletcher, D. J., Kötter, I., Wunsch, M. & Yasir, I. 1995. Preliminary observations on the reproductive biology of ornamental cleaner prawns. *International Zoology Yearbook*, 34: 73-77.
- Fransozo, V. 2008. Morfologia dos caracteres sexuais secundários e caracterização gonadal masculina em *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Dendrobranchiata, Penaeoidea). M.Sc. Dissertation, Universidade Estadual Paulista, 109p.

- Gregati, R. A.; Pinheiro, A. P. & Cobo, V. J. 2006. New records of *Stenopus hispidus* Olivier, 1811 (Stenopodidae) and *Enoplometopus antillensis* Lütken, 1865 (Enoplometopidae) in the Southeastern of the Brazilian coast. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 1(1): 20-23.
- Hartnoll, R. G. 1969. Mating in the Brachyura. *Crustaceana*, 16: 161-181.
- Hazlett, B. A. 1975. Ethological analyses of the reproductive behavior in marine Crustacea. *Publicazioni della Stazione Zoologica di Napoli*, 39: 677-695.
- Hess, G. S. & Bauer, R. T. 2002. Spermatophore transfer in the hermit crab *Clibanarius vittatus* (Crustacea, Anomura, Diogenidae). *Journal of Morphology*, 153: 166-175.
- Hinsch, G. W. 1991. Structure and chemical content of the spermatophores and seminal fluid of reptantian decapods. *In: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 290-307.
- Holthuis, L. B. 1946. The Stenopodidae, Nephropsidae, Scyllaridae and Palinuridae. The Decapoda, Macrura of the Snellius Expedition 1. *Temminckia*, 7: 1-178.
- Holthuis, L. B. 1993. *The recent genera of the Caridean and Stenopodidean shrimps (Crustacea, Decapoda) with an appendix on the order Amphionidacea*. Nationaal Natuurhistorisch Museum, Leiden, 328 p.
- Hudinaga, M. 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus*. *Japanese Journal of Zoology*, 10: 305-393.
- Johnson Jr., V. R. 1969. Behavior associated with pair formation in the banded shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier). *Pacific Science*, 23: 40-50.
- Johnson Jr., V. R. 1977. Individual recognition in the banded shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier). *Animal Behavior* 25: 418-428.
- Jonasson, M. 1987. Fish cleaning behavior of shrimp. *Journal of Zoology*, 213: 117-131.
- Kronenberger, K.; Brandis, D.; Turkay, M. & Storch, V. 2004. Functional morphology of the reproductive system of *Galathea intermedia* (Decapoda: Anomura). *Journal of Morphology*, 262: 500-516.

- Kruczynski, W. L. & Jenner, C. E. 1969. *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Decapoda, Natantia, Stenopodidae), a Northern on the East coast of the U.S.A. *Crustaceana*, 16: 105-106.
- Laubenheimer, H. & Rhyne, A. L. 2008. Experimental confirmation of protandric simultaneous hermaphroditism in a caridean shrimp outside of the genus *Lysmata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88 (2): 301-305.
- Levi, D. & Vacchi, M. 1988. Macroscopic scale for simple and rapid determination of sexual maturity in *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1826) (Decapoda: Penaeioidea). *Journal of Crustacean Biology*, 8: 532-538.
- Limbaugh, C.; Pederson, H. & Chace, F. A. 1961. Shrimps that clean fishes. *Bulletin of Marine Science*, 11(2): 237-257.
- Lukens, R. 1978. Notes on *Stenopus scutellatus* and *Stenopus hispidus* (Decapoda, Stenopodidae) from Mississippi. *Gulf Research Reports*, 6: 75-76.
- Mantelatto, F. L. M.; Scelzo, M. A. & Tudge, C. C. 2009. Morphological and morphometric appraisal of the spermatophores of the southern hermit crab *Isocheles sawayai* Forest and San Laurent, 1968 (Anomura: Diogenidae), with comments on gonopores in the both sexes. *Zoologischer Anzeiger*, 248: 1-8.
- Misamore, M. J. & Browdy, C. L. 1996. Mating behavior in the white shrimps *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei*: generalized model for *Penaeus* mating. *Journal of Crustacean Biology*, 16: 61-70.
- Morin, J. G. & Cohen, A. C. 1991. Bioluminescent displays, courtship, and reproduction in Ostracodes. *In*: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 1-16.
- Pérez-Farfante, I. & Kensley, B. F. 1997. *Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World: Keys and Diagnosis for the Families and Genera*. *Memories du Museum National D'Histoire Naturelle*, Paris, 233p.
- Pérez-Farfante, I. 1975. Spermatophores and thelyca of the America white shrimps, genus *Penaeus*, subgenus *Litopenaeus*. *Fishery Bulletin of the United States*, 73(3): 463-486.
- Phillips, B. F.; Cobb, J. S. & George, R. W. 1980. General biology. *In*: Cobb, J. S. & Phillips, B. F. (Eds.) *The Biology and Management of Lobsters*. New York Academic Press, vol.1, New York, pp. 1-82.



- Primavera, J. H. 1979. Notes on the courtship and mating behavior in *Penaeus monodon* Fabricius (Decapoda, Natantia). *Crustaceana*, 37: 287-292.
- Quintero, M. E. S. & Gracia, A. 1998. Stages of gonadal development in the spotted pink shrimp *Penaeus brasiliensis*. *Journal of Crustacean Biology*, 18(4): 680-685.
- Ramirez-Llodra, E. Z. & Segonzac, M. 2006. Reproductive biology of *Alvinocaris muricola* (Decapoda: Caridea: Alvinocarididae) from cold seeps in the Congo basin. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 86(6): 1347-1356.
- Shuster, S. M. 1991. The ecology of breeding females and the evolution of polygyny in *Paracereis sculpta*, a marine isopod crustacean. *In: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 91-110.
- Valenti, W. C. 1985. *Cultivo de Camarões de Água Doce*. Editora Nobel, 2 ed., São Paulo, 82p.
- Waddy, S. L. & Aiken, D. E. 1991. Mating and insemination in the American lobster, *Homarus americanus*. *In: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (Eds.) Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York, pp. 126-144.
- Wickler, W. & Seibt, U. 1981. Monogamy in Crustacea and man. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 57: 215-234.
- Wicksten, M.; Flynn, R. & Fagarason, M. 1996. *Heptacarpus pictus* (Stimpson) synonymized with *Heptacarpus sitchensis* (Brandt) (Decapoda, Hippolytidae). *Crustaceana*, 69: 71-75.
- Yano, I.; Kanna, R. A.; Oyama, R. N. & Wyban, J. A. 1988. Mating behavior on the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *Marine biology*, 97: 171-175.
- Young, F. 1979. Spawning of the banded coral shrimp, *Stenopus hispidus*. *Freshwater Marine Aquarium Magazine*, 2: 16-17.
- Zhang, D.; Lin, J. & Creswell, R. L. 1997. Effect on eyestalk ablation on molt cycle and reproduction in the banded shrimp *Stenopus hispidus*. *Journal of Shellfish Research*, 16(2): 363-366.
- Zhang, D.; Lin, J. & Creswell, R. L. 1998. Mating behavior and spawning of the banded coral shrimp *Stenopus hispidus* in the laboratory. *Journal of Crustacean Biology*, 18(3): 511-518.

Zhang, D. & Lin, J. 2004. Fertilization success without anterior pleopods in *Lysmata wurdemanni* (Decapoda, Caridea), a protandric simultaneous hermaphrodite. *Journal of Crustacean Biology*, 24(3): 470-473.

## **Capítulo 2**

**Ciclo ovariano do camarão ornamental *Stenopus hispidus*  
(Olivier, 1811) (Decapoda, Stenopodidea) em condições  
laboratoriais: análise macro e microscópica**

## Resumo

O ciclo ovariano de *Stenopus hispidus* (Decapoda, Stenopodidea) foi descrito a partir da manutenção de casais adultos em laboratório. Os casais reprodutivos foram mantidos isolados em aquários com água compartilhada, em salinidade 35‰, temperatura  $26 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , fotoperíodo 12 horas e alimentados diariamente com ração para peixes ornamentais. Fêmeas em diferentes fases do ciclo ovariano foram anestesiadas em água com gelo e tiveram o ovário removido, fotografado, fixado e processado para microscopia de luz. O tempo médio de incubação dos ovos foi de  $22,8 \pm 2,1$  dias e os períodos de intermuda foram de  $25,5 \pm 2,3$  dias para as fêmeas e  $26 \pm 4,1$  dias para os machos. Durante cada ciclo reprodutivo, os ovários apresentaram diferenciação em tamanho e coloração, identificados macroscopicamente pela transparência da carapaça e classificados em quatro estágios distintos de desenvolvimento ovariano diferentes (ANOVA,  $F = 68,1$ ;  $p = 0,00$ ): esgotado (translúcido), que dura até dois dias após a muda e cópula; em desenvolvimento (branco), permanecendo até dez dias após o início do ciclo; desenvolvido (verde-claro), entre 10 e 20 dias após o início do ciclo; avançado (verde escuro), permanecendo desta forma até a postura. Microscopicamente, as diferenças entre os estágios ovarianos baseiam-se em quantidade e proporção de células foliculares, oogônias e oócitos. No estágio esgotado, há maior quantidade de células foliculares e ausência de oócitos maduros, enquanto nos outros estágios nota-se um aumento gradual no número e tamanho dos oócitos secundários.

**Palavras-chave:** *Stenopus hispidus*, Stenopodidea, desenvolvimento gonadal, ciclo reprodutivo

## **Abstract**

**Ovarian cycle of the ornamental shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Decapoda, Stenopodidea) under laboratory conditions: macro and microscopic analyses.** The ovarian cycle of *Stenopus hispidus* (Decapoda, Stenopodidea) was described from the maintenance of mating pairs under laboratory conditions. The couples were kept isolated in interconnected aquaria with salinity 35 ‰, temperature  $26 \pm 0.5$  ° C, photoperiod 12 hours and daily fed with ornamental fish food. Females at distinct stages of ovarian development were anesthetized in cold water and their ovaries removed, photographed, fixed and processed for light microscopy. The average time of egg incubation was  $22.8 \pm 2.1$  days and the intermolt periods were  $25.5 \pm 2.3$  days for females and  $26 \pm 4.1$  days for males. At each reproductive cycle, the ovaries have size and color differences identified macroscopically by the carapace transparency and classified in four different stages of ovarian development (ANOVA,  $F = 68.1$ ,  $p = 0.00$ ): spent (translucent), that lasts until two days after molting and mating; early development (white), remaining until ten days after the beginning of the cycle; developed (light green), between 10 and 20 days after the beginning of the cycle; advanced (dark green) remaining until the egg spawn. Microscopically, the differences among ovarian stages are based on size and proportion of follicular cells, oocytes and oogonies. In the spent stage, there is greater amount of follicular cells and absence of mature oocytes, while in the other stages there are a gradual increase in the number and size of secondary oocytes.

**Keywords:** *Stenopus hispidus*, Stenopodidea, gonad development, reproductive cycle

## Introdução

O desenvolvimento das gônadas em crustáceos decápodos pode ser acompanhado pelas modificações que ocorrem nos ovários durante um ciclo reprodutivo, como alterações na cor e tamanho, que podem ser facilmente detectadas visualmente (Adiyodi & Subramonian, 1983; Arculeo *et al.* 1995; Cavalli *et al.* 1997). Tais mudanças são resultados de alterações no conteúdo dos carotenóides que ocorrem durante o processo de oogênese e desempenham um importante papel durante a embriogênese (Goodwin, 1951; Dall *et al.* 1995; Liñán-Cabello *et al.* 2002).

Diversos autores já investigaram o desenvolvimento ovariano em crustáceos decápodos, baseados em mudanças macroscópicas de cor e tamanho, principalmente com o objetivo de determinar o início da maturidade sexual fisiológica em uma população (López *et al.* 1997; Pinheiro & Fransozo, 1998; López-Greco & Rodríguez, 1999; Santos & Negreiros-Fransozo, 1999; Swiney & Shirley, 2001; Flores *et al.* 2002; Castiglioni & Negreiros-Fransozo, 2006). Descrições microscópicas sobre o processo da oogênese e ciclos ovarianos também já foram realizados, principalmente para espécies de interesse comercial, que incluem os grupos Penaeoidea (Rodríguez, 1981; Tan-Fermin & Pudadera, 1989; Qunitio & Millamena, 1992; Quintero & Gracia, 1998; Palacios *et al.* 1999; Sakaji *et al.* 2000; Sakaji, 2001; Dumont & D’Incao, 2004), Caridea (Moraes, 1995; Mossolin & Bueno, 2002), Astacidea (Ando & Makioka, 1998; Silva-Castiglioni *et al.* 2006; Vazquez *et al.* 2008) e Brachyura (Cronin, 1947; Wenner *et al.* 1987; Minagawa, *et al.* 1993; Ando & Makioka, 1999; Castiglioni *et al.* 2007; Rotllant *et al.* 2007). Até o momento, nenhum trabalho desta natureza foi realizado para representantes da Infraordem Stenopodidea.

A espécie *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811), é uma espécie com importante interesse comercial pelo mundo, sendo um dos Decapoda mais explorados em seus estoques naturais para suprir o mercado da aquariofilia marinha (Zhang *et al.* 1998). Esta espécie é popularmente conhecida como “camarão-palhaço”, devido a sua coloração, ou “camarão-

limpador”, pelo seu hábito de remover ectoparasitas de peixes e tartarugas marinhas (Jonasson, 1987; Sazima *et al.* 2004), ocorrendo nos oceanos Indo-Pacífico, Atlântico e no Mar Vermelho (Holthuis, 1946 e 1993).

Na natureza, *S. hispidus* adultos habitam águas rasas com formações coralíneas, onde são tipicamente encontrados em pares reprodutivos (Limbaugh *et al.* 1961; Johnson Jr., 1977; Colin, 1978). Acredita-se que os casais são formados ainda em sua fase juvenil e já cresçam pareados, habitando uma área extremamente restrita, onde principalmente machos demonstram forte comportamento agonístico contra outros espécimes solitários e outros casais (Limbaugh *et al.* 1961; Young, 1979; Fletcher *et al.* 1995). Estes relacionamentos entre macho e fêmea são considerados de longo prazo, pois os machos defendem, copulam e acompanham a fêmea por vários ciclos ovarianos consecutivos (Johnson Jr., 1969). Sabe-se que a cópula nesta espécie ocorre em poucas horas após a ecdise da fêmea, acreditando-se que a transferência espermática ocorra de forma semelhante aos Caridea. Assim, após o desenvolvimento completo dos ovários, a fêmea realiza uma ecdise e copula unicamente com o macho pareado (Bauer, 1986; Zhang *et al.* 1998).

Nos últimos anos, têm-se aumentado os esforços para reduzir a pressão nos estoques naturais de espécies marinhas com interesse ornamental, promovendo um uso sustentável de tais recursos (Corbin, 2001; Calado *et al.* 2003). No caso dos decápodos, o desenvolvimento de tecnologias para o cultivo em massa está focado em um reduzido número de espécies, que inclui a espécie *S. hispidus*, porém ainda com um histórico de pouco sucesso (ver Fletcher *et al.* 1995; Palmtag & Holt, 2001; Lin *et al.* 2002).

Assim, sabendo-se que os estudos sobre o ciclo reprodutivo e o desenvolvimento ovariano de uma espécie podem contribuir com o estabelecimento de normas de manejo em estoques naturais (Quintero & Garcia, 1998) e, ainda, fornecer informações básicas para cultivo de camarões com interesse comercial (Tan-Fermin, 1991; Peixoto *et al.* 2003), este trabalho teve como objetivos descrever, pela primeira vez, o desenvolvimento ovariano de um

representante Stenopodidea, além de caracterizar, macro e microscopicamente, o ciclo reprodutivo da espécie *S. hispidus* em condições laboratoriais.

## Material e Métodos

Espécimes adultos de *S. hispidus*, provenientes de Salvador, BA, Brasil, foram obtidos com comerciantes de animais marinhos ornamentais licenciados. Os camarões foram mantidos, aos pares, em 12 aquários numerados (0,45 m x 0,20 m x 0,30 m), em fotoperíodo de 12 horas, salinidade 35 ‰ e temperatura 26 °C. Os aquários, que continham areia de praia como substrato e fragmentos de rocha calcária para refúgio dos animais, foram conectados em paralelo, formando um sistema de recirculação de água com um *sump* (0,70 m x 0,50 m x 0,40 m), totalizando 464 litros. O sistema dispõe de uma bomba de recalque (3000 L h<sup>-1</sup>) que distribui igualmente a água entre os aquários por torneiras, um controlador digital de temperatura (com precisão 0,5 °C), *skimmer* e filtro ultravioleta com lâmpada de 32 w. Em cada aquário foi instalado um dispositivo para a captação de larvas recém-eclodidas, utilizando-se um foco luminoso (figura 1).

Efetou-se testes de salinidade (com auxílio de um refratômetro de mão), amônia, nitrito, pH e alcalinidade (testes titulométricos Tropic Marin<sup>®</sup>) quinzenalmente. Uma renovação parcial de água (80 litros) foi realizada com água do mar filtrada e irradiada por ultravioleta mensalmente. Diariamente, os camarões foram alimentados em excesso com ração própria para peixes ornamentais (Tetra Marine Flakes<sup>®</sup> e Tetra Color<sup>®</sup>), pedaços de músculo de camarão, lula e bivalves.

Após um período de aclimação de duas ecdises por animal, iniciaram-se as observações. O tamanho médio do comprimento da carapaça dos camarões utilizados neste trabalho, excluindo o rostro, foi 11,9 mm. De cada casal numerado, foram acompanhados três ciclos reprodutivos consecutivos para a realização das médias de tempo de duração (em dias), além de contado o número total de larvas recém-eclodidas produzidas por cada fêmea, em



cada um dos três ciclos reprodutivos acompanhados. As observações consistiram em identificar macroscopicamente a mudança dos diferentes estágios de desenvolvimento ovariano, comparando com uma tabela de cores padrão (Pantone<sup>®</sup>). Foi anotada também a presença de exúvia de cada indivíduo, além da presença de ovos aderidos aos pleópodos das fêmeas e a liberação de larvas em cada aquário. As exúvias não foram retiradas dos aquários e serviram como complemento alimentar. O total de larvas recém-eclodidas foi comparado por uma análise de variância (ANOVA), entre os três ciclos reprodutivos acompanhados.

Decorridos os três ciclos reprodutivos de cada casal, três fêmeas em cada estágio ovariano identificado foram anestesiadas em água com gelo para remoção da gônada. Este material foi fixado imediatamente em solução de glutaraldeído 2,5% e paraformaldeído 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 (solução de Karnovsky) por 48 horas. Em seguida foi submetido ao procedimento para inclusão em metacrilato-glicol (historresina), de acordo com o protocolo pertinente (desidratação em álcool 70% por 24 horas e álcool 95% por 2 horas, embebição em mistura de resina Leica<sup>®</sup> e álcool 95% por 5 horas, embebição em resina pura Leica<sup>®</sup> por 12 horas, inclusão em resina com catalisador em temperatura ambiente por 24 horas, polimerização em estufa a 37°C por 24 horas e montagem de blocos). Foram realizados cortes histológicos finos (5 µm), que foram submetidos à coloração de azul de toluidina (pH 4,7) e hematoxilina-eosina (H.E.), sendo analisados em microscópio óptico (Axioskop 2 Zeiss<sup>®</sup>), provido de um sistema de captação de imagens e software para mensuração de distâncias.

As células germinativas foram escolhidas aleatoriamente para a tomada dos maiores diâmetros e, a fim de detectar diferenças entre os estágios identificados visualmente, os diâmetros médios de pelo menos 30 oócitos secundários foram comparados entre os estágios identificados macroscopicamente por uma análise de variância (ANOVA), complementado pelo teste de Tukey. Neste caso, os dados foram logaritimizados para atender às premissas dos testes (Zar, 1996).

## Resultados

O tempo médio de incubação dos ovos de *S. hispidus* em laboratório foi de  $22,8 \pm 2,1$  dias ( $n = 36$ ). Após a liberação das larvas, em até 72 horas, a fêmea sofre ecdise e, em até 12 horas, ocorre a cópula (figura 2). A exteriorização dos ovos quase sempre foi imediata, porém em dois casos este processo demorou cerca de seis horas. Os períodos de intermuda foram de  $25,5 \pm 2,3$  dias para as fêmeas ( $n = 36$ ) e  $26 \pm 4,1$  dias para os machos ( $n = 35$ ), que distou  $8,7 \pm 2,6$  dias após a ecdise da fêmea. Os números médios de larvas recém-eclodidas obtidas foram:  $1025 \pm 166,5$  ( $n = 12$ ) no primeiro ciclo reprodutivo,  $987,3 \pm 139,4$  ( $n = 12$ ) no segundo ciclo reprodutivo e  $1066 \pm 109,1$  ( $n = 10$ ) no terceiro ciclo reprodutivo. Não houve diferença na quantidade de larvas produzidas ao longo do tempo (entre os ciclos reprodutivos) (ANOVA,  $F = 2,97$ ;  $p = 0,06$ ).

Durante cada ciclo reprodutivo, os ovários das fêmeas apresentam diferenciação tanto em tamanho como na coloração, facilmente observados devido à transparência da carapaça. Foram identificados e classificados macroscopicamente, quatro estágios de desenvolvimento ovariano diferentes, que foram validados por diferenças microscópicas ao longo de um ciclo reprodutivo (ANOVA,  $F = 68,1$ ;  $p = 0,00$ ):

- Esgotado (ES): Coloração translúcida, tamanho reduzido e aparência delgada, de difícil detecção macroscópica, ocupando desde a região anterior da carapaça até o início do terceiro somito abdominal e permanecendo desta forma até três dias após a exteriorização dos ovos. Microscopicamente, neste estágio observa-se apenas oogônias e oócitos primários (diâmetro médio  $76,3 \pm 20 \mu\text{m}$ ), organizados em grupos em uma zona de proliferação central. No entorno, há uma grande quantidade de células foliculares dispostas de modo desordenado e lacunas, indicando a desova (figuras 3, 4a). Neste estágio, alguns oócitos secundários podem ser encontrados em reabsorção.

- Em desenvolvimento (ED): Coloração branco-leitosa (Pantone 5875C), de fácil detecção e visivelmente maior que o estágio anterior, ocupando desde a região anterior da

carapaça até o final do terceiro somito abdominal. Mantém-se com esta aparência até dez dias após a liberação larval. Microscopicamente, neste estágio observa-se oogônias e oócitos primários (diâmetro médio  $58,2 \pm 20 \mu\text{m}$ ) como no estágio anterior, agrupados em uma zona de proliferação central. Observa-se também oócitos mais avançados em início de vitelogênese, com grânulos de vitelo visíveis no citoplasma (diâmetro médio  $330,9 \pm 49 \mu\text{m}$ ) (figuras 3, 4b).

- Desenvolvido (DE): Coloração verde-claro (Pantone 556C), de fácil detecção e visivelmente maior que o estágio anterior, ocupando desde a região anterior da carapaça até o final do terceiro somito abdominal. Mantém-se com esta aparência entre 10 e 18 dias após a liberação larval. Microscopicamente, neste estágio observa-se oogônias e oócitos primários (diâmetro médio  $69,5 \pm 21 \mu\text{m}$ ) como nos estágios anteriores, agrupados em uma zona de proliferação central. Observam-se também os oócitos maduros, com grânulos de vitelo no citoplasma, neste caso, maiores do que no estágio anterior (diâmetro médio  $353,5 \pm 93 \mu\text{m}$ ) (Tukey,  $p = 0,02$ ) (figuras 3, 4c, 5).

- Avançado (AV): Coloração verde-escuro (Pantone 562C), de fácil detecção macroscópica e visivelmente maior que os estágios anteriores, ocupando desde a região anterior da carapaça até o final do terceiro somito abdominal. Mantém-se com esta aparência entre 15 e 18 dias após a liberação larval, permanecendo assim até a próxima exteriorização dos ovos. Microscopicamente, observa-se também oogônias e oócitos primários (diâmetro médio  $78 \pm 19 \mu\text{m}$ ) como nos estágios anteriores, agrupados em uma zona de proliferação central. Neste caso, há uma grande quantidade de oócitos maduros, com muito vitelo no citoplasma (diâmetro médio  $514,9 \pm 85 \mu\text{m}$ ), significativamente maiores do que os estágios anteriores (Tukey,  $p = 0,00$ ) (figuras 3, 4d, 5).

## **Discussão**

Embora a análise histológica seja intensamente utilizada para descrever os estágios de maturação gonadal de camarões provenientes de ambiente natural ou mesmo em ambiente de cultivo, ainda existem poucas informações sobre as modificações visuais que ocorrem durante este processo (Peixoto *et al.* 2003). A observação macroscópica da morfologia dos ovários, como tamanho e coloração, representam um procedimento prático e rotineiro na avaliação do estágio de maturação de fêmeas e seleção de matrizes em fazendas de cultivo de camarões peneídeos. O manuseio excessivo para tal fim expõe os indivíduos a um estresse que pode ser minimizado por uma identificação visual acurada do estágio de desenvolvimento gonadal, quando esta é validada pela histologia (Browdy *et al.* 1992).

Os resultados da análise histológica do desenvolvimento ovariano de *S. hispidus* mostraram que a classificação macroscópica ou visual está intimamente relacionada com o desenvolvimento e organização celular do ovário. Como ocorre em *Artemesia longinaris* Bate, 1888, as observações podem ser realizadas por meio da transparência do cefalotórax, facilitando o manejo das matrizes em laboratório e reduzindo o stress por manuseio (Dumont & D’Incao, 2004). Espécies como *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) e *Farfantepaenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817), necessitam de dissecação total da gônada para sua caracterização visual, o que dificulta o procedimento (Tan-Fermin, 1991; Quintero & Gracia, 1998).

Alguns autores que pesquisaram o desenvolvimento ovariano em camarões peneídeos identificaram visualmente até cinco estágios de maturação gonadal (Vogt *et al.* 1989; Castille & Lawrence, 1991; Tan-Fermin, 1991; Medina *et al.* 1996). Porém, trabalhos posteriores como Quintero & Gracia (1998) e Dumont & D’Incao (2004) comprovaram microscopicamente que alguns estágios poderiam ser agrupados devido a pouca diferença visual e nenhuma diferença nos diâmetros celulares e composição química dos ovócitos. No presente trabalho, não se descreveu as gônadas em sua forma imatura por tratar-se apenas de espécimes adultos, e os quatro estágios identificados macroscopicamente apresentaram um progressivo aumento de tamanho das células ao longo de um ciclo ovariano (ver figuras 4 e

5). Autores como Quackenbush (1991), Lubzens *et al.* (1995) e Spaziani & Hinsch (1997), atribuem o aumento gradual do tamanho celular principalmente aos depósitos de lipídios nos ovários que ocorrem durante a vitelogênese, tornando o citoplasma celular acidófilo, o que pode ser comprovado pela afinidade por corantes ácidos como a eosina nesta região do corte histológico.

Medidas precisas dos tamanhos dos oócitos, além de validar a diferenciação dos estágios de maturação identificados visualmente, mostram-se muito eficazes na comparação de potencial reprodutivo entre populações de ambiente natural e de cultivo. Autores como Yano (1987), Menasveta *et al.* (1993) e Medina *et al.* (1996), realizaram tal comparação nos camarões peneídeos *P. monodon* (Fabricius, 1798), *Marsupenaeus japonicus* (Bate, 1888) e *Melicertus kerathurus* (Forskål, 1775) respectivamente e, em todos os casos, a fertilidade das matrizes mantidas em ambiente de cultivo foram inferiores às provenientes de ambiente natural. Segundo tais autores, os principais fatores que contribuem para as diferenças estão relacionados à qualidade da alimentação fornecida para a fêmea, bem como e a temperatura de manutenção.

Lin & Shi (2002), ao analisarem os efeitos da alimentação no desempenho reprodutivo de matrizes do camarão ornamental *Stenopus scutellatus* Rankin, 1898, recomendam uma dieta variada para obtenção de maior quantidade e melhor qualidade de larvas. De acordo com Luis & Ponte (1993), camarões peneídeos de cultivo quando alimentados com poliquetos ricos em ácidos-graxos, também aumentam o seu potencial reprodutivo. Neste trabalho, a alimentação industrial para peixes ornamentais, associada a alimento fresco (músculo de camarão e lula), fornecidos diariamente em excesso para os adultos de *S. hispidus* parecem suprir as necessidades reprodutivas da espécie. Todas as massas de ovos produzidas foram visualmente grandes e a fertilidade sempre foi superior a 800 larvas/fêmea, viáveis para cultivo. Em experimentos preliminares de cultivo realizados com esta mesma espécie, não se obteve mais que 850 larvas viáveis de cada fêmea ovígera recém capturada da natureza, sem a

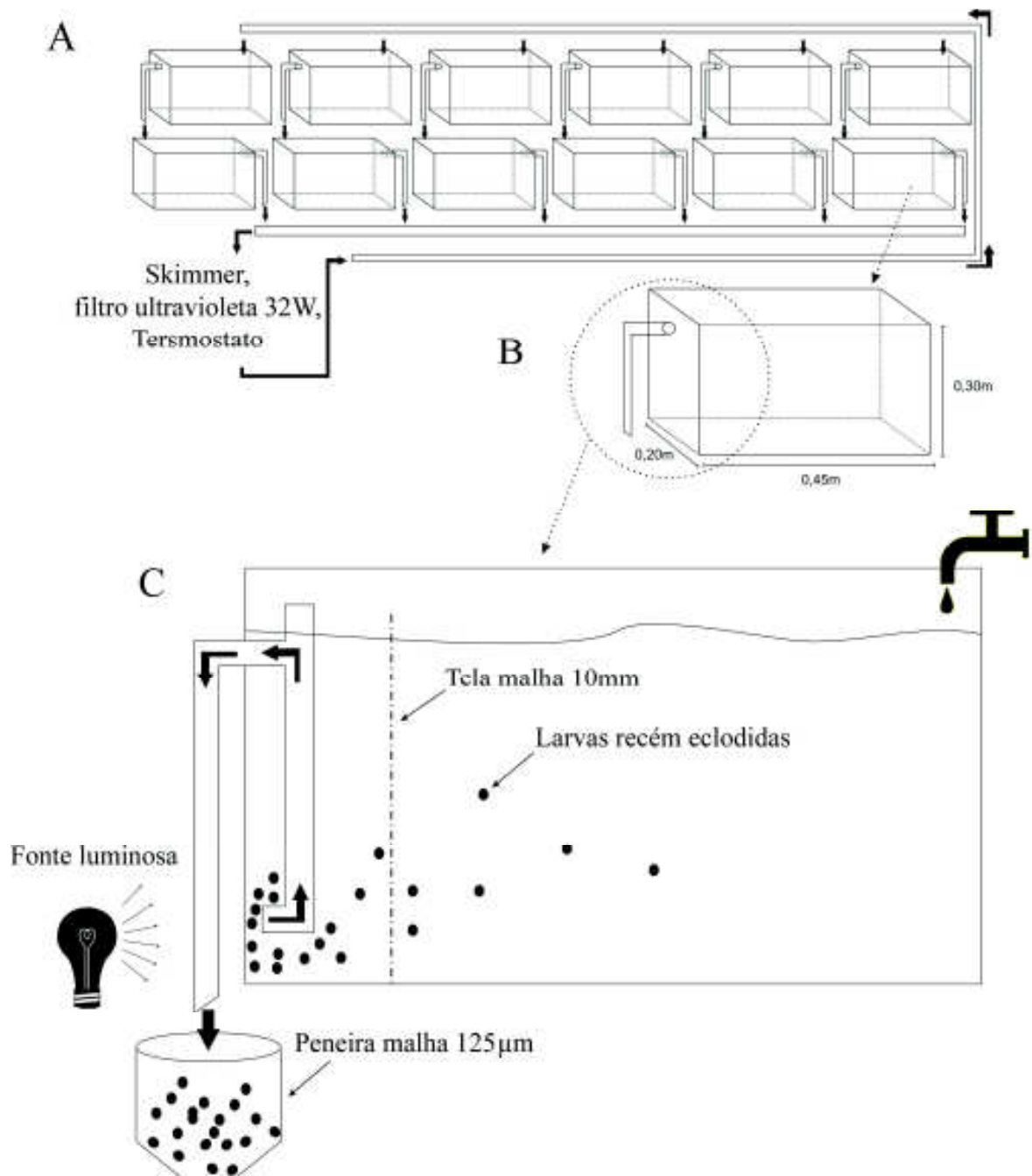
influência de alimentação oferecida em condições laboratoriais (De Castro & Jory, 1983). Tais autores apresentam também uma tabela onde a produção de larvas por fêmea decai drasticamente ao longo do tempo em que os casais foram mantidos em condições laboratoriais, fato que parece não ocorrer nas condições de manutenção aqui descritas.

Além das necessidades nutricionais, a temperatura e a variação térmica na manutenção das matrizes de *S. hispidus* também podem ser fatores importantes que influenciaram o ciclo reprodutivo da espécie em laboratório. O tempo médio de intermuda das fêmeas (25,5 dias), mantidas em temperatura estável ( $26 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ), foram maiores quando comparados ao trabalho de Zhang *et al.* (1997). Tais autores, estudando a influência da ablação ocular no ciclo de muda desta mesma espécie em laboratório, relatam que as fêmeas com pedúnculo ocular intactos mudam, em média, a cada 22,5 dias quando mantidas em temperaturas que variam entre 26 e 31°C. A receptividade reprodutiva das fêmeas associada a muda é um padrão comum entre os Crustacea e, em muitos camarões peneídeos e carídeos, as fêmeas ficam receptivas apenas por curtos períodos de tempo após a ecdise (Salmon, 1983; Correa & Thiel, 2003). Em *S. hispidus*, embora a cópula sempre tenha ocorrido em períodos inferiores a 12 horas após a ecdise da fêmea, Zhang *et al.* (1998) provaram que as fêmeas desta espécie são “atrativas” até 36 horas após o processo da muda, porém o sucesso reprodutivo é maior quando a cópula ocorre nas primeiras 24 horas. O fato dos machos nunca realizarem a ecdise simultaneamente com a fêmea sugere que eles necessitam estar em período de intermuda para realizar a transferência espermática, ou, ainda, proteger a fêmea contra predadores e de outros machos da mesma espécie que podem ser atraídos pelos hormônios relacionados à reprodução liberados na água, fato comum em siris do gênero *Callinectes* Stimpson, 1860 (ver Gleeson, 1991).

Outro importante fator que pode ser influenciado pela temperatura de manutenção é desenvolvimento embrionário e o tempo de e incubação dos ovos. Young (1979) obteve um tempo de incubação de 16 dias para *S. hispidus* quando as fêmeas foram mantidas em 28°C,

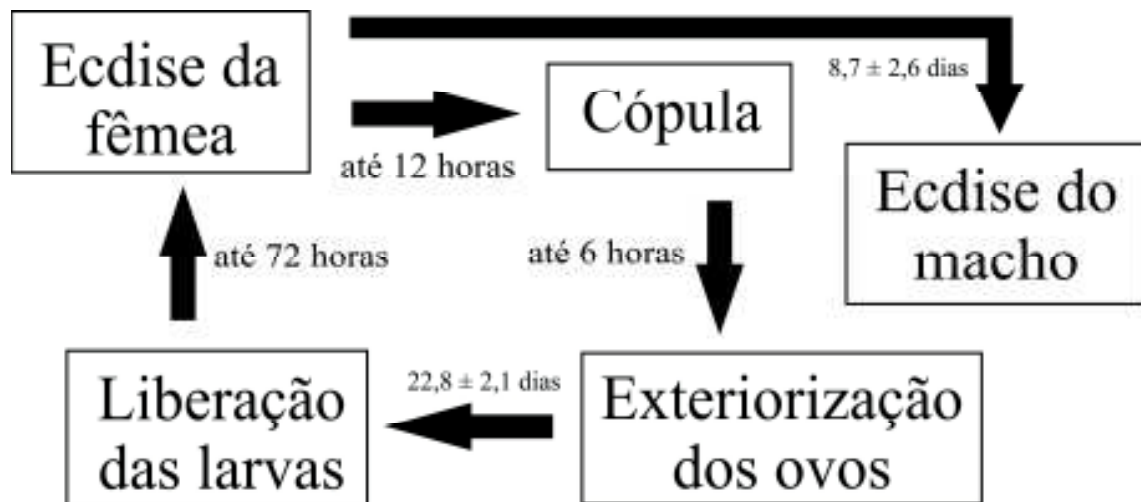
enquanto De Castro & Jory (1983) obtiveram um tempo de desenvolvimento dos ovos entre 14 e 16 dias, quando as fêmeas foram mantidas em condições que variavam entre 25 e 29°C. Em ambos os casos, os tempos de desenvolvimento dos ovos foram inferiores ao tempo obtido neste trabalho (22,8 dias, em média), onde as condições de temperatura mantiveram-se mais amenas e estáveis do que os citados ( $26^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ ). Zhang *et al.* (1998) relata que a variação de temperatura afetou severamente a quantidade e os tamanhos dos ovos em experimentos reprodutivos com *S. hispidus*. Segundo tais autores, os animais que foram mantidos sob variação entre 1,5 a 2°C apresentaram maior fecundidade, maior peso seco, além de ovos com maiores diâmetros do que aqueles que foram mantidos sob variação entre 4 a 6°C. Em *Callinectes sapidus* Rathbun, 1869, os ovos produzidos em temperaturas mais baixas possuem maiores quantidades de lipídios do que aqueles produzidos por fêmeas mantidas em altas temperaturas, sugerindo que temperaturas mais amenas podem aumentar a acumulação de energia nos ovos e aumentar a qualidade das larvas (Amsler & George, 1984, Zhang *et al.* 1998).

Assim, ao contrário dos espécimes de *S. hispidus* que vivem em ambiente natural, podem-se conseguir ciclos ovarianos contínuos em laboratório, desde que a nutrição seja satisfatória e, também, que sejam mantidos em condições constantes, principalmente de temperatura. Além disso, a manutenção e acompanhamento de matrizes permanentes para produção contínua de larvas mostrou-se fácil e eficiente, o que pode contribuir com a redução da captura para este fim. Com uma contínua obtenção de larvas, novas técnicas em larvicultura ainda devem ser testadas, já que os principais problemas apontados para a produção em escala comercial desta espécie estão relacionados, ainda, ao longo período de desenvolvimento larval e alta mortalidade das larvas.

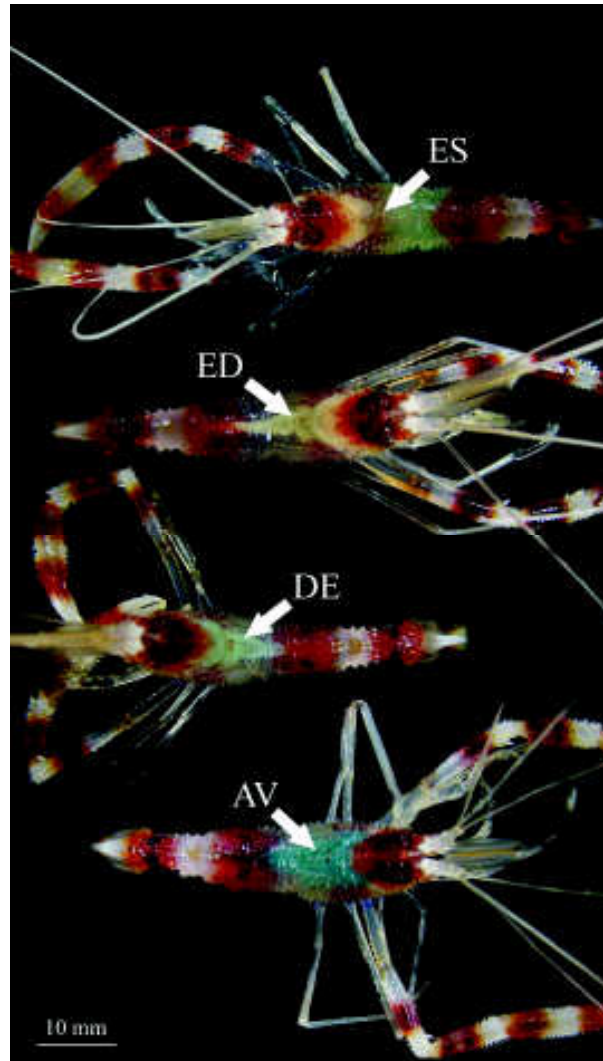


**Figura 1:** Sistema de água recirculante utilizado para manutenção de 12 casais adultos de *Stenopus hispidus*. **A)** esquema geral do sistema recirculante; **B)** aquário em detalhe, apresentando as medidas dos aquários utilizados e a saída de água; **C)** detalhe da captura de larvas recém-eclodidas: em todos os aquários, as larvas são atraídas por uma fonte luminosa e são sugadas pela própria saída de água de cada aquário. A tela com malha 10 mm impede a aproximação dos adultos ao aglomerado de larvas que se forma na entrada do cano. Setas pretas indicam o sentido da água.

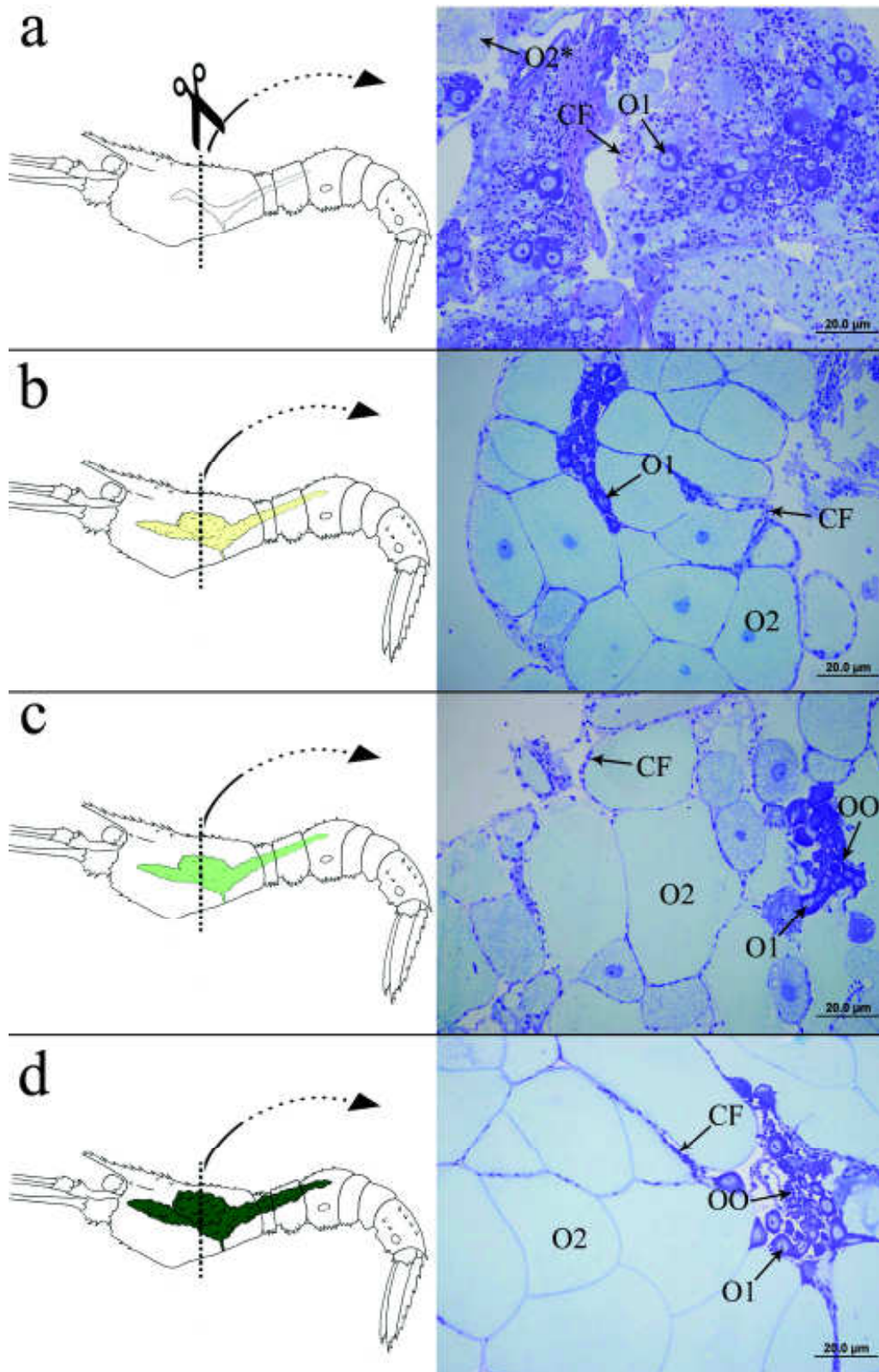




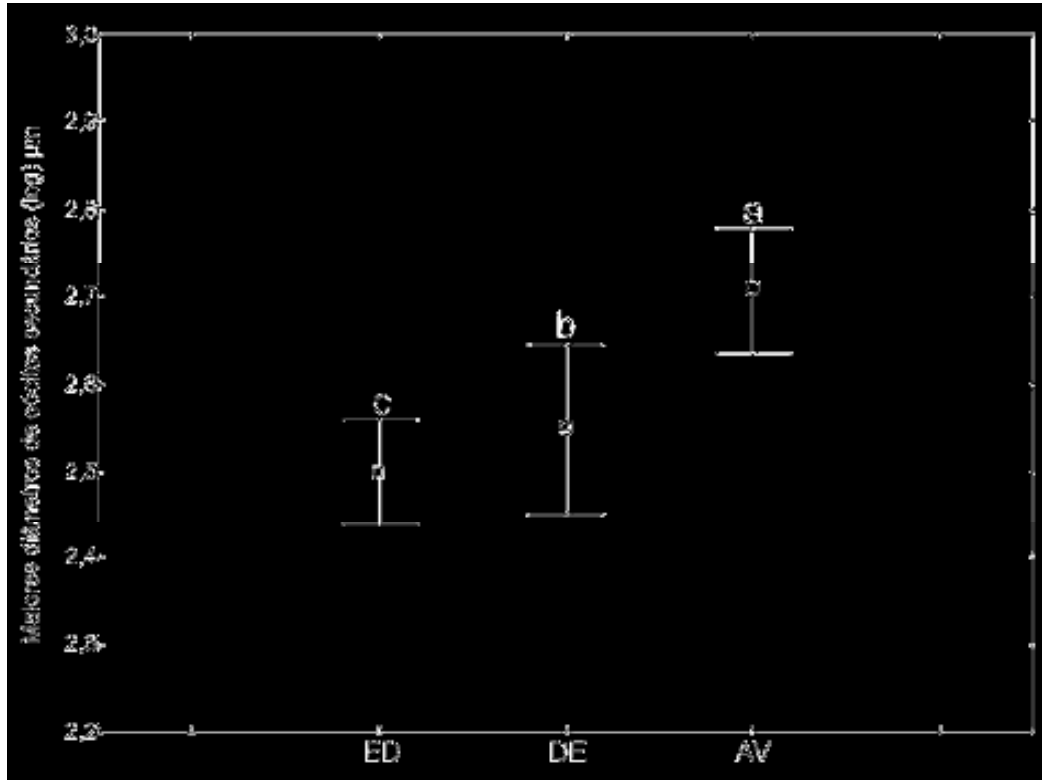
**Figura 2:** Representação do ciclo reprodutivo de *Stenopus hispidus*, mantidos em condições laboratoriais (fotoperíodo 12 horas, salinidade 35 ‰ e temperatura 26 °C). O esquema mostra a relação entre ecdise, cópula eclosão larval, baseados na média calculada após o acompanhamento de 12 casais, por três ciclos reprodutivos consecutivos.



**Figura 3:** *Stenopus hispidus*. Estágios ovarianos identificados macroscopicamente, durante um ciclo reprodutivo em condições laboratoriais. ES = gônada esgotada (transparente); ED = gônada em desenvolvimento (coloração branco-leitosa); DE = gônada desenvolvida (coloração verde claro); AV = gônada em estágio avançado (coloração verde escuro).



**Figura 4:** *Stenopus hispidus*. Esquema dos estágios gonadais identificados durante um ciclo ovariano em condições laboratoriais (lado esquerdo) e fotografia de seus respectivos cortes histológicos (lado direito): a) gônada esgotada(ES); b) gônada em desenvolvimento (ED); c) gônada desenvolvida (DE); d) gônada em estágio avançado (AV) (aumento 100x, coloração azul de toluidina). CF = célula folicular; OO = oogônia; O1 = oócito primário; O2 = oócito secundário; O2\* = oócito secundário em reabsorção.



**Figura 5:** Comparação dos diâmetros de oócitos secundários ( $\pm$  dp) ao longo de um ciclo ovariano de *Stenopus hispidus* mantidos em condições laboratoriais. ED = gônada em desenvolvimento (branco-leitosa); DE = gônada desenvolvida (verde-claro); AV = gônada avançada (verde-escuro). Letras diferentes indicam diferença estatística.

## Referências

- Adiyodi, R.G., Subramonian, T., 1983. Arthropoda-Crustacea, in: Adiyodi K.G., Adiyodi, R.G. (Eds.), Reproductive Biology of Invertebrates 1: Oogenesis, Oviposition and Oosorption. John Wiley & Sons, Hoboken, pp. 443-495.
- Amsler, M.O., George, R.Y., 1984. Seasonal variation in the biochemical composition of the embryos of *Callinectes sapidus* Rathbun. J. Crust. Biol. 4, 546-553.
- Ando, H., Makioka, T., 1998. Structure of the ovary and mode of oogenesis in a freshwater crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard). Zool. Sci. 15, 893-901.
- Ando, H., Makioka, T., 1999. Structure of the ovary and mode of oogenesis in a freshwater crab *Potamon dehaani*. J. Morphol. 239, 107-114.
- Arculeo, M., Payen, G., Cuttitta, A., Galioto, G., Riggio, S., 1995. A survey of ovarian maturation in a population of *Aristaeus antennatus* (Crustacea: Decapoda). Anim. Biol. 4, 13-18.
- Bauer, R.T., 1986. Phylogenetic trends in sperm transfer and storage complexity in decapod crustaceans. J. Crust. Biol. 6(3), 313-325.
- Browdy, C.L., Fainzilber, M., Tom, M., Loya, Y., Lubzens, E., 1992. Vitellin synthesis in relation to oogenesis in vitro incubated ovaries of *Penaeus semisulcatus*. J. Exp. Zool. 255, 205-215.
- Calado, R., Lin, J., Rhyne, A.L., Araújo, R., Narciso, L., 2003. Marine ornamental decapods: popular, pricey, and poorly studied. J. Crust. Biol. 23(4), 963-973.
- Castiglioni, D.S., Negreiros-Fransozo, M.L., 2006. Physiologic sexual maturity of the fiddler crab *Uca rapax* (Smith, 1870) (Crustacea, Ocypodidae) from two mangroves in Ubatuba, Brazil. Braz. Arch. Biol. Technol. 49(2), 239-248.
- Castiglioni, D.S., Negreiros-Fransozo, M.L., López-Greco, L.S., Silveira, A., Silveira, S., 2007. Comparison of the gonad development in females of *Uca rapax* (Smith, 1870) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) using macro and microscopic techniques. Iheringia Ser. Zool. 97(4), 505-510.

- Castille, F.L., Lawrence, A.L., 1991. Reproductive studies concerning natural shrimp populations: a description of changes in size and biochemical compositions of the gonads and digestive gland in penaeid shrimps, in: De Loach, P.F., Dougherty, W.J., Davidson, M.A. (Eds.), *Frontiers of Shrimp Research*. Elsevier, Amsterdam, pp. 17-32.
- Cavalli, R.O., Scardua, M.P., Wasielesky, W.J., 1997. Reproductive performance of different sized wild and pond-reared *Penaeus paulensis* females. *J. World Aquacult. Soc.* 28, 260-267.
- Colin, P.L., 1978. *Caribbean Reef Invertebrates and Plants*. THF Publications, Inc., Ltd., Neptune City. 512p.
- Corbin, J.S., 2001. Marine Ornamentals'99, conference highlights and priority recommendations. *Aquar. Sci. Cons.* 3, 3-11.
- Correa, C., Thiel, M., 2003. Mating systems in caridean shrimp (Decapoda: Caridea) and their evolutionary consequences for sexual dimorphism and reproductive biology. *Revta. Chi. Hist. Nat.* 76, 187-203.
- Cronin, L.E., 1947. Anatomy and histology of the male reproductive system of *Callinectes sapidus* Rathbun. *J. Morphol.* 81(2), 209-239.
- Dall, W., Smith, D.M., Moore, L.E., 1995. Carotenoids in the tiger prawn *Penaeus esculentus* during ovarian maturation. *Mar. Biol.* 123, 435-441.
- De Castro, A., Jory, D.E., 1983. Preliminary experiments on the culture of the banded coral shrimp *Stenopus hispidus* Olivier. *J. Aquaricult. Aq. Sci.* 3(4), 1-8.
- Dumont, L.F.C., D'Incao, F., 2004. Estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas do camarão barba-ruça (*Artemesia longinaris* – Decapoda: Penaeidae). *Iheringia, Sér. Zool.* 94(4), 389-393.
- Fletcher, D.J., Kötter, I., Wunsch, M., Yasir, I., 1995. Preliminary observations on the reproductive biology of ornamental cleaner prawns. *Int. Zool. Yearbook* 34, 73-77.
- Flores, A.A.V., Saraiva, J., Paula, J., 2002. Sexual maturity, reproductive cycles and juvenile recruitment of *Perisesarma guttatum* (Brachyura, Sesarmidae) at Ponta Rasa mangrove swamp, Inhaca Island, Mozambique. *J. Crust. Biol.* 22(1), 143-156.

- Gleeson, R.A., 1991. Intrinsic factors mediating pheromone communication in the blue crab, *Callinectes sapidus*, in: Bauer, R.T., Martin, J.W. (Eds.) Crustacean Sexual Biology. Columbia University Press, New York, pp. 17-32.
- Goodwin, T.W., 1951. Carotenoid metabolism during development of lobster eggs. *Nature* 499, 559.
- Holthuis, L.B., 1946. The Stenopodidae, Nephropsidae, Scyllaridae and Palinuridae. The Decapoda Macrura of the Snellius Expedition 1. *Temminckia* 7, 1-178.
- Holthuis, L. B. 1993. The recent genera of the Caridean and Stenopodidean shrimps (Crustacea, Decapoda) with an appendix on the order Amphionidacea. Nationaal Natuurhistorisch Museum, Leiden, 328 p.
- Johnson Jr., V.R., 1977. Individual recognition in the banded shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier). *Anim. Behav.* 25, 418-428.
- Johnson Jr., V.R., 1969. Behavior associated with pair formation in the banded shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier). *Pac. Sci.* 23, 40-50.
- Jonasson, M., 1987. Fish cleaning behavior of shrimp. *J. Zool.* 213, 117-131.
- Limbaugh, C., Pederson, H., Chace, F.A., 1961. Shrimps that clean fishes. *Bulletin of Marine Science* 11(2), 237-257.
- Lin, J., Shi, H., 2002. Effect of Broodstock Diet on Reproductive Performance of the Golden Banded Coral Shrimp *Stenopus scutellatus*. *J. World Aquacult. Soc.* 33(3), 383-386.
- Lin, J., Zhang, D., Rhyne, A., 2002. Broodstock and Larval Nutrition of Marine Ornamental Shrimp, in: Cruz-Suaréz, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M. Graxiola-Cortés, M.G., Simoes, N. (Eds.), *Avances em Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, Cancun, pp. 277-280.
- Liñán-Cabello, M.A., Paniagua, M., Hopkins, P.M., 2002. Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans. *Aquacult. Nutr.* 8, 299-309.
- López, L.S., Stella, V.S., Rodríguez, A., 1997. Size at onset of sexual maturity in *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). *Nauplius* 5(2), 65-75.

- López-Greco, L.S., Rodríguez, E.M., 1999. Size at the Onset of Sexual Maturity in *Chasmagnathus granulata* (Grapsidae, Sesarminae). A Critical Overall View About the Usual Criteria for its Determination, in: Schram, F.R., Von Vaupel Klein, J.C. (Eds.), *Crustaceans and the Biodiversity Crisis*, Leiden, pp. 675-689.
- Lubzens, E., Khayat, M., Ravid, T., Funkenstein, B., Tietz, A., 1995. Lipoproteins and lipid accumulation within the ovaries of penaeid shrimp. *Isr. J. Aquac.* 47, 185-195.
- Luis, O.J., Ponte, A.C., 1993. Control of reproduction of the shrimp *Penaeus kerathurus*. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 31-39.
- Medina, A., Vila, Y., Mourente, G., Rodríguez, A., 1996. A comparative study of the ovarian development in wild and pond-reared shrimp, *Penaeus kerathurus* (Förskal, 1775). *Aquaculture* 148, 63-75.
- Menasveta, P., Piyatiratitivorakul, S., Rungsupha, S., Moree, N., Fast, A.W., 1993. Gonadal maturation and reproductive performance of giant tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) from the Andaman Sea and pond-reared sources in Thailand. *Aquaculture* 116, 191-198.
- Minagawa, M., Chiu, J.R., Kudo, M., Ito, E., Takashima, F., 1993. Female reproductive biology and oocyte development of the red frog crab, *Ranina ranina*, off Hachijojima, Izu Islands, Japan. *Mar. Biol.* 115, 613-623.
- Moraes, N., 1995. Morphological and histochemical aspects of the male gonad of *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 38, 679-688.
- Mossolin, E.C., Bueno, S.L.S., 2002. Reproductive Biology of *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae) in São Sebastião, Brazil. *J. Crust. Biol.* 22(2), 367-376.
- Palacios, E., Rodríguez-Jaramillo, C., Racota, I.S., 1999. Comparison of ovary histology between different-sized wild and pond-reared shrimp *Litopenaeus vannamei* (= *Penaeus vannamei*). *Invertebr. Reprod. Dev* 35(3), 251-259.
- Palmtag, M.R., Holt, G.J., 2001. Captive rearing of the shrimp (*Lysmata debelius*). Texas Sea Grant College Program Research Report, pp. 1-4.
- Peixoto, S., Cavalli, R.O., D’Incao, F., Milach, Â.M., Wasielesky, W., 2003. Ovarian maturation of wild *Farfantepenaeus paulensis* in relation to histological and visual changes. *Aquac. Res.* 34, 1255-1260.



- Pinheiro, M.A.A., Fransozo, A., 1998. Sexual maturity of speckled swimming crab *Arenaeus cribrarius* (Lamarck, 1818) (Decapoda, Brachyura, Portunidae), in the Ubatuba littoral, São Paulo State, Brazil. *Crustaceana* 71(6), 15-47.
- Quackenbush, L.S., 1991. Regulation of vitellogenesis in penaeid shrimps, in: De Loach, P.F., Dougherty, W.J., Davidson, M.A. (Eds.), *Frontiers of Shrimp Research*. Elsevier, Amsterdam, pp. 125-140.
- Quinitio, E.T., Millamena, O.M., 1992. Ovarian changes and female-specific protein levels during sexual maturation of the white shrimp *Penaeus indicus*. *Isr. J. Aquac.* 44(1), 7-12.
- Quintero, M.E.S., Gracia, A., 1998. Stages of gonadal development in the spotted pink shrimp *Penaeus brasiliensis*. *J. Crust. Biol.* 18(4), 680-685.
- Rodríguez, A., 1981. Growth and sexual maturation of *Penaeus kerathurus* (Förskal, 1975) and *Palaemon serratus* (Pennant) in salt ponds. *Aquaculture* 24, 257-266.
- Rotllant, G., González-Gurriarán, E., Fernández, L., Benhalima, K., Ribes, E., 2007. Ovarian maturation of the mutli-spawning spider crab *Maja brachydactyla* (Decapoda: Majidae) with special reference to yolk formation. *Mar. Biol.* 152(2), 383-394.
- Sakaji, H., 2001. Observations of the oocytes of the small penaeid shrimps *Metapenaeopsis aegyptia*, *M. barbata*, and *M. sinica*. *Benthos Res.* 56, 81-85.
- Sakaji, H., Tsuchiya, K., Segawa, S., 2000. Oocyte development of *Metapenaeopsis dalei* (Penaeidae, Decapoda, Crustacea). *Invert. Reprod. Dev.* 38, 7-12.
- Salmon, M., 1983. Courtship, mating systems, and sexual selection in Decapods, in: Rebach, S., Dunham, D.W. (Eds.), *Behavior of Higher Crustaceans*. John Wiley & Sons, Hoboken, pp. 143-169.
- Santos, S., Negreiros-Fransozo, M.L., 1999. Reproductive cycle of the swimming crab *Portunus spinimanus* Latreille (Crustacea, Brachyura, Portunidae) from Ubatuba, São Paulo, Brazil. *Revta. Bras. Zool.* 16(4), 1183-1193.
- Sazima, I., Grossman, A., Sazima, C., 2004. Hawksbill turtles visit moustached barbers: cleaning symbiosis between *Eretmochelys imbricata* and the shrimp *Stenopus hispidus*. *Biota Neotropica* 4(1), 1-6.

- Silva-Castiglioni, D., Oliveira, G.T., Bond-Buckup, G., 2006. Dinâmica do desenvolvimento das gônadas de *Parastacus varicosus* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Iheringia, Sér. Zool.* 96(4), 413-417.
- Spaziani, E.P., Hinsch, G.W., 1997. Variation in selected unsaturated fatty acids during vitellogenesis in the Florida freshwater crayfish *Procambarus paeninsulanus*. *Invert. Rep. Dev.* 32, 21-25.
- Swiney, K.M., Shirley, T., 2001. Gonad development of southeastern Alaskan Dungeness crab, *Cancer magister*, under laboratory conditions. *J. Crust. Biol.* 21(4), 897-904.
- Tan-Fermin, J.D., Pudadera, R.A., 1989. Ovarian maturation stages of the wild giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture* 77, 229-242.
- Tan-Fermin, J.D., 1991. Effects of unilateral eyestalk ablation on ovarian histology and oocyte size frequency of wild and pond-reared *Penaeus monodon* (Fabricius) broodstock. *Aquaculture* 93, 77-86.
- Vazquez, F.J., Tropea, C., López-Greco, L.S., 2008. Differentiation of the female reproductive system and the onset of maturity in the freshwater crayfish “red claw” *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1898) (Decapoda, Parastacidae) through a macroscopic and microscopic approach. *Invertebr. Biol.* 127: 433-443.
- Wenner, E.L., Ulrich, G.F., Wise, J.B., 1987. Exploration for golden crab *Gerion fenneri*, in the south Atlantic bight: distribution, population structure and gear assessment. *Fish. Bull.* 85(3), 547-560.
- Vogt, G., Quinitio, E.T., Pascual, F.P., 1989. Interaction of the midgut gland and the ovary in vitellogenesis and consequences for the breeding success: a comparison of unablated and ablated spawners of *Penaeus monodon*, in: De Pauw, J.N., Ackefors, H., Wilkins, N.E. (Eds.), *Aquaculture. A Biotechnology in Progress*. European Aquaculture Society, Bredene, pp. 581-592.
- Yano, I., 1987. Maturation of Kuruma prawns *Penaeus japonicus* cultured in earthen ponds. NOAA Tech. Rep. NMFS 47, 3-7.
- Young, F., 1979. Spawning of the banded coral shrimp, *Stenopus hispidus*. *Fresh. Mar. Aquar. Mag.* 2, 16-17.
- Zar, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Upper Saddle River.
- Zhang, D., Lin, J., Creswell, R.L., 1997. Effect on eyestalk ablation on molt cycle and reproduction in the banded shrimp *Stenopus hispidus*. *J. Shell. Res.* 16(2), 363-366.

Zhang, D., Lin, J., Creswell, R.L., 1998. Matting behavior and spawning of the banded coral shrimp *Stenopus hispidus* in the laboratory. J. Crust. Biol. 18(3), 511-518.

## Capítulo 3

**Desenvolvimento larval do camarão-limpador *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Decapoda, Stenopodidea), obtido em condições laboratoriais**

## Resumo

Os estágios larvais iniciais de *Stenopus hispidus* (Decapoda, Stenopodidea) foram descritos a partir de fêmeas ovígeras mantidas em laboratório. As larvas foram cultivadas isoladas em recipientes com 20 ml de água do mar ou em grupos de 50 e 100 larvas em placas de Petri com 100 ml, em salinidade 35‰, temperatura  $24 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas. As observações foram diárias bem como a alimentação (náuplios recém eclodidos de *Artemia* sp.). Foram descritos nove estágios de zoea, baseados na dissecação de pelo menos dez larvas ou exúvias de cada estágio. Os estágios duraram em média 99 horas e o tamanho variou desde 0,56 mm (Z1) até 1,17 mm (Z9) de comprimento de carapaça (excluindo o rostró). Todos os estágios descritos apresentam carapaça cilíndrica, rostró longo armado com espinhos na extremidade. Os somitos abdominais apresentam espinhos ventro-laterais proeminentes (1º somito), laterais e dorsais (3º e 5º somitos). Mandíbula, maxílula, maxila e maxilípedes apresentam pequenas mudanças ao longo do desenvolvimento. As principais alterações ocorrem nos olhos (sésseis em Z1 e pedunculados nos demais), antênulas, antenas e urópodo (aparecimento a partir de Z3). O 1º. par de pereiópodos é funcional e natatório na ZI; o 2º par surge na zoea III; o 3º, na zoea VII; o 4º, na zoea VIII e o 5º par aparece como um rudimento na zoea IX. Este trabalho confirma as descrições anteriores a partir de larvas obtidas no plâncton, entretanto, maiores detalhes são adicionados, principalmente em relação aos tipos de cerdas e no menor tempo de duração larval.

**Palavras-chave:** *Stenopus hispidus*; Stenopodidea, desenvolvimento larval; descrição morfológica

## Abstract

**Larval development of the cleaner shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Decapoda, Stenopodidea), obtained under laboratory conditions.** The early larval stages of *Stenopus hispidus* (Decapoda, Stenopodidea) were described from ovigerous females maintained in the laboratory. The larvae were isolated in acrylic cups with 20 ml of seawater, and in groups of 50 and 100 larvae in 100 ml *Petri* dishes, all at 35 ‰ salinity, temperature  $24 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$  and 12 hours photoperiod. Food was provided daily (newly hatched *Artemia* sp.), as well as the observations. Nine zoea stages were described, based on the dissection of at least ten exuviae of each larval stage. The average time of stages was 99 hours and the size ranged from 0.56 mm (Z1) to 1.17 mm (Z9), from carapace length (excluding the rostrum). All stages have described cylindrical carapace, long rostrum armed with spines on the edge. The abdominal somites have prominent ventro-lateral spines (first), lateral and dorsal (3 and 5). Mandible, maxillula, maxilla and maxillipeds have small changes throughout the development. The major changes occurs in the eye (Z1 are sessile, pedunculated in the other), antennule, antenna, and uropod (appear in Z3). The 1st pair of pereopods is functional and for swimming in ZI; the 2nd pair appear in ZIII, the 3rd in ZVII, the 4th in ZVIII, and the 5th appears as a bud in ZIX. This study confirms the previous descriptions obtained from larvae in plankton, however, details are added, especially in relation to the types of setae and the time of the larval duration.

**Keywords:** *Stenopus hispidus*; Stenopodidea; larval development; morphological description

## Introdução

Os crustáceos decápodos da infraordem Stenopodidea são representados por duas famílias, Spongicolidae Schram, 1986 e Stenopodidae Claus, 1872, que juntas compreendem nove gêneros com mais de 40 espécies descritas em sua forma adulta. Entre estas, apenas três espécies são registradas até o momento no Atlântico Sul: *Microprosthema semilaeve* (von Matens, 1872), *Stenopus scutellatus* Rankin, 1898 e *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Holthuis, 1993).

A espécie *S. hispidus* é popularmente conhecida como “camarão-palhaço”, pela sua coloração, ou “camarão-limpador”, pelo seu hábito de remover ectoparasitos de peixes e até de tartarugas marinhas (Jonasson, 1987; Sazima et al, 2004). Devido à sua intensa coloração e rusticidade de manutenção, esta espécie é o decápode de interesse ornamental mais popular na aquariofilia marinha, tornando a espécie intensamente explorada em seus estoques naturais em todo o mundo todo, inclusive no Brasil (Zhang *et al.*,1998).

Na natureza, os adultos desta espécie são tipicamente encontrados em casais reprodutivos (Brooks & Herrick, 1891; Johnson Jr., 1977) e podem ser observados em recifes de coral e fendas em rochas, habitando desde águas rasas até mais de 200 metros de profundidade (Limbaugh *et al.*, 1961; Colin, 1978). A espécie ocorre ao longo da região do Indo-Pacífico, desde o Mar Vermelho e África do Sul até o Havaí e Ilhas Tuamotu. No Atlântico Oeste, ocorre desde as Bermudas e costa da Carolina do Norte, Golfo do México e Sul da Florida até a costa Norte da América do Sul (Holthuis, 1946; Kruczynski & Jenner, 1969; Lukens, 1978). No Brasil, é registrada no arquipélago de Fernando de Noronha e desde o Estado do Ceará até o Estado de São Paulo como limite Sul (Coelho & Ramos-Porto, 1998; Gregati *et al.* 2006).

O histórico de descrições larvais para a Infraordem Stenopodidea é escasso, quase sempre incompleto, sendo realizado principalmente por larvas provenientes de amostras planctônicas. O desenvolvimento completo, até o momento, apenas foi descrito por Rajé &

Ranade (1978), que descreveram todos os estágios de zoea e o decapodito de um Stenopodidea, a partir de uma fêmea ovígera proveniente do Oceano Índico. Tais autores atribuíram sua descrição à espécie *Microprosthema semilaeve*, porém, Martin & Goy (2004) redescreveram a protozoea e a primeira zoea desta espécie (provenientes de duas localidades do Caribe) e descobriram que a descrição larval anterior tratava-se da espécie *Microprosthema emmiltum* Goy, 1987.

A espécie *Stenopus spinosus* Risso, 1826 teve três estágios de zoea descritos pela primeira vez por Cano (1891), provenientes de amostras planctônicas na costa da Itália. Posteriormente, Kurian (1956) descreveu dois estágios de zoea de material planctônico proveniente do mar Adriático, enquanto Bourdillon-Casanova (1960) descreveu o primeiro estágio a partir de uma fêmea ovígera obtida na costa de Marselha, França. Seridji (1990) descreveu cinco estágios larvais da mesma espécie e atribuiu aos cinco estágios iniciais de desenvolvimento, a partir de amostras planctônicas obtidas na costa da Argélia divisa com a Tunísia, revisando a taxonomia e posição filogenética do grupo.

A primeira descrição de uma larva de *Stenopus hispidus* foi realizada por Brooks & Herrick (1891), que descreveram a protozoea e a primeira zoea, obtidas a partir de fêmeas ovígeras capturadas em ambiente natural nas Ilhas Bahamas. Duas larvas em desenvolvimento avançado também foram descritas, porém obtidas no plâncton, e atribuídas erroneamente a larvas de *S. hispidus* por estes mesmos autores. Gurney (1924) descreveu alguns estágios larvais obtidos em amostras planctônicas (resultado da expedição “Terra Nova”, realizada em 1910, que incluiu coletas na costa brasileira) e apontou as falhas nas descrições anteriores, principalmente em relação aos estágios mais avançados. Posteriormente, Gurney (1936) e Lebour (1940) descreveram algumas larvas de stenopodídeos não identificados quanto ao nível de espécie, incluindo *S. hispidus*, baseados em amostras planctônicas provenientes das Ilhas Bermudas. Em 1976, Williamson acrescentou mais algumas informações para a espécie, baseando-se também em amostras planctônicas provenientes do Oceano Índico.



Sabendo-se que o conhecimento sobre o desenvolvimento e a morfologia larval em Decapoda é fundamental para suas relações filogenéticas (Pohle & Marques, 2000), além de importantes para o aprimoramento das técnicas de cultivo em espécies com interesse comercial (Provenzano, 1985), o objetivo deste trabalho foi descrever, de modo detalhado, o desenvolvimento da morfologia larval de *S. hispidus* provenientes do Atlântico Sul, a partir de larvas obtidas e criadas em condições laboratoriais, comparando-se os resultados com descrições anteriores provenientes de amostras planctônicas e de outras localidades.

## **Material e Métodos**

Espécimes adultos de *S. hispidus*, provenientes de Salvador, BA, foram obtidos por meio de comerciantes de animais marinhos ornamentais licenciados e mantidos, aos casais, em aquários (0,45 m x 0,20 m x 0,30 m) interligados, em fotoperíodo de 12 horas, salinidade 35 ‰ e temperatura de 26°C. Efetuou-se testes de salinidade (com auxílio de um refratômetro de mão), amônia, nitrito, pH e alcalinidade (testes titulométricos Tropic Marin<sup>®</sup>) quinzenalmente. Uma renovação parcial de água foi realizada com água do mar filtrada e irradiada por ultravioleta mensalmente. Diariamente, os camarões foram alimentados em excesso com ração própria para peixes ornamentais (Tetra Marine Flakes<sup>®</sup> e Tetra Color<sup>®</sup>), pedaços de músculo de camarão, lula e bivalves.

Quando eclodidas, as larvas foram concentradas e retiradas utilizando-se um foco luminoso. Apenas as larvas que responderam positivamente ao fototropismo foram selecionadas para a criação. Larvas recém eclodidas foram mantidas em pequenos grupos (50 e 100 larvas) em placas de *petri* bem como isoladas em pequenos recipientes de acrílico com capacidade 20 ml em salinidade 35, fotoperíodo de 12 horas e temperatura de  $24 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  em uma câmara de germinação (tipo B.O.D). Diariamente, as larvas foram alimentadas com *Artemia* sp. recém eclodidas em excesso e uma pequena porção da água (cerca de 30%) foi substituída pipetando-se o fundo dos recipientes.

As exúvias recuperadas foram conservadas em álcool 70% glicerinado (1:1) e uma amostra de cada estágio larval foram preservadas em formol a 5% e álcool 70%. As larvas foram mensuradas quanto ao comprimento da carapaça (distância entre a margem pós-orbital e a extremidade posterior do cefalotórax, excluindo o rostro) e as exúvias dissecadas sob estereomicroscópio e microscópio invertido (DMIL Leica) utilizando-se estiletos confeccionados com agulhas entomológicas. Os desenhos e as descrições morfológicas foram realizados sob um microscópio equipado com câmara clara e contraste de fases (Axioskop 2 Zeiss). Para cada estágio descrito, observou-se pelo menos dez exúvias e todo o processo de descrição foi padronizado de acordo com Clark *et al.* (1998) e Pohle & Telford (1981) em relação a qualidade e terminologia. Amostras de cada estágio larval foram incorporadas ao acervo da coleção de larvas do Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos (NEBECC).

## **Resultados**

Foram obtidos nove estágios de zoea, cujo tamanho variou de  $0,56 \pm 0,04$  (Z I) a  $1,17 \pm 0,02$  (Z IX) e o tempo de muda entre os estágios durou em média  $4,12 \pm 0,64$  dias (figura 1). O estágio decapodito não foi obtido.

### **Zoea I**

Carapaça: 0,56 mm de comprimento de carapaça. Formato cilíndrico e levemente arredondado, sem espinhos. Olhos sésseis. Rostro longo, armado com pequenos denticulos na extremidade, quase duas vezes o tamanho da carapaça, ultrapassando antenas e antênulas (figura 2a).

Antênula: Pedúnculo longo, não segmentado. Endopodito representado por uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma cerda esparsamente plumosa longa e três cerdas simples na extremidade (figuras 2e; 3).

Antena: Pedúnculo desprovido de cerdas. Endopodito curto, com duas cerdas plumosas longas apicais. Exopodito longo, com cinco segmentos e 10 cerdas plumosas longas na seguinte disposição: 4 (3 internas e 1 externa) + 1 + 1 + 1 + 3 (apicais). Um espinho evidente no terço proximal do primeiro segmento (figuras 2f; 3).

Mandíbula: Palpo ausente e sem vestígios, com 4 + 4 dentes robustos, curtos e proeminentes (figura 2b).

Maxílula: Palpo vestigial. Endito coxal com quatro cerdas esparsamente plumosas na extremidade e uma submarginal. Endito basal com quatro cerdas esparsamente plumosas e uma cerda plumodenticulada robusta (figura 2c).

Maxila: Endito coxal bilobado com cinco cerdas plumosas submarginais e quatro cerdas esparsamente plumosas marginais intercaladas no lobo proximal; duas cerdas plumosas no lobo distal. Endito basal bilobado, com duas cerdas esparsamente plumosas no lobo proximal e três cerdas esparsamente plumosas no lobo distal. Endopodito com duas cerdas esparsamente plumosas longas apicais. Exopodito com quatro cerdas plumosas curtas bem distribuídas na margem externa e uma cerda plumosa longa na margem distal (figura 2g).

Primeiro maxilípede: Coxa com três cerdas esparsamente plumosas (2 + 1). Base com onze cerdas esparsamente plumosas marginais (1 + 3 + 4 + 3). Endopodito bisegmentado, com três cerdas curtas esparsamente plumosas no segmento proximal e seis cerdas no segmento distal (2 esparsamente plumosas subapicais + 4 plumosas apicais). Exopodito não segmentado, com 4 cerdas plumosas longas: 2 apicais e 2 sub-apicais (figura 2h).

Segundo maxilípede: Base com quatro cerdas curtas esparsamente plumosas. Endopodito com cinco segmentos: 2 + 1 + 0 + 2 + 5 (4 apicais e 1 sub-apical) cerdas longas esparsamente plumosas. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas (figura 2i).

Terceiro maxilípede: Similar ao segundo maxilípede. Base com duas cerdas esparsamente plumosas curtas. Endopodito com cinco segmentos: 2 + 1 + 0 + 2 + 5 (4 apicais

e 1 sub-apical) cerdas esparsamente plumosas longas. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas (figura 2j).

Primeiro pereiópodo: Base com duas ou três cerdas esparsamente plumosas e uma simples, todas curtas. Endopodito não segmentado com cinco cerdas longas esparsamente plumosas: 1 margem lateral, 2 sub-apicais e 2 apicais. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas (figura 2k).

Abdome: Primeiro somito com um par de espinhos ventro-laterais longos. Segundo somito nu. Terceiro somito com um par de espinhos laterais e um longo espinho dorsal bem evidente. Quarto somito nu. Quinto somito com um par de espinhos laterais curtos e um dorsal. Sexto somito fusionado com o télson. Pleópodos e urópodo ausentes (figura 2a).

Télson: Fusionado com o sexto somito abdominal. Forma triangular, com diversos pequenos espinhos na face dorsal. Margem externa da furca com quatro espinhos curtos e um longo espinho curvado no ângulo, seguido de um pequeno artículo robusto curvo com sétulas. Margem posterior com cinco cerdas plumosas longas, sendo a interna mais curta (figuras 2d; 4).

## **Zoea II**

Carapaça: 0,67 mm de comprimento de carapaça. Formato cilíndrico e levemente arredondado, com espinho supra-orbital curto. Olhos pedunculados e bem desenvolvidos. Rostro longo, armado com pequenos denticulos na extremidade, quase duas vezes o tamanho da carapaça, ainda ultrapassando antenas e antênulas.

Antênula: Pedúnculo longo bi-segmentado, com duas cerdas esparsamente plumosas no segmento proximal (uma no terço proximal e uma na margem distal). Quatro ou cinco cerdas esparsamente plumosas na porção mediana da extremidade do segmento distal. Endopodito com uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma cerda esparsamente plumosa longa e cinco cerdas simples na extremidade (figura 3).

Antena: Similar ao estágio anterior. Pedúnculo desprovido de cerdas. Endopodito curto, com duas cerdas plumosas longas apicais. Exopodito longo, com cinco segmentos e 10 cerdas plumosas longas na seguinte disposição: 4 (3 internas e 1 externa) + 1 + 1 + 1 + 3 (apicais). Um espinho evidente no terço proximal do primeiro segmento (figura 3).

Mandíbula: Similar ao estágio anterior.

Maxílula: Palpo vestigial. Endito coxal com cinco cerdas esparsamente plumosas marginais e uma submarginal; uma cerda plumodenticulada robusta marginal. Endito basal com quatro cerdas esparsamente plumosas e uma cerda plumodenticulada robusta, todas marginais; duas cerdas esparsamente plumosas submarginais.

Maxila: Endito coxal bilobado com sete cerdas plumosas submarginais e seis cerdas esparsamente plumosas marginais intercaladas no lobo proximal; duas cerdas plumosas no lobo distal. Endito basal bilobado, com três cerdas esparsamente plumosas no lobo proximal e quatro cerdas esparsamente plumosas no lobo distal. Endopodito com duas cerdas esparsamente plumosas longas apicais. Exopodito com quatro cerdas plumosas curtas bem distribuídas na margem externa e uma cerda plumosa longa na margem distal.

Primeiro maxilípede: Coxa com três cerdas esparsamente plumosas (2 + 1). Base com onze cerdas esparsamente plumosas marginais (1 + 3 + 4 + 3). Endopodito bisegmentado, com três cerdas curtas esparsamente plumosas no segmento proximal e seis cerdas esparsamente plumosas no segmento distal (2 subapicais + 4 apicais). Exopodito não segmentado, com 4 cerdas plumosas longas: 2 apicais e 2 sub-apicais.

Segundo maxilípede: Similar ao estágio anterior. Base com três cerdas curtas esparsamente plumosas e uma simples. Endopodito com cinco segmentos: 2 + 1 + 0 + 2 + 5 (4 apicais e 1 sub-apical) cerdas longas esparsamente plumosas. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Terceiro maxilípede: Similar ao estágio anterior. Base com uma ou duas cerdas esparsamente plumosas curtas e uma ou duas simples. Endopodito com cinco segmentos: 2 +

1 + 0 + 2 + 5 (4 apicais e 1 sub-apical) cerdas esparsamente plumosas longas. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Primeiro pereiópodo: Base com duas ou três cerdas simples, as vezes alguma esparsamente plumosa, todas curtas. Endopodito não segmentado com cinco cerdas longas esparsamente plumosas: 1 margem lateral, 2 sub-apicais e 2 apicais. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Abdome: Primeiro somito com um par de espinhos ventro-laterais longos. Segundo somito nu. Terceiro somito com um par de espinhos laterais e um longo espinho dorsal bem evidente. Quarto somito nu. Quinto somito com um par de espinhos laterais curtos e curvos e um dorsal. Sexto somito fusionado com o télson. Pleópodos ausentes e urópodo ausente.

Télson: Fusionado com o sexto somito abdominal. Forma triangular, com diversos pequenos espinhos na face dorsal. Margem externa da furca com cinco espinhos curtos e um longo espinho no ângulo, seguido de um pequeno artículo robusto curvo, com sétulas, em forma de escova. Margem posterior com cinco cerdas plumosas longas e uma mais interna plumosa curta (figura 4).

### **Zoea III**

Carapaça: 0,72 mm de comprimento de carapaça. Formato cilíndrico e levemente arredondado, com espinho supra-orbital. Olhos pedunculados e bem desenvolvidos. Rostro longo, armado com pequenos dentículos na extremidade, quase duas vezes o tamanho da carapaça, ainda ultrapassando antenas e antênulas.

Antêna: Pedúnculo longo bi-segmentado, com cinco cerdas plumosas marginais (4 internas e 1 externa), três cerdas curtas plumosas agrupadas na região mediana externa e quatro cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento proximal. Quatro cerdas plumosas longas sub-marginais (2 internas + 2 externas) e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento distal. Endopodito com uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma

cerda esparsamente plumosa longa e cinco cerdas simples apicais e uma esparsamente plumosa subapical (figura 3).

Antena: Pedúnculo desprovido de cerdas. Endopodito curto, com duas cerdas plumosas longas apicais. Exopodito em forma de escama, longo, com 12-14 cerdas plumosas longas marginais (figura 3).

Mandíbula: Similar ao estágio anterior.

Maxílula: Palpo vestigial. Endito coxal com quatro cerdas esparsamente plumosas marginais e três cerdas plumodenticuladas robustas, todas marginais. Endito basal com cinco cerdas esparsamente plumosas (2 marginais + 3 sub-marginais) e duas cerdas plumodenticuladas robustas marginais.

Maxila: Endito coxal bilobado com sete cerdas plumosas submarginais e seis cerdas esparsamente plumosas marginais intercaladas no lobo proximal; duas cerdas plumosas no lobo distal. Endito basal bilobado, com três cerdas esparsamente plumosas no lobo proximal e quatro cerdas esparsamente plumosas no lobo distal. Endopodito com três cerdas esparsamente plumosas longas apicais. Exopodito com quatro cerdas plumosas curtas bem distribuídas na margem externa e uma cerda plumosa longa na margem distal.

Primeiro maxilípede: Similar ao estágio anterior. Coxa com três cerdas esparsamente plumosas (2 + 1). Base com onze cerdas esparsamente plumosas marginais (1 + 3 + 4 + 3). Endopodito bisegmentado, com três cerdas curtas esparsamente plumosas no segmento proximal e seis cerdas esparsamente plumosas no segmento distal (2 subapicais + 4 apicais). Exopodito não segmentado, com quatro cerdas plumosas longas: 2 apicais e 2 sub-apicais.

Segundo maxilípede: Similar ao estágio anterior. Base com duas ou três cerdas curtas simples. Endopodito com cinco segmentos: 2 + 1 + 0 + 2 + 5 (4 apicais e 1 sub-apical) cerdas longas esparsamente plumosas. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Terceiro maxilípede: Similar ao estágio anterior. Base com duas ou três cerdas curtas simples. Endopodito com cinco segmentos: 2 + 1 + 0 + 2 + 5 (4 apicais e 1 sub-apical) cerdas esparsamente plumosas longas. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Primeiro pereiópodo: Similar ao estágio anterior. Base com duas ou três cerdas simples, às vezes alguma esparsamente plumosa, todas curtas. Endopodito não segmentado com cinco cerdas longas esparsamente plumosas: 1 na margem lateral, 2 sub-apicais e 2 apicais. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Segundo pereiópodo: Surge neste estágio como um pequeno rudimento (figura 5).

Abdome: Primeiro somito com um par de espinhos ventro-laterais longos. Segundo somito nu. Terceiro somito com um par de espinhos laterais e um longo espinho dorsal bem evidente. Quarto somito nu. Quinto somito com um par de espinhos laterais curtos e curvos e um dorsal. Sexto somito longo, não mais fusionado com o télson, com um par de espinhos laterais curtos e curvos e um longo dorsal. Pleópodos rudimentares, sem cerdas.

Urópodo: Surge neste estágio. Birreme, endopodito apenas um rudimento desprovido de cerdas. Exopodito com dez cerdas plumosas longas marginais posteriores. Télson triangular, margem externa da furca com três espinhos curtos e um longo espinho no ângulo, seguido de um pequeno artículo robusto curvo, com sétulas. Margem posterior com cinco cerdas plumosas longas e uma mais interna plumosa curta (figura 4).

#### **Zoea IV**

Carapaça: 0,83 mm de comprimento de carapaça. Formato cilíndrico e levemente arredondado, com espinho supra-orbital. Olhos pedunculados e bem desenvolvidos. Rostro longo, armado com pequenos denticulos na extremidade, quase duas vezes o tamanho da carapaça, não ultrapassando antenas e antênulas.

Antênula: Pedúnculo longo bi-segmentado, com oito cerdas plumosas marginais (6 internas e 2 externas), três cerdas curtas plumosas agrupadas na região mediana externa e



quatro cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento proximal. Cinco cerdas plumosas longas sub-marginais (3 subapicais + 1 interna + 1 externa) e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento distal. Endopodito com uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma cerda esparsamente plumosa longa e quatro cerdas simples apicais e uma esparsamente plumosa subapical (figura 3).

Antena: Pedúnculo desprovido de cerdas. Endopodito curto, com duas cerdas plumosas longas apicais. Exopodito em forma de escama, longo, com 14-15 cerdas plumosas longas marginais (figura 3).

Mandíbula: Similar ao estágio anterior.

Maxílula: Similar ao estágio anterior. Palpo vestigial. Endito coxal com cinco cerdas esparsamente plumosas marginais e três cerdas plumodenticuladas robustas, todas marginais. Endito basal com quatro cerdas esparsamente plumosas (2 marginais + 2 sub-marginais) e três cerdas plumodenticuladas robustas marginais.

Maxila: Similar ao estágio anterior. Endito coxal bilobado com seis ou sete cerdas plumosas submarginais e seis ou sete cerdas esparsamente plumosas marginais intercaladas no lobo proximal; duas cerdas plumosas no lobo distal. Endito basal bilobado, com duas ou três cerdas esparsamente plumosas no lobo proximal e quatro cerdas esparsamente plumosas no lobo distal. Endopodito com três cerdas esparsamente plumosas apicais. Exopodito com quatro cerdas plumosas curtas bem distribuídas na margem externa e uma cerda plumosa longa na margem distal.

Primeiro maxilípede: Similar ao estágio anterior. Coxa com três cerdas esparsamente plumosas (2 + 1). Base com onze cerdas esparsamente plumosas marginais (1 + 3 + 4 + 3). Endopodito bisegmentado, com três cerdas esparsamente plumosas no segmento proximal e sete cerdas esparsamente plumosas no segmento distal (2 subapicais + 5 apicais). Exopodito não segmentado, com quatro cerdas plumosas longas: 2 apicais e 2 sub-apicais.

Segundo maxilípede: Similar ao estágio anterior. Base com duas ou três cerdas curtas simples, as vezes uma esparsamente plumosa. Endopodito com cinco segmentos: 2 + 1 + 0 + 2 + 5 (4 apicais e 1 sub-apical) cerdas longas esparsamente plumosas. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Terceiro maxilípede: Similar ao estágio anterior. Base com duas ou três cerdas curtas simples. Endopodito com cinco segmentos: 2 + 1 + 0 + 2 + 5 (4 apicais e 1 sub-apical) cerdas esparsamente plumosas longas. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Primeiro pereiópodo: Similar ao estágio anterior. Base com duas ou três cerdas simples, às vezes alguma esparsamente plumosa, todas curtas. Endopodito não segmentado com cinco cerdas longas esparsamente plumosas: 1 na margem lateral, 2 sub-apicais e 2 apicais. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas.

Segundo pereiópodo: Ainda rudimentar, porém endopodito e exopodito visíveis (figura 5).

Abdome: Similar ao estágio anterior. Primeiro somito com um par de espinhos ventro-laterais longos. Segundo somito nu. Terceiro somito com um par de espinhos laterais e um longo espinho dorsal bem evidente. Quarto somito nu. Quinto somito com um par de espinhos laterais curtos e curvos e um dorsal. Sexto somito longo, não mais fusionado com o télson, com um par de espinhos laterais curtos e curvos e um longo dorsal. Pleópodos rudimentares, sem cerdas.

Urópodo: Birreme, endopodito com quatro cerdas plumosas longas (2 marginais + 2 sub-marginais). Exopodito com 12 cerdas plumosas longas igualmente distribuídas na margem posterior e interior. Télson triangular, margem externa da furca com dois espinhos curtos e um longo espinho no ângulo, seguido de um pequeno artículo robusto, com sétulas. Margem posterior com quatro cerdas plumosas longas e uma mais interna plumosa curta (figura 4).

## **Zoea V**

Carapaça: 0,92 mm de comprimento de carapaça. Similar ao estágio anterior.

Antêntula: Pedúnculo longo bi-segmentado, com nove cerdas plumosas marginais (7 internas e 2 externas), quatro cerdas curtas plumosas agrupadas na região mediana externa e quatro cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento proximal. Seis cerdas plumosas longas sub-marginais (4 subapicais + 1 interna + 1 externa) e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento distal. Endopodito com uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma cerda esparsamente plumosa longa e quatro cerdas simples apicais e uma esparsamente plumosa subapical (figura 3).

Antena: Pedúnculo desprovido de cerdas. Endopodito curto, com duas cerdas plumosas longas apicais, as vezes desprovido de cerdas. Exopodito em forma de escama, longo, com 15-16 cerdas plumosas longas marginais (figura 3).

Mandíbula: Similar ao estágio anterior.

Maxílula: Similar ao estágio anterior.

Maxila: Similar ao estágio anterior.

Primeiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Segundo maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Terceiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Primeiro pereiópodo: Similar ao estágio anterior.

Segundo pereiópodo: Endopodito e exopodito desprovido de cerdas (figura 5).

Abdome: Similar ao estágio anterior.

Urópodo: Birreme, endopodito com nove cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna. Exopodito com 15 cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interior e duas cerdas plumosas longas sub-marginais na superfície dorsal. Telson triangular, margem externa da furca com

dois espinhos e um espinho no ângulo. Margem posterior com quatro cerdas plumosas longas (figura 4).

### **Zoea VI**

Carapaça: 0,96 mm de comprimento de carapaça. Similar ao estágio anterior.

Antênula: Pedúnculo longo bi-segmentado, com dez cerdas plumosas marginais (7 internas e 3 externas), quatro cerdas curtas plumosas agrupadas na região mediana externa e quatro cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento proximal. Seis cerdas plumosas longas sub-marginais (4 subapicais + 1 interna + 1 externa) e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento distal. Endopodito com uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma cerda esparsamente plumosa longa e quatro cerdas simples apicais e uma esparsamente plumosa subapical (figura 3).

Antena: Similar ao estágio anterior. Pedúnculo desprovido de cerdas. Endopodito curto, com duas cerdas plumosas longas apicais, as vezes desprovido de cerdas. Exopodito em forma de escama, longo, com 15-16 cerdas plumosas longas marginais (figura 3).

Mandíbula: Similar ao estágio anterior.

Maxílula: Similar ao estágio anterior.

Maxila: Similar ao estágio anterior.

Primeiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Segundo maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Terceiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Primeiro pereiópodo: Similar ao estágio anterior.

Segundo pereiópodo: Endopodito desprovido de cerdas e exopodito com duas cerdas esparsamente plumosas apicais (figura 5).

Abdome: Similar ao estágio anterior.

Urópodo: Similar ao estágio anterior. Birreme, endopodito com nove cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna. Exopodito com 15

cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna e duas cerdas plumosas longas sub-marginais na superfície dorsal. Telson levemente triangular, margem externa da furca com dois espinhos e um espinho no ângulo. Margem posterior com quatro cerdas plumosas longas (figura 4).

### **Zoea VII**

Carapaça: 1,02 mm de comprimento de carapaça. Similar ao estágio anterior.

Antênula: Pedúnculo longo bi-segmentado, de nove a 11 cerdas plumosas marginais (8 internas e 1 a 3 externas), quatro cerdas curtas plumosas agrupadas na região mediana externa e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento proximal. Oito cerdas plumosas longas (4 sub-marginais internas + 3 internas marginais + 1 externa marginal) e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento distal. Endopodito com uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma cerda esparsamente plumosa longa e quatro cerdas simples apicais e uma esparsamente plumosa subapical (figura 3).

Antena: Similar ao estágio anterior (figura 3).

Mandíbula: Similar ao estágio anterior.

Maxílula: Similar ao estágio anterior.

Maxila: Similar ao estágio anterior.

Primeiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Segundo maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Terceiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Primeiro pereiópodo: Similar ao estágio anterior.

Segundo pereiópodo: Endopodito não segmentado, com duas cerdas esparsamente plumosas longas apicais. Exopodito bem desenvolvido, não segmentado, com 4 cerdas plumosas longas (2 apicais + 2 subapicais) (figura 5).

Terceiro pereiópodo: Surge neste estágio como um pequeno rudimento (figura 5).

Abdome: Similar ao estágio anterior.

Urópodo: Similar ao estágio anterior. Birreme, endopodito com 12 cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna. Exopodito com 15 cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna e duas cerdas plumosas longas sub-marginais na superfície dorsal. Telson arredondado, com um espinho no ângulo e margem posterior com quatro cerdas plumosas longas (figura 4).

### **Zoea VIII**

Carapaça: 1,10 mm de comprimento de carapaça. Similar ao estágio anterior.

Antêna: Similar ao estágio anterior. Pedúnculo longo bi-segmentado, de nove a 11 cerdas plumosas marginais (8 internas e 1 a 3 externas), quatro cerdas curtas plumosas agrupadas na região mediana externa e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento proximal. Nove cerdas plumosas longas (4 sub-marginais internas + 4 internas marginais + 1 externa marginal) e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento distal. Endopodito com uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma cerda esparsamente plumosa longa e quatro cerdas simples apicais e uma esparsamente plumosa subapical (figura 3).

Antena: Similar ao estágio anterior. Pedúnculo desprovido de cerdas. Endopodito curto, com duas cerdas plumosas longas apicais, as vezes desprovido de cerdas. Exopodito em forma de escama, longo, com 15-17 cerdas plumosas longas marginais (figura 3).

Mandíbula: Similar ao estágio anterior.

Maxílula: Similar ao estágio anterior.

Maxila: Similar ao estágio anterior.

Primeiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Segundo maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Terceiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Primeiro pereiópodo: Similar ao estágio anterior.

Segundo pereiópodo: Endopodito não segmentado, com duas cerdas esparsamente plumosas longas apicais. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas (figura 5).

Terceiro pereiópodo: Ainda rudimentar, porém endopodito e exopodito visíveis (figura 5).

Quarto pereiópodo: Surge neste estágio como um pequeno rudimento (figura 5).

Abdome: Similar ao estágio anterior.

Urópodo: Similar ao estágio anterior. Birreme, endopodito com 13-15 cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna. Exopodito com 16-18 cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna e duas cerdas plumosas longas sub-marginais na superfície dorsal e um espinho curto no ângulo externo. Telson arredondado, com um espinho no ângulo e margem posterior com quatro cerdas plumosas longas (figura 4).

### **Zoea IX**

Carapaça: 1,17 mm de comprimento de carapaça. Similar ao estágio anterior.

Antênula: Similar ao estágio anterior. Pedúnculo longo bi-segmentado, 11-13 cerdas plumosas marginais (10 internas e 1 a 3 externas), quatro cerdas curtas plumosas agrupadas na região mediana externa do segmento proximal. Segmento distal com 10-12 cerdas plumosas longas (5-6 sub-marginais internas + 4-5 internas marginais + 1 externa marginal) e cinco cerdas esparsamente plumosas apicais no segmento distal. Endopodito com uma cerda plumosa longa. Exopodito curto, com uma cerda esparsamente plumosa longa e quatro cerdas simples apicais e uma esparsamente plumosa subapical (figura 3).

Antena: Similar ao estágio anterior. Pedúnculo desprovido de cerdas. Endopodito curto, com duas cerdas plumosas longas apicais, as vezes desprovido de cerdas. Exopodito em forma de escama, longo, com 16-18 cerdas plumosas longas marginais (figura 3).

Mandíbula: Similar ao estágio anterior.

Maxílula: Similar ao estágio anterior.

Maxila: Similar ao estágio anterior.

Primeiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Segundo maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Terceiro maxilípede: Similar ao estágio anterior.

Primeiro pereiópodo: Similar ao estágio anterior.

Segundo pereiópodo: Base desprovida de cerdas. Endopodito não segmentado com quatro cerdas longas esparsamente plumosas: 2 sub-apicais + 2 apicais. Exopodito bi-segmentado com 2 + 4 (2 apicais e 2 sub-apicais) cerdas plumosas longas (figura 5).

Terceiro pereiópodo: Endopodito e exopodito desprovido de cerdas (figura 5).

Quarto pereiópodo: Ainda rudimentar, porém endopodito e exopodito visíveis (figura 5).

Quinto pereiópodo: Surge neste estágio como um pequeno rudimento (figura 5).

Abdome: Similar ao estágio anterior.

Urópodo: Similar ao estágio anterior. Birreme, endopodito com 14-16 cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna. Exopodito com 18-20 cerdas plumosas longas marginais, igualmente distribuídas na margem posterior e interna e duas cerdas plumosas longas sub-marginais na superfície dorsal e um espinho curto no ângulo externo. Telson arredondado, com um espinho no ângulo e margem posterior com quatro cerdas plumosas curtas (figura 4).

## **Discussão**

As características gerais do desenvolvimento larval de *S. hispidus* descritos neste trabalho são semelhantes às descrições anteriores e para outros Stenopodidea (tabela 1). Em amostras planctônicas, as larvas desta espécie são facilmente identificadas pela coloração (transparente com detalhes em vermelho), curvatura característica do corpo e, principalmente, pelos processos espinhosos dorsais nos somitos abdominais, evidentes em todos os estágios



larvais. Alguns processos dorsais também são característicos em larvas dos grupos Anomura, Thalassinidae e Dromiacea (ver Pohle *et al.* 1999).

Tais semelhanças entre estes grupos não são restritas apenas a aparência geral das larvas e processos abdominais. A presença de uma cerda do tipo plumosa curta e robusta, em forma de “escova”, na margem do télson é um caráter que vem chamado atenção de diversos pesquisadores, como Williamson (1976), Rice (1980) e Seridji (1990). Tais autores afirmam que a presença de tal processo é uma forte característica apomórfica entre os grupos citados e Burkenroad (1981) sugere que a presença desta cerda diferenciada seria uma característica herdada de um ancestral em comum entre estes Pleocyemata.

Diversas diferenças foram encontradas no desenvolvimento larval de *S. hispidus* quando comparados com as descrições anteriores (tabela 2). Além de diferenças morfológicas, diferenças terminológicas também dificultaram uma comparação acurada. Clark *et al.* (1998), em sua proposta de padronização para descrições larvais em Brachyura, já afirmavam que o uso de caracteres larvais em sistemática têm sido dificultado por descrições incompletas ou antigas, realizadas com auxílio de equipamentos ultrapassados.

Segundo Gurney (1924), os autores Brocks & Herrick (1891), atribuíram ser da espécie *S. hispidus*, a primeira zoea de um possível Thalassinidae e os estágios mais avançados obtidos no plâncton, provavelmente algum Caridea, bem como o decapodito de alguma espécie do gênero *Sergestes*. Comparando-se a descrição de Brocks & Herrick (1891) com este trabalho, caracteres básicos da primeira zoea de *S. hispidus* como os processos espinhosos foram descritos em diferentes somitos abdominais, como por exemplo, o segundo somito abdominal que é desprovido de espinhos e foi descrito apresentando os espinhos laterais e o dorsal comum do terceiro somito (ver tabela 2).

Gurney (1924) também cometeu alguns erros quando descreveu partes da segunda e terceira zoea como sendo o mesmo estágio larval. Em *S. hispidus*, no terceiro estágio de zoea ocorre o aparecimento do urópodo, fato não apresentado no trabalho citado. Williamson

(1976) fez alguns comentários sobre as zoeas dessa mesma espécie providas de amostras planctônicas do Oceano Índico e a única diferença que relata são presença de “botões” nas pleuras dos somitos abdominais três a cinco. Neste trabalho, não foram observados botões entre os somitos abdominais, apenas os processos espinhosos típicos, como na descrição realizada por Gurney (1936), o que pode indicar uma diferença entre as larvas provenientes do Pacífico e Atlântico. Diversos fatores podem influenciar a variabilidade morfológica de uma larva, como a distância latitudinal dos exemplares coletados para as descrições ou mesmo o efeito laboratorial, que pode ser uma fonte de variabilidade não encontrada na natureza e deve ser considerado (Ingle, 1992).

Entre as outras diferenças encontradas, podemos destacar as antênulas, em que Brooks & Herrick (1891) e Gurney (1936) não descrevem anteriormente a quantidade nem os tipos de cerdas. Na antena, a quantidade e disposição corroboram com este trabalho em relação ao primeiro estágio de zoea, porém, o desenvolvimento destes apêndices nunca foi detalhado e informações importantes como o surgimento da escama antenal a partir do terceiro estágio nunca tinha sido apresentado (figura 3). O pedúnculo não segmentado corrobora com descrições anteriores, bem como com a descrição da espécie *S. spinosus*, realizada por Saridji (1990), diferenciando da espécie *M. semilaeve* que possui um pedúnculo bi-segmentado (Martin & Goy, 2004) (ver tabela 1).

Em relação aos apêndices bucais, todos os trabalhos anteriores enfatizam o grande tamanho da mandíbula das zoeas deste grupo e, em *S. hispidus*, aparece como uma estrutura complexa, descrita erroneamente por Brooks & Herrick (1891) como sendo lisa e cortante. Nesta espécie, a mandíbula possui dentes fortes e proeminentes, diferenciando da forma simples e com superfície cortante de *M. semilaeve*, descrito por Martin & Goy (2004), sugerindo uma diferenciação nos hábitos alimentares entre as larvas destas duas espécies.

Outros apêndices, como a maxílula e maxila, apresentam uma grande quantidade de cerdas plumosas e esparsamente plumosas que não foram descritas anteriormente para *S.*

*hispidus*. Embora *M. semilaeve* não apresente indício de palpo na maxílula (Martin & Goy, 2004), *S. hispidus* possui um rudimento que pode ser atribuído ao palpo e o mesmo ocorre em *S. spinosus* (ver Seridji, 1990), o que sugere uma característica comum ao gênero.

Quanto aos maxilípedes, o primeiro maxilípede difere do segundo e terceiro que são maiores e já possuem cerdas plumosas com função natatória. O primeiro pereiópodo também tem função natatória e é bem desenvolvido desde o primeiro estágio de zoea, o que é comum em todas as larvas de Stenopodidea descritas até o momento (ver tabela 1). Em relação ao surgimento e desenvolvimento dos demais pereiópodos, as larvas criadas em laboratório apresentaram o quinto pereiópodo como um rudimento somente no estágio de zoea nove, enquanto as larvas provenientes do plâncton já apresentam pereiópodos bem desenvolvidos no nono (?) estágio de zoea (Gurney, 1936) e, em *S. spinosus*, o quinto pereiópodo surge como um rudimento já no quinto estágio de zoea (Seridji, 1990).

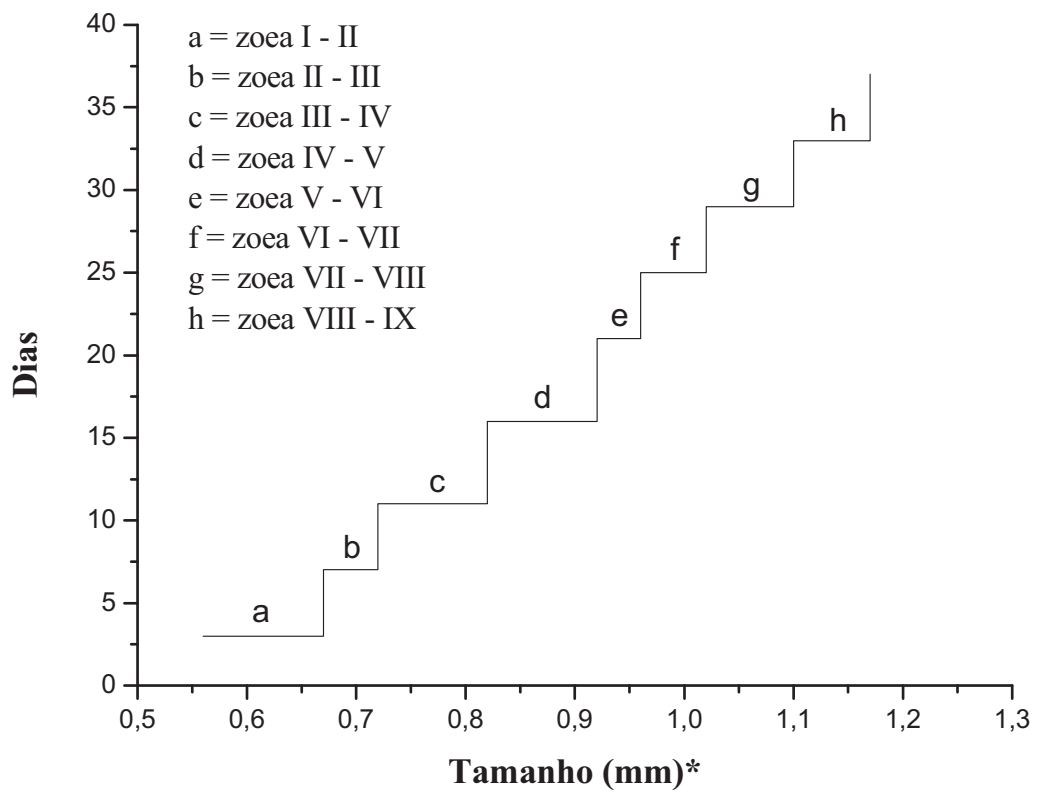
A ausência dos pleópodos, representados somente por diminutos rudimentos a partir do quarto estágio de zoea, confirma que não se obteve o decapodito neste trabalho. Embora Gurney (1924; 1936) e Seridji (1990) também tenham relatado ausência de pleópodos em estágios avançados provenientes do plâncton de *S. hispidus* e *S. spinosus* respectivamente, Lebour (1940) descreveu a última larva e a pós-larva de *S. hispidus* também obtidos no plâncton e aponta a presença de pleópodos com cerdas em todos os segmentos abdominais (primeiro segmento com pleópodos reduzidos).

Sobre a manutenção das larvas desta espécie em pequenos recipientes, há uma facilidade na recuperação de exúvias para a descrição morfológica e pode-se determinar exatamente o tempo de intermuda das larvas. Porém, quando criados desta forma, a mortalidade mostrou-se elevada e um sistema de larvicultura com maior volume de água e filtragem, como recomendado por Calado *et al.* (2003), seria indicado para o aumento de sobrevivência em um cultivo com fins comerciais. Tais autores obtiveram índices de sobrevivência e obtenção de pós-larvas acima dos 60% para *Lysmata wurdemanni* (Gibbes, 1850) e 70% para *Lysmata*

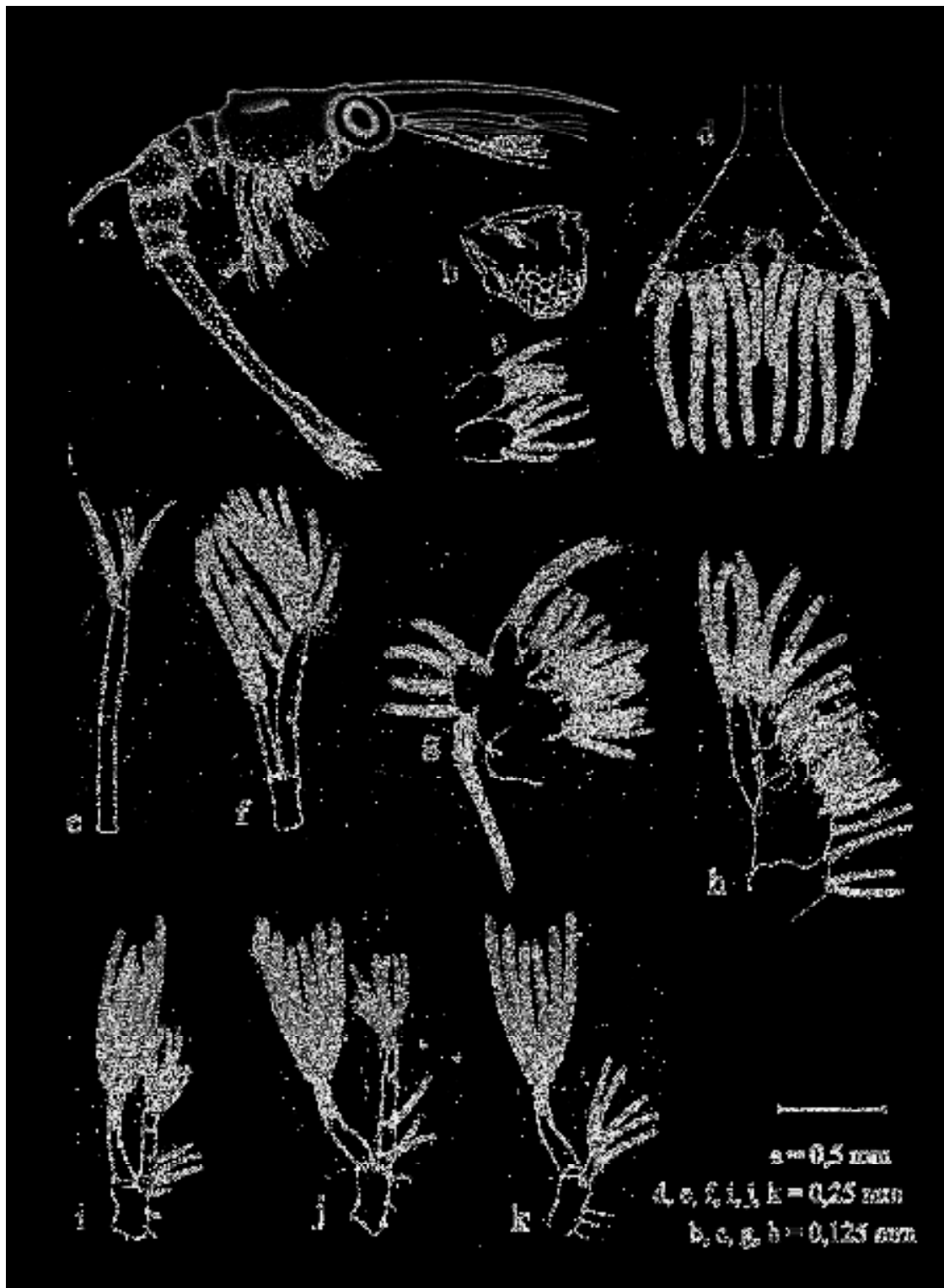
*seticaudata* (Risso, 1816), espécies de grande interesse ornamental, enquanto a mortalidade foi de 100% na passagem de zoea IX para zoea X neste trabalho.

Como nos últimos anos têm-se aumentado os esforços para reduzir a pressão nos estoques naturais de espécies marinhas com interesse ornamental (Corbin, 2001), comerciantes e pesquisadores têm salientado que a criação em cativeiro de certas espécies seria a melhor e mais sustentável alternativa para a retirada de espécimes da natureza para suprir a demanda (Fletcher *et al.* 1995; Calado *et al.* 2005). No caso dos decápodos, o desenvolvimento de tecnologias para cultivo larval está focado em um reduzido número de espécies, que inclui a espécie *S. hispidus*, (Fletcher *et al.* 1995; Palmtag & Holt, 2001) com um histórico de tentativas de pouco sucesso principalmente devido à alta mortalidade e ao longo período de desenvolvimento larval (Casto & Jorry, 1983; Fletcher *et al.* 1995; Zhang *et al.* 1997, 1998).

Porém, nas condições deste trabalho, a espécie *S. hispidus* atingiu nove estágios de zoea em apenas 37 dias, sugerindo que o tempo para a obtenção de pós-larvas pode ser inferior aos 135-219 dias estimados inicialmente por Fletcher *et al.* (1995). Zhang *et al.* 1997, conseguiram obter pós-larvas de *Stenopus scutellatus* entre 43-77 dias, informação que reforça a viabilidade de cultivo de espécies do gênero *Stenopus* Latreille, 1819 com interesse ornamental.



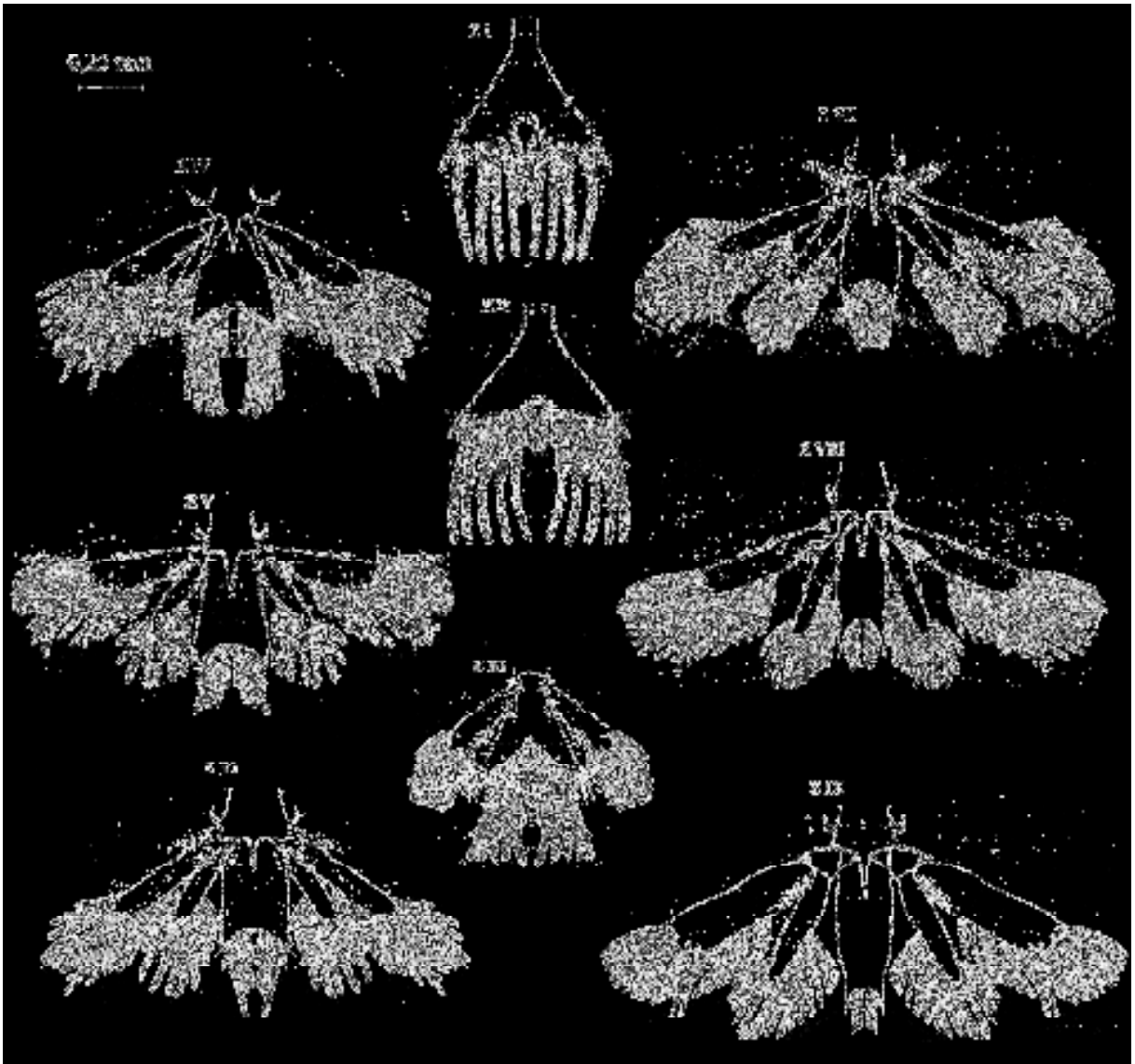
**Figura 1:** Tamanhos e tempos observados para zoeas de *Stenopus hispidus* obtidas e criadas em laboratório a  $24 \pm 0,1^\circ\text{C}$ . (\* comprimento do cefalotórax, distância tomada da margem pós-orbital até a extremidade posterior da carapaça, excluindo-se o rostro.)



**Figura 2:** *Stenopus hispidus*. Primeiro estágio de zoea: a, larva em vista lateral; b, mandíbula; c, maxílula; d, telso; e, antênula; f, antena; g, maxila; h, primeiro maxilípede; i, segundo maxilípede; j, terceiro maxilípede; k, primeiro pereiópodo.

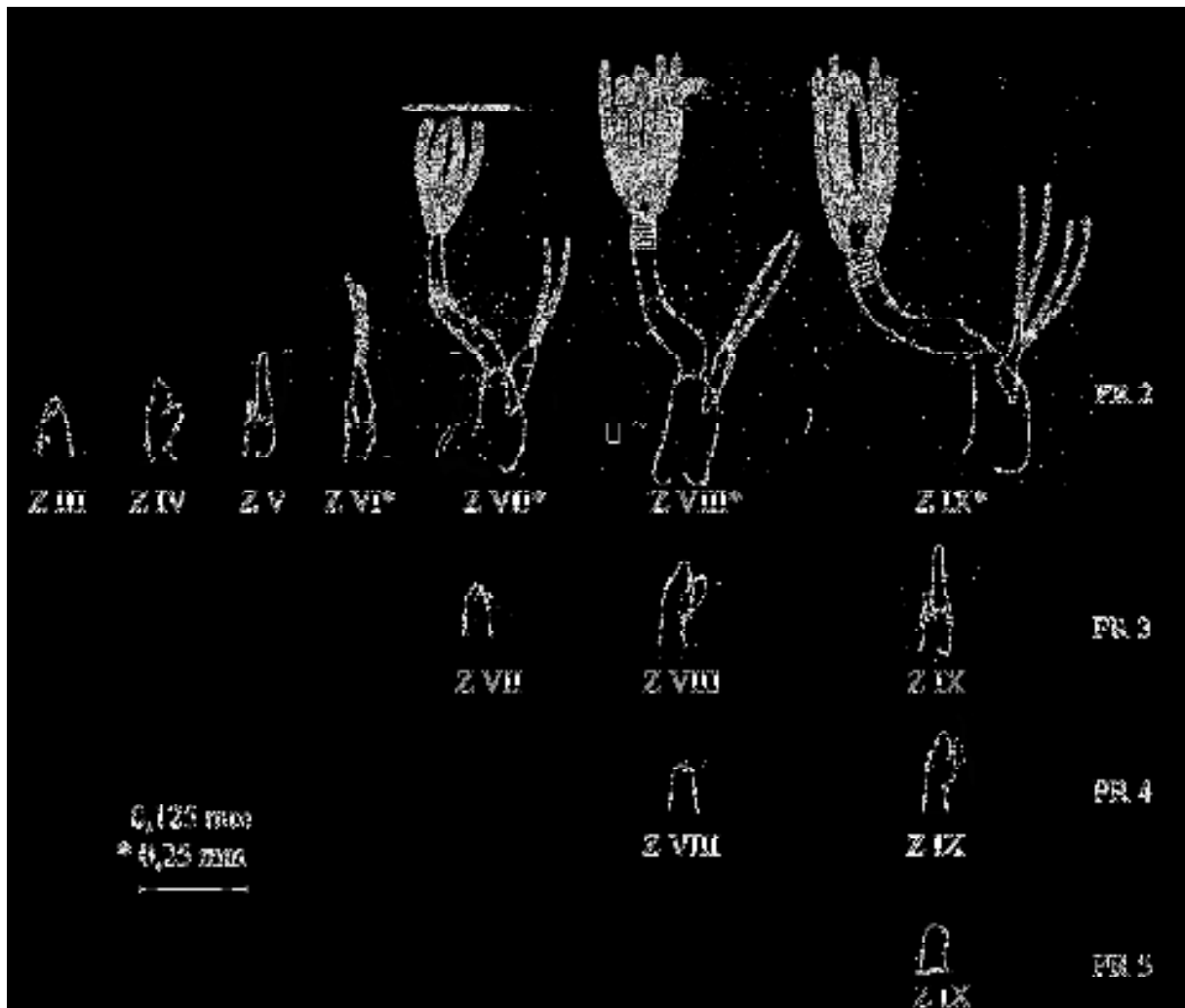


**Figura 3:** *Stenopus hispidus*. Desenvolvimento da antênula (acima) e antena (abaixo). Z I, primeiro estágio de zoea; Z II, segundo estágio de zoea; Z III, terceiro estágio de zoea; Z IV, quarto estágio de zoea; Z V, quinto estágio de zoea; Z VI, sexto estágio de zoea; Z VII, sétimo estágio de zoea; Z VIII, oitavo estágio de zoea; Z IX, nono estágio de zoea.



**Figura 4:** *Stenopus hispidus*. Desenvolvimento do télson e urópodo. Z I, primeiro estágio de zoea; Z II, segundo estágio de zoea; Z III, terceiro estágio de zoea; Z IV, quarto estágio de zoea; Z V, quinto estágio de zoea; Z VI, sexto estágio de zoea; Z VII, sétimo estágio de zoea; Z VIII, oitavo estágio de zoea; Z IX, nono estágio de zoea.





**Figura 5:** *Stenopus hispidus*. Desenvolvimento dos pereiópodos (exceto o primeiro pereiópodo). Z I, primeiro estágio de zoea; Z II, segundo estágio de zoea; Z III, terceiro estágio de zoea; Z IV, quarto estágio de zoea; Z V, quinto estágio de zoea; Z VI, sexto estágio de zoea; Z VII, sétimo estágio de zoea; Z VIII, oitavo estágio de zoea; Z IX, nono estágio de zoea; PR 2, segundo pereiópodo; PR 3, terceiro pereiópodo; PR 4, quarto pereiópodo; PR 5, quinto pereiópodo.

**Tabela 1.** Diferenças entre caracteres morfológicos do primeiro estágio de zoea em Stenopodidea já descritos.

	<b>Característica</b>	<i>Microprosthema semilaeve</i> (Spongicolidae)	<i>Stenopus spinosus</i> (Stenopodidae)	<i>Stenopus hispidus</i> (Stenopodidae)
<b>Autores</b>		Martin & Goy, 2004	Saridji, 1990	Presente trabalho
<b>Local</b>		Ilhas Virgens Britânicas	Mar da Tunísia/Algéria	Fortaleza, CE, Brasil
<b>Carapaça</b>	Espinhos na extremidade do rosto	-	+	+
	Espinho 1° somito	-	1 par LA	1 par LA
	Espinho 2° somito	-	1 par VL	-
<b>Abdome</b>	Espinho 3° somito	1 DO (curto)	1 par VL, 1 DO	1 par LA, 1 DO
	Espinho 4° somito	-	1 par VL	-
	Espinho 5° somito	1 par VE	1 par VL, 1 DO	1 par VL, 1 DO
<b>Télson</b>	Espinhos margem externa	1	8	5
<b>Antênula</b>	Exopodito	2 segmentos: 4 PL	não segmentado: 2 PL	não segmentado: 1 PL, 3S
<b>Antena</b>	Exopodito	7-11 PL	10 PL	10 PL
<b>Mandíbula</b>	Palpo vestigial	-	?	-
	Dentes	-	?	+
	Palpo vestigial	-	+	+
<b>Maxilula</b>	Endito coxal	1CS, 1 SER, 3PLD	5 SP, 3PLD*	4 EPL, 1PLD
	Endito basal	2 SP, 3 PLD	3 SP, 2 PLD*	5 EPL
	Endito coxal	parcialmente bilobado: 0, 5 EPL*	parcialmente bilobado: 3,8 S*	parcialmente bilobado: 2 PL, 9 PL/EPL
<b>Maxila</b>	Endito basal	bilobado: 3, 4 EPL*	bilobado: 4, 4 S*	bilobado: 2, 3 EPL
	Endopodito	parcialmente bilobado: 1, 2 EPL*	3 PL	3 EPL
	Exopodito (escafognatito)	2 PL	5 PL	5 PL

<b>Primeiro Maxilípede</b>	Endito coxal	2 PLD	?	2, 1 EPL
	Endito basal	3, 2, 2 PLD	2, 3, 2, 3 PL	1, 3, 4, 3 EPL
	Endopodito	2 segmentos, proximal: 2 EPL*, distal: 2, 4 EPL*	2 segmentos, proximal: 2 PL*, distal: 1, 3 PL*	2 segmentos, proximal: 3 EPL, distal: 2 EPL, 4 PL
	Exopodito	4 PL	4 PL	4 PL
<b>Segundo Maxilípede</b>	Base	1, 1, 2 EPL*	1, 2 PL*	1 S, 1, 3 EPL
	Endopodito	5 segmentos: 2, 1, 0, 2, 5 EPL*	5 segmentos: 2, 1, 0, 2, 5 PL*	5 segmentos: 2, 1, 0, 2, 5 EPL
	Exopodito	2 segmentos: 1, 5 PL	2 segmentos: 0, 6 PL	2 segmentos: 2, 4 PL
<b>Terceiro Maxilípede</b>	Base	1 S, 1, 1 EPL*	?	1, 1 EPL
	Endopodito	5 segmentos: 2, 1, 0, 1, 4 EPL*	?	5 segmentos: 2, 1, 0, 2, 5 PL
	Exopodito	2 segmentos: 1, 4 EPL*	?	2 segmentos: 2, 4 PL
<b>Primeiro Pereiópodo</b>	Base	?	?	2-3 EPL, 1S
	Endopodito	5 PL	5 EPL*	5 EPL
	Exopodito	2 segmentos: 2, 4 PL*	?	2 segmentos: 2, 4 PL

LA= lateral; VL= ventro-lateral; DO= dorsal; VE= ventral; S= cerda simples; PL= cerda plumosa; PLD= cerda plumo-denticulada; EPL= cerda esparsamente plumosa; CS= cerda cuspidada; SER= cerda serrada; (+) presença; (-) ausência; (?) não descrito pelo autor; (\*) baseado apenas em desenhos ou pranchas.

**Tabela 2:** Comparação entre descrições do primeiro estágio de zoea de *Stenopus hispidus*.

	<b>Característica</b>	<b>Brooks &amp; Herrick, 1891</b>	<b>Gurney, 1936</b>	<b>Presente trabalho</b>
<b>Origem</b>		Green Turtle Key, Ilhas Bahamas	Ilhas Bermudas, Caribe, Atlântico Norte: 32°20'00''N e 64°43'35''W	Fortaleza, Ceará, Brasil, Atlântico Sul: 3°43'05''S e 38°32'35''W
<b>Carapaça</b>	Espinhos na extremidade do rosto	+	+	+
<b>Abdome</b>	Espinho 1° somito	1 par LA	1 par LA	1 par LA
	Espinho 2° somito	1 par LA, 1 DO	-	-
	Espinho 3° somito	?	1 par LA, 1 DO	1 par LA, 1 DO
	Espinho 4° somito	?	-	-
	Espinho 5° somito	?	1 par VL, 1 DO	1 par VL, 1 DO
	6° somito fusionado com télson	+*	+	+
<b>Télson</b>	Espinhos margem externa	4*	4*	5
	Cerdas margem posterior	6 PL	6 PL*	6 PL
<b>Antênula</b>	Endopodito	1 PL*	1 PL*	1 PL
	Exopodito	não segmentado*: 1 PL, 4S	Não segmentado	não segmentado: 1 PL, 3S
<b>Antena</b>	Endopodito	2 PL	2 PL*	2 PL
	Exopodito	11 PL	10 PL*	10 PL
<b>Mandíbula</b>	Palpo vestigial	-	-	-
	Dentes	?	?	+
<b>Maxilula</b>	Palpo vestigial	-	+	+
	Endito coxal	?	5*	4 EPL, 1PLD
	Endito basal	?	6*	5 EPL
<b>Maxila</b>	Endito coxal	parcialmente bilobado*	parcialmente bilobado: 2, 7*	parcialmente bilobado: 2 PL, 9 PL/EPL
	Endito basal	bilobado*	bilobado: 3, 3*	bilobado: 2, 3 EPL
	Endopodito	?	3	3 EPL

	Exopodito (escafognatito)	?	5 PL*	5 PL
<b>Primeiro Maxilípede</b>	Endito coxal	?	2*	2, 1 EPL
	Endito basal	?	1, 2, 4, 3*	1, 3, 4, 3 EPL
	Endopodito	?	2 segmentos: proximal: 3, distal: 1, 4*	2 segmentos, proximal: 3 EPL, distal: 2 EPL, 4 PL
	Exopodito	?	4	4 PL
<b>Segundo Maxilípede</b>	Base	?	1, 1, 2*	1 S, 1, 3 EPL
	Endopodito	4 segmentos: 0, 0, 0, 4*	5 segmentos: 2, 1, 0, 2, 5*	5 segmentos: 2, 1, 0, 2, 5 EPL
	Exopodito	não segmentado: 6 PL*	não segmentado: 6*	2 segmentos: 2, 4 PL
<b>Terceiro Maxilípede</b>	Base	?	?	1, 1 EPL
	Endopodito	4 segmentos: 0, 0, 2, 4*	5 segmentos	5 segmentos: 2, 1, 0, 2, 5 PL
	Exopodito	não segmentado: 6 PL*	6	2 segmentos: 2, 4 PL
<b>Primeiro Pereiópodo</b>	Base	?	1 ESP, 2S*	2-3 EPL, 1S
	Endopodito	5 PL*	5 EPL*	5 EPL
	Exopodito	não segmentado: 6 PL*	6	2 segmentos: 2, 4 PL

LA= lateral; VL= ventro-lateral; DO= dorsal; VE= ventral; S= cerda simples; PL= cerda plumosa; PLD= cerda plumo-denticulada; EPL= cerda esparsamente plumosa; (+) presença; (-) ausência; (?) não descrito pelo autor; (\*) baseado apenas em desenhos.

## Referências

- Bourdillon-Casanova, L. 1960. Le meroplanton du Golfe de Marseille: Les larves de Crustacés Decapodes. Recueil Travaux Station Marine Endoume, 30(18): 1-268.
- Brooks, W. K. and F. H. Herrick. 1891. The embriology and metamorphosis of the Macrura. Memoirs of the National Academy of Sciences, 5: 321-576.
- Burkenroad, M. D. 1981. The higher taxonomy and evolution of Decapoda (Crustacea). Transactions of the San Diego Society of Natural History, 19: 251–268.
- Calado, R., Narciso, L., Morais, S, Rhyne, A. L. and J. Lin. 2003. A rearing system for the culture of ornamental decapod crustacean larvae. Aquaculture, 218: 329-339.
- Calado, R., Rosa, R., Morais, S., Nunes, M. L. and L. Narciso. 2005. Growth, survival, lipid and fatty acid profile of juvenile Monaco shrimp *Lysmata seticaudata* fed on different diets. Aquaculture Research, 36: 493-504.
- Cano, G. 1891. Sviluppo post-embrionale dello *Stenopus spinosus* Risso. Studio morfologico. Bolletino Della Società dei Naturalistit in Napoli 1(5): 134-137.
- Clark, P. F., Calazans, D. K. and G. W. Pohle. 1998. Accuracy and standardization of brachyuran larval descriptions. Invertebrate Reproduction and Development 33(2/3): 127-144.
- Coelho, P. A. and M. Ramos-Porto. 1998. Malacostraca. Eucarida. Stenopodidea, pp. 323-324. In, P. S. Young (ed.) Catalogue of Crustacea of Brazil. Série Livros n. 6, Museu Nacional, Rio de Janeiro.
- Colin, P. L. 1978. Carribean Reef Invertebrates and Plants. THF Publications, Inc., Ltd., Neptune City, 512 p.
- Corbin, J. S. 2001. Marine Ornamentals'99, conference highlights and priority recommendations, pp. 3-11. In, P. Burgess (ed.) Marine Ornamental Conference, Aquarium Sciences and Conservation 3, Hawaii.
- Fletcher, D. J., Kötter, I., Wunsch, M. and I. Yasir. 1995. Preliminary observations on the reproductive biology of ornamental cleaner prawns. International Zoology Yearbook 34: 73-77.

- Gregati, R. A., Pinheiro, A. P. and V. J. Cobo. 2006. New records of *Stenopus hispidus* Olivier, 1811 (Stenopodidae) and *Enoplometopus antillensis* Lütken, 1865 (Enoplometopidae) in the Southeastern of the Brazilian coast. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 1(1): 20-23.
- Gurney, R. 1924. British Antarctic ("Terra Nova") Expedition, 1910. Natural History Reports. Zoology, Volume VIII, Crustacea IX, Decapod larvae. The British Museum of Natural History, London, 202 p.
- Gurney, R. 1936. Larvae of Decapod Crustacea. Part I: Stenopidea. *Reproduction*, 12: 379-392.
- Holthuis, L. B. 1946. The Stenopodidae, Nephropsidae, Scyllaridae and Palinuridae. The Decapoda, Macrura of the Snellius Expedition, 1. *Temminckia* 7: 1-178.
- Holthuis, L. B. 1993. The recent genera of the Caridean and Stenopodidean shrimps (Crustacea, Decapoda) with an appendix on the order Amphionidacea. Nationaal Natuurhistorisch Museum, Leiden, 328 p.
- Ingle, R. W. 1992. Larval stages of Northeastern Atlantic crabs. An illustrated key. Chapman and Hall, London, 363 p.
- Johnson Jr., V. R. 1977. Individual recognition in the banded shrimp *Stenopus hispidus* (Olivier). *Animal Behaviour* 25: 418-428.
- Jonasson, M. 1987. Fish cleaning behavior of shrimp. *Journal of Zoology*, 213: 117-131.
- Kruczynski, W. L. and C. E. Jenner. 1969. *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) (Decapoda, Natantia, Stenopodidae), a Northern on the East coast of the U.S.A. *Crustaceana*, 16: 105-106.
- Kurian, C. 1956. Larvae of Decapod Crustacea from the Adriatic Sea. *Acta Adriatica*, 6: 1-118.
- Lebour, M. V. 1940. The stenopid larvae of Bermuda. In: Gurney, R. & M. V. Lebour (eds.) On the larvae of certain Crustacea Macrura, mainly from Bermuda. *Linnean Society Journal of Zoology*, 41: 161-181.
- Limbaugh, C., Pederson, H. and F. A. Chace. 1961. Shrimps that clean fishes. *Bulletin of Marine Science*, 11(2): 237-257.

- Lukens, R. 1978. Notes on *Stenopus scutellatus* and *Stenopus hispidus* (Decapoda, Stenopodidae) from Mississippi. Gulf Research Reports 6: 75-76.
- Martin, J. W. and J. W. Goy. 2004. The first larval stage of *Microprosthema semilaeve* (Von Martens, 1872) (Crustacea: Decapoda: Stenopodidea) obtained in laboratory. Gulf and Caribbean Research, 16: 19-25.
- Palmtag, M. R. and G. J. Holt. 2001. Captive rearing of the shrimp (*Lysmata debelius*). Texas Sea Grant College Program Research Report: 1-4.
- Pohle, G., Mantelatto, F. L. M., Negreiros-Fransozo, M. L. and A. Fransozo. 1999. Larval decapod, pp. 1281-1351. In, D. Boltovsky (ed.) South Atlantic Zooplankton. Backys Publishers, vol. 2, Leiden.
- Pohle, G. W. and F. Marques. 2000. Larval stages of *Paradasygius depressus* (Bell, 1835) (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Majidae) and a phylogenetic analysis for 21 genera of Majidae. Proceedings of the Biological Society of Washington, 113: 739-760.
- Pohle, G. W. and M. Telford. 1981. Morphology and classification of Decapod crustacean larval setae: a scanning electron microscope study of *Dissodactylus crinitichelis* Moreira, 1901 (Brachyura: Pinnotheridae). Bulletin of Marine Science, 3(3): 736-752.
- Provenzano, A. J. 1985. Commercial culture of decapod crustaceans, pp. 269-314. In, A. J. Provenzano (ed.) The Biology of Crustacea, Economic Aspects: Fisheries and Culture. Academic Press, vol. 10, New York.
- Raje, P. C. and M. P. Ranade. 1978. Early life history of a Stenopodid shrimp, *Microprosthema semilaeve* (von Martens) (Decapoda: Macrura). Journal of the Marine Biological Association of India, 17(1): 213-222.
- Rice, A. L. 1980. Crab zoeal morphology and its bearing on the classification of the Brachyura. Transactions of the Zoological Society of London, 35: 271-424.
- Sazima, I., Grossman, A. and C. Sazima 2004. Hawksbill turtles visit moustached barbers: cleaning symbiosis between *Eretmochelys imbricata* and the shrimp *Stenopus hispidus*. Biota Neotropica, 4(1): 1-6.



- Seridji, R. 1990. Descriptions of some planktonic larval stages of *Stenopus spinosus* Risso, 1826. Notes on the genus and the systematic position of the Stenopodidea as revealed by larval characters. *Scientia Marina*, 54(3): 293-303.
- Williamson, D. I. 1976. Larvae of Stenopodidae (Crustacea, Decapoda) from the Indian Ocean. *Journal of Natural History*, 10: 497-509.
- Zhang, D., Lin, J. and R. L. Creswell. 1997. Effect on eyestalk ablation on molt cycle and reproduction in the banded shrimp *Stenopus hispidus*. *Journal of Shellfish Research*, 16(2): 363-366.
- Zhang, D., Lin, J. & R. L. Creswell 1998. Matting behavior and spawning of the banded coral shrimp *Stenopus hispidus* in the laboratory. *Journal of Crustacean Biology*, 18(3): 511-518.

# **Considerações Finais**

As informações relacionadas à reprodução da espécie *Stenopus hispidus*, que se encontram apresentadas neste trabalho, certamente, ampliam o conhecimento científico para a Infraordem Stenopodidea. Não se sabe ao certo a razão da existência de tão poucos trabalhos científicos sobre espécies desta Infraordem, já que é um grupo formado por um reduzido número de espécies (pouco mais de 40 espécies descritas em sua forma adulta), ocorrem em águas costeiras de vários países pelo mundo e são relativamente fáceis de serem obtidos na natureza (exceto os que ocorrem em águas marinhas profundas). Além disso, como acontece com *S. hispidus*, várias outras espécies possuem grande interesse comercial na aquariofilia e são retiradas dos seus ambientes naturais pelo mundo todo, como *S. scutellatus* Rankin, 1898, *S. devaneyi* Goy & Randall, 1984, *S. tenuirostris* De Man, 1888, *S. zanzibaricus* Bruce, 1976, *S. cyanoscelis* Goy, 1984, e até mesmo os pequenos *Microprosthema* Stimpson, 1960.

A escassez de informações básicas de cunho reprodutivo sobre Stenopodidea deixa uma grande lacuna na história evolutiva dos crustáceos decápodos. Os resultados inéditos aqui apresentados podem servir como base em discussões futuras sobre hipóteses filogenéticas de Decapoda, uma vez que diferenças na morfologia reprodutiva e o processo de inseminação indicam mecanismos de isolamento reprodutivo e especiação, o processo filogenético básico. Além disso, qualquer conhecimento sobre a reprodução de uma espécie, incluindo o modo de transferência espermática, comportamentos pré-copulatórios, de cópula e pós-copulatórios, além do desenvolvimento gonadal e ciclos ovarianos, são fundamentais para o domínio das técnicas de cultivo. Nesse sentido, algumas informações aqui apresentadas podem, também, contribuir com a redução da pressão sobre os estoques naturais de espécies marinhas de interesse ornamental, auxiliando a promover um uso sustentável desses recursos.

O mesmo ocorre com as descrições sobre o desenvolvimento larval. Embora neste trabalho não tenha sido apresentado o desenvolvimento larval completo de *S. hispidus*, as descrições dos estágios larvais mostrados aqui, bem como seu tempo de duração, podem ser

informações muito valiosas para o aprimoramento das técnicas de cultura em larga escala desta espécie. Adicionalmente, tais informações são fundamentais para a identificação e compreensão da ecologia do plâncton marinho e podem subsidiar nos estudos sobre relações de parentesco. Como já citado ao longo dos capítulos, um dos principais problemas apontados por outros pesquisadores na produção de *S. hispidus* está relacionado, principalmente, à longa duração do período de desenvolvimento larval, o que não parece ocorrer de fato. Deve-se levar em conta, ainda, que todas as descrições anteriores para esta espécie foram realizadas com larvas provenientes do plâncton e inclusive de outras localidades.

Enfim, todas as informações contidas neste trabalho são apenas os esforços iniciais para se tentar compreender a reprodução de *S. hispidus* e, quem sabe, de Stenopodidea. Outros trabalhos experimentais ainda devem ser realizados com esta espécie, complementando a compreensão de sua biologia.