UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MORFOLOGIA DOS CARACTERES SEXUAIS SECUNDÁRIOS E CARACTERIZAÇÃO GONADAL MASCULINA EM *XIPHOPENAEUS KROYERI* (HELLER, 1862) (CRUSTACEA, DENDROBRANCHIATA, PENAEOIDEA)

Vivian Negreiros Fransozo

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Carvalho dos Santos **Co-orientadora:** Profa. Dra. Elisa Aparecida Gregório

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Botucatu, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas, curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração: Zoologia

BOTUCATU –SP 2008 Dedico este trabalho...

Aos meus pais, Adilson e Lúcia, à minha irmãzinha, Lica, e ao meu namorado, Rô.

Obrigada pela ajuda na realização de mais um sonho. Eu Amo Todos Vocês. Meus sinceros agradecimentos...

À Profa Dra Daniela Carvalho dos Santos pela orientação desde a minha graduação, pela sua amizade, paciência e confiança, durante todo o este período.

À Profa Dra Laura López Greco por toda a sua amizade, orientação, confiança, competência, e conselhos, estando sempre à disposição para me ajudar.

À Profa Dra Elisa A. Gregório pela co-orientação, amizade, competência e por ter confiado em mim.

À Capes (Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior) pela bolsa de mestrado a mim concedida.

Ao curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Zoologia), do IB - Botucatu, pelas facilidades concedidas.

Aos funcionários da Pós-graduação (Sérgio, Lú e Ma) pelo carinho e pela atenção dispensada.

Aos funcionários Maria Helena, Claudete e, especialmente, ao Nivalde, do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências -UNESP - Botucatu, pelo auxílio, tanto no processamento como junto ao microscópio eletrônico de varredura. Ao amigo Kleber, pela ajuda com as técnicas laboratoriais e pelos momentos divertidos.

Ao laboratório de Biologia Celular do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu, pela atenção e ajuda durante o processamento do material.

Ao Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências - UNESP -Botucatu, pelas facilidades obtidas.

Aos amigos do NEBECC (Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos), pela grande ajuda durante as coletas do material deste trabalho.

Aos amigos do laboratório Ariádine, Kátia, Michele, Gabi, Jorjão, Juliana, Xuxa, Japa, Frio, Tony e Guga, que sempre estiveram presentes nos momentos de conquista, adoro vocês.

À minha tia Fer, ao meu tio Tiago e aos meus priminhos "australianos" (= aborígenes), Júlia e Lorenzo, por todos os churrascos divertidos e barulhentos de domingo, eu amo vocês.

À minha tia Carol, por ser a pessoa mais risonha, alegre, fofa e chorona que eu já conheci, eu amo você também.

Aos amigos Aline, Valéria, Carlinhos e Guilherme por todos os momentos divertidíssimos que passamos juntos, vocês moram no meu coração. Às minhas eternas amigas Bele, Bianka, Cintia, Elaine, Iara e Iza (Inxada), obrigada por tudo o que passamos juntas, vocês são pessoas muito gueridas, adoro vocês.

Às minhas queridas cachorrinhas (Shyva, Brava e Mel), por estarem sempre felizes com a minha presença.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO		1
--------------	--	---

CAPÍTULO 1	6
RESUMO	6
ABSTRACT	8
INTRODUÇÃO	10
MATERIAL E MÉTODOS	14
RESULTADOS	
DISCUSSÃO	21
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 2	
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	35
MATERIAL E MÉTODOS	
RESULTADOS	40
DISCUSSÃO	43
REFERÊNCIAS	46

APRESENTAÇÃO

APRESENTAÇÃO

A maioria dos camarões peneídeos apresenta importância comercial ao longo do litoral brasileiro. Portanto, o conhecimento detalhado da biologia dessas espécies tornase imprescindível, considerando que as mesmas estão sujeitas a uma maior exploração pesqueira em relação aos decápodos não comestíveis. A preservação dos estoques naturais depende de um conhecimento profundo de todos os aspectos biológicos inerentes às espécies e àquelas que se relacionam com elas (predadores, presas, simbiontes, parasitas, etc).

No Estado de São Paulo, a espécie de camarão peneídeo mais explorada comercialmente, em termos de biomassa, é *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862), denominado popularmente como camarão Sete-barbas (Rodrigues *et al.* 1993, Nakagaki & Negreiro-Fransozo 1998 e Castro *et al.* 2005). A espécie eleita para o presente estudo é o camarão *X. kroyeri* que, de acordo com Pérez-Farfante & Kensley (1997) e *Costa et al.* (2000) ocorre na costa Pacífica das Américas do Norte e do Sul e na costa Atlântica americana, desde a Carolina do Norte até o Golfo do México, do Mar do Caribe até Santa Catarina, no Brasil.

A diagnose da espécie *X. kroyeri*, segundo Pérez-Farfante & Kensley (1997), é a seguinte:

"Rostro longo, consideravelmente ultrapassando o pedúnculo antenular, geralmente mais longo do que a carapaça nos adultos, sinuoso, estiliforme anteriormente; armado com dentes somente na região dorsal; dente epigástrico separado distintamente do primeiro rostral. Carapaça com ângulo orbital bem marcado, espinhos antenal e hepático presentes; ângulo pterigostomial produzido, mas faltando espinho; sulco pós-ocular bem marcado; sulco órbito-antenal claramente distinto; sulco hepático e carena hepática aguda alcançando somente a base da região pterigostomial e posteriormente, emergindo com um longo sulco branquiocardíaco e carena, respectivamente; sutura longitudinal estendendo até cerca da metade do comprimento da carapaça, sem sutura transversa (em adultos). Abdome com seis somitos sustentando cicatriz. Telson não ornamentado. Antênula sem espinho parapeneídeo; flagelo antenular longo, dorsal maior que ventral. Palpo da maxílula inteiro, possuindo gradualmente minúsculos dentículos distalmente, produzido em um lobo próximo-lateral triangular pequeno provido de cerdas, lobo próximo-mesial provido de cerdas amplo e lóbulos dorso-mesiais bem pequenos agudos e providos de cerdas, este último armado com um espinho longo e delicado; fileira de espinhos distolaterais presentes na superfície ventral. Quarto e Quinto pereiópodos longos, muito mais do que o terceiro, subflageliforme, cada um com dáctilo multi-articulado. Somente o primeiro pereiópodo apresenta espinhos na base e no ísquio."

Nota: a descrição dos caracteres sexuais secundários é apresentada no primeiro capítulo desta dissertação.

O camarão Sete-barbas tem sido extensivamente estudado no Brasil, quanto a vários aspectos de sua biologia. As publicações mais relevantes estão relacionadas com sua biologia pesqueira, dinâmica populacional, distribuição geográfica e ecológica, reprodução e desenvolvimento larval. De acordo com Rodrigues et al. (1993), X. kroyeri representa o segundo recurso pesqueiro mais importante ao longo da costa paulista. A abundancia do camarão Sete-barbas é variável nas diferentes estações do ano e de acordo com Nakagaki et al. (1995), Nakagaki & Negreiros-Fransozo (1998), Fransozo et al. (2002) e Castro et al. (2005) a baixa abundância da espécie durante o verão devese à intrusão da corrente fria das Águas Centrais do Atlântico Sul (ACAS). Com relação aos aspectos ecológicos, Costa et al. (2007) relataram que os fatores ambientais mais relevantes que influenciam a distribuição espacial e sazonal da espécie são os seguintes: textura de sedimento, salinidade e temperatura. Nakagaki & Negreiros-Fransozo (1998) e Castro et al. (2005) mostraram que a espécie em questão apresentou um modelo de reprodução tropical/subtropical, seguindo a designação de Dall et al. (1990). O desenvolvimento larval de X. kroyeri, provavelmente, segue o padrão geral encontrado nos Penaeoidea, ou seja, 5 a 6 estágios naupliares, 3 estágios de Protozoea e 3 estágios de Mysis. A única publicação a respeito do desenvolvimento larval é a de Renfro & Cook (1962), porém somente até o terceiro estágio de protozoea.

Diante do exposto, verifica-se que existe uma lacuna no conhecimento sobre o tema proposto para esta dissertação, ou seja, a morfologia dos caracteres sexuais secundários e a caracterização histológica gonadal.

O conhecimento detalhado da morfologia externa e interna do aparelho reprodutor e apêndices anexos é fundamental para o entendimento do processo reprodutivo como um todo. Um exemplo é o entendimento do comportamento de acasalamento de uma determinada espécie de camarão, o qual depende da morfologia externa dos apêndices relacionados com a cópula e das condições de desenvolvimento das gônadas (estruturas internas).

Neste sentido, este trabalho sobre *X. kroyeri* reveste-se de importância tanto para subsidiar estudos mais aprofundados sobre o processo reprodutivo como para estimular um monitoramento mais adequado à preservação dos estoques naturais de uma espécie altamente importante do ponto de vista pesqueiro.

REFERÊNCIAS

- Castro, R. H., Costa, R. C., Fransozo, A. & Mantelatto, F.L.M. 2005. Population structure of the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Penaeoidea) in the littoral of São Paulo, Brazil. Sci. Mar., 69:105-112.
- Costa, R. C., Fransozo, A., Freire, F.A. M. & Castilho, A. L. 2007. Abundance and ecological distribution of the "Sete-barbas" shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Penaeoidea) in three bays of the Ubatuba region, Southeastern Brazil. Gulf and Caribbean Research, 19:33-41.
- Costa, R. C., Fransozo, A., Mantelatto, F.L. M. & Castro, R. H. 2000. Occurrence of shrimp species (Natantia: Penaeidea and Caridea) in Ubatuba bay, Ubatuba, SP, Brazil. Proc. Biol. Soc. Wash., 113:776-781.
- Dall, W., Hill, B. J., Rothlisberg, P.C. & Sharples, D. J. 1990. The biology of the Penaeidae. In J. H. S. Blaxter & A. J.Southward, eds. Advances in Marine Biology, San Diego, Academic Press, San Diego, CA, USA, 27:1-489.
- Fransozo, A., Costa R. C., F. M. Mantelatto, Pinheiro M. A. A. & Santos, S. 2002. Composition and abundance of shrimp species (Penaeidea and Caridea) in Fortaleza Bay, Ubatuba, São Paulo, Brazil. p. 117-125 *In* E. E. Briones & F. Alvarez, eds. *Modern Approaches to the Study of Crustacea*, New York, NY, USA.
- Nakagaki, J.M. & Negreiros-Fransozo, M. L. 1998. Population biology of *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Decapoda: Penaeidae) from Ubatuba bay, São Paulo, Brazil. J. Shell. Res., 17(4):931-935.

- Nakagaki, J.M., Negreiros-Fransozo, M.L. & Fransozo, A. 1995. Composição e abundância de camarões marinhos (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) na Enseada de Ubatuba, Brasil. Arq. Biol. Tecnol., 38(2):583-591.
- Pérez-Farfante, I. & B. Kensley 1997. Penaeoid and Sergestoid shrimps and Prawns of the world. Keys and diagnosis for the families and genera. Mémoires du Muséum National D'Histoire Naturelle, Paris, 175: 1-233.
- Renfro, W. C. & Cook, H. L. 1962. Early larval stages of the searbob, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller). **Fish. Bull**., US Fish and Wildlife service, 63:165-177.
- Rodrigues, E. S., Pita, J. B., Graça-Lopes, R., Coelho, J. A. & Puzzi, A. 1993. Aspectos biológicos e pesqueiros do camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) capturados pela pesca artesanal no litoral do Estado de São Paulo. Bol. Inst. Pesca, 19:67-81.

PRIMEIRO CAPÍTULO

DESENVOLVIMENTO DOS CARACTERES SEXUAIS SECUNDÁRIOS DO CAMARÃO SETE-BARBAS XIPHOPENAEUS KROYERI (HELLER, 1862) (CRUSTACEA, DECAPODA, PENAEOIDEA)

RESUMO

As estruturas morfológicas externas que representam os caracteres sexuais secundários dos camarões peneídeos são o télico, para fêmeas e o petasma, para machos. O télico pode ser classificado em dois tipos gerais, télico aberto e télico fechado; enquanto o petasma pode ser classificado em fechado, semi-aberto, semifechado ou aberto. A espécie X. kroyeri possui télico fechado e petasma do tipo semifechado. O objetivo deste trabalho foi o estudo do desenvolvimento do télico e do petasma de X. kroyeri, por meio da morfologia ultraestrutural. Adicionalmente, analisou-se o crescimento do petasma em relação ao crescimento do cefalotórax por meio da técnica alométrica. Os exemplares foram coletados com redes de arrasto, na enseada de Ubatuba, Brasil (23º 25'S, 45º 03'W) e transportados para o laboratório, onde foram anestesiados. As estruturas, télico e petasma, foram removidas e fixadas em solução de glutaraldeído 2,5% por 24h seguindo, posteriormente, o procedimento de rotina para Microscopia Eletrônica de Varredura (QUANTA-200). Fotografias digitais foram tomadas para a documentação do material. Nas fêmeas adultas (maiores do que 10 mm de comprimento do cefalotórax) o télico é uma placa única, lisa, originada do sétimo e do oitavo segmentos torácicos. A porção anterolateral desta estrutura é caracterizada por um capuz muito reduzido. A abertura do télico é um sulco transversal, que se estende de um lado a outro e nos estágios imaturos, existe um grande espaço entre as placas, o qual se torna mais estreito à medida que alcança o final do desenvolvimento. A placa posterior cresce gradualmente cobrindo parte da placa anterolateral. As duas placas formam uma ou duas bolsas (receptáculo seminal), na qual os espermatozóides são estocados. Durante o desenvolvimento do télico, os gonóporos

passam gradualmente de oval para uma estrutura em forma de "vírgula" e ocorre um grande aumento no número de cerdas. Nos machos adultos, os endopoditos que formam o petasma estão unidos na margem dorsomedial por uma grande quantidade de cincinnuli. Nos machos jovens, os endopoditos do primeiro par de pleópodos estão separados e são retos. Os cincinnuli estão ausentes ou em pouca quantidade, aumentando gradualmente, até que exista um número suficiente para unir os dois endopoditos. A extremidade dos endopoditos torna-se curva, ficando perpendicular a parte proximal. Ao final do desenvolvimento, o petasma tem a forma da "letra T". O gonóporo masculino tem a forma da "letra C" durante todo o seu desenvolvimento e não possui cerdas. Somente após a aquisição dessas características morfológicas externas é que os indivíduos de X. kroyeri podem ser considerados adultos em relação aos caracteres sexuais secundários. No que se refere ao crescimento relativo, a dimensão do comprimento total do petasma, em relação ao comprimento da carapaça, apresentou uma alta alometria positiva (b = 2,58) para os juvenis, isometria (b = 1,04) para os adultos. Da fase juvenil, para a adulta, os machos necessitam crescer e apresentar apêndices copulatórios adequados ao acasalamento. Assim que isto ocorre, a energia obtida dos recursos alimentares é dirigida para o desenvolvimento gonadal e o crescimento das partes do corpo passa a ocorrer numa mesma taxa que o cefalotórax.

Palavras-chave: morfologia externa, caracteres sexuais secundários, camarão Setebarbas, dimorfismo sexual, ultraestrutura, crescimento alométrico.

ABSTRACT

The secondary sexual characters of peneidean shrimps are the thelycum for females and petasma for males. The thelycum can be classified in two groups, the open and closed thelycum; while the petasma can be classified as closed, semi-closed, semiopen and open. The species X. kroyeri has closed thelycum and semi-closed petasma. The goal of this chapter was the study of the X. kroyeri thelycum and petasma development by means the ultra-structural morphology. Additionally, the growth of the petasma length in relation to the cephalothorax length was analyzed by means the allometric technique. The specimens were obtained by means trawls carried out in the Ubatuba bay, Brazil (23° 25'S; 45° 03'W) and transported to the laboratory, where they were anesthetized and each thelycum and petasma were removed. The samples were fixed in glutaraldehyde solution 2.5% by 24h following the routine procedure of scanning electron microscopy (QUANTA-200). Digital photography was taken for the material documentation. In adult females (larger than 10 mm of cephalothorax length), the thelycum is a single plate, originated from the seventh and eighth thoracic segments. The anterolateral portion of this structure is characterized by a much reduced hood. The aperture of the thelycum is like a transversal groove that extends from one side to other. In the immature stages, when the thelycum begins its development, the groove has a large space between the plates, which becomes narrower as it reaches the end of the development. The posterior plate gradually grows covering part of the anterolateral plate. Both plates form a single or double pocket, in which the spermatozoa are storage. During the thelycum development the gonopores also change their shape, from elliptic to a "comma" shape and a high increase of the number of setae occurs. In adult males

the endopods of the petasma is linked at the dorsomedial margin by a high quantity of cincinnuli. In the juvenile males, the endopods of the first pleopod pairs are straight and separated. The cincinnuli are absent or in a low quantity, that increase gradually until enough number to joint both endopods. The tip of the endopods bents down, becoming perpendicular to proximal is portion. At the end of development the petasma has a T shape. The male gonopore has a C shape throughout its development and has no seta. Only after the acquisition of these external morphologic features the *X. kroyeri* specimens can be considered adult in relation to the secondary sexual characters. With respect to the relative growth of the total length of the petasma, it was verified that juveniles presented a high positive allometry (b = 2.58), while in adults the growth is isometric (b = 1.04). During the juvenile phase, males need to grow up and get adequate copulatory appendages for mating. As it occurs, the energy obtained from alimentary resources can be driven towards gonad development and growth of the body parts change to a similar rate in relation to the cephalotorax.

Key words: external morphology, secondary sexual characters, seabob shrimp, sexual dimorphism, ultrastructure, allometric growth.

INTRODUÇÃO

Os camarões peneídeos são gonocóricos e apresentam fertilização externa (Malecha & Hedgecock 1989). Os camarões exibem dimorfismo sexual em populações naturais, de modo na maioria das espécies, as fêmeas atingem tamanhos maiores que os machos enquanto, em outras espécies os machos apresentam comprimento relativo do abdômen maior que as fêmeas. Como exemplo para o primeiro caso podemos citar *Rimapenaeus constrictus* (Stimpson, 1874) estudado por Costa & Fransozo (2004) e *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) estudado por Nakagaki & Negreiros-Fransozo (1998), Castro *et al.* (2005) e Freire (2005); e para o segundo caso *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) estudado por Chow & Sandifer (1991).

Existem, ainda, estruturas morfológicas externas específicas que representam os caracteres sexuais secundários, ou seja, o télico, para as fêmeas; o petasma e o apêndice masculino para os machos. A morfologia destas estruturas são características para cada espécie, sendo, portanto uma ferramenta útil na taxonomia do grupo (Dall *et al.* 1990, Pérez-Farfante & Kensley 1997).

De acordo com Bauer (1994), télico é a área genital das fêmeas de peneídeos, que corresponde à área postero-ventral do cefalotórax relacionada com a fixação e/ou estocagem de espermatóforos. Nas espécies de télico fechado, as placas esternais são modificadas para formar uma depressão (receptáculos seminais), dentro da qual os espermatóforos serão colocados (Misamore & Browdy 1996). Os receptáculos seminais estão presentes nas espécies de télico fechado, e ausentes nas de télico aberto (Pérez-Farfante & Kensley 1997). De acordo com Pérez-Farfante & Kensley (1997), petasma é a área genital masculina que consiste num par de endopoditos aumentados do primeiro par de pleópodos. A forma do petasma de camarões peneídeos, em geral, varia entre as espécies, mas na maioria dos casos, o modo como os endopoditos do primeiro par de pleópodos se unem é basicamente o mesmo (Tuma 1967, Tirmizi 1968, Tirmizi & Javed 1976, Hassan 1981). Segundo estes mesmos autores, esta união é feita por meio do encaixe de minúsculas estruturas em forma de ganchos, conhecidas como cincinnuli, que são encontradas na face medial de cada endopodito.

O tipo de petasma está relacionado com o grau no qual uma face ventral de um endopodito se aproxima da outra. No petasma aberto, os lobos laterais são completamente flexíveis, parcialmente ou inteiramente expandidos na lateral, com a face ventral voltada ou não para a região ventral. No petasma semi-aberto, os lobos laterais são flexíveis, mas são dobrados, com a face ventral distintamente voltada ventromesialmente, delimitando um espaço relativamente amplo que se estende desde a parte proximal até a distal. No petasma semi-fechado, os lobos laterais são um pouco flexíveis, marcadamente dobrados, sustentados por fortes costelas, com a face ventral mais aproximada, delimitando um espaço grande na região distal, onde geralmente sobrepõe-se pelas projeções bem desenvolvidas na região dorsomediana. No petasma fechado, os lobos laterais são fortemente esclerotizados, algumas vezes tornando a estrutura rígida, com a face ventral situada ventromesialmente, delimitando um pequeno espaço; lobo lateral apresenta geralmente expansões laterais do tipo chifres (Pérez-Farfante & Kensley 1997).

A função mais provável do petasma está relacionada com a inseminação, direta ou indiretamente (Tuma 1967, Bauer 1986, 1991, Subramoniam 1995), essa estrutura

apresenta função de transferir os espermatóforos para o télico das fêmeas (Pérez-Farfante & Kensley 1997).

O peneídeo *X. kroyeri*, popularmente conhecido como camarão Sete-barbas, apresenta télico fechado, com uma única placa lisa do esternito XIV, e seu capuz anterolateral é muito reduzido; a invaginação esternal anterior é tão ampla quanto o esternito, formando uma bolsa espaçosa que se estende até a crista torácica posterior. A protuberância mediana do esternito XIII também é ampla, porém curta (Pérez-Farfante & Kensley 1997). Esta estrutura estoca espermatozóides (na forma de espermatóforos) até que ocorra a fertilização. Seu desenvolvimento é um processo gradual, ocorrendo durante a ontogenia das fêmeas de camarões.

O camarão *X. kroyeri* possui petasma do tipo semi-fechado, simétrico, com lobos laterais grandes em forma de chifres e com projeções distolaterais (Pérez-Farfante & Kensley 1997).

Em camarões que apresentam télico fechado, a cópula ocorre com machos que estão em intermuda e fêmeas recém mudadas (Misamore & Browdy 1996). Por outro lado nos de télico aberto, a cópula ocorre com ambos os sexos em intermuda (Yano *et al.* 1988, Dall *et al.* 1990).

A análise dos caracteres sexuais secundários em Crustacea praticamente iniciouse com Hartnoll (1974), com uma análise do crescimento relativo de determinadas estruturas corpóreas para diferentes espécies das famílias de Brachyura. Esse mesmo autor verificou que existem diferenças no crescimento de determinadas estruturas do corpo dos indivíduos numa população, entre os sexos de uma mesma espécie e entre as fases do desenvolvimento para cada sexo, na mesma espécie. A taxa de crescimento nos crustáceos decápodos, de modo geral, altera-se durante a ontogenia e o crescimento consiste de numa série de fases dentro das quais essa taxa é sensivelmente constante.

Quando se analisa o crescimento relativo de uma população, a muda da puberdade torna-se evidente a partir de uma alteração no nível alométrico. Os indivíduos de uma população podem apresentar alterações bruscas no nível alométrico. Neste caso, quando tal informação é representada em gráfico e a dispersão dos pontos ajustada a uma função potência, observa-se uma nítida inflexão da reta, que coincide com a mudança da fase juvenil para a adulta. Por outro lado, existem casos nos quais a representação gráfica da relação evidencia uma sobreposição dos pontos, em determinadas classes de tamanho, a qual corresponde a um período de transição entre as fases juvenil e adulta da espécie.

Os caracteres sexuais secundários do camarão *X. kroyeri* encontram-se descritos somente em espécimes adultos de ambos os sexos na publicação de Pérez-Farfante & Kensley (1997). Considerando a insuficiência de informações sobre a morfologia dos caracteres sexuais secundários e sua diferenciação, como uma importante ferramenta para o conhecimento da biologia reprodutiva, este trabalho visou estudar o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários de *X. kroyeri*, por meio da morfologia ultra-estrutural (microscopia eletrônica de varredura). Adicionalmente, efetuou-se uma análise morfométrica do petasma desta espécie por meio da técnica alométrica.

MATERIAL E MÉTODOS

A espécie em estudo, *X. kroyeri*, é comumente encontrada na região costeira do litoral paulista, onde representa uma parte importante da economia local, pois inúmeras famílias caiçaras vivem da pesca artesanal desse crustáceo.

As coletas dos exemplares de *X. kroyeri* foram realizadas no litoral Norte do Estado de São Paulo, na região de Ubatuba (44° 52'W; 23° 22'S). Os arrastos foram efetuados com um barco de pesca artesanal, equipado com redes de arrasto do tipo "double-rig".

O camarão Sete-barbas é facilmente identificado, entre as demais espécies que ocorrem no litoral paulista, pelo tamanho do rostro, o qual é mais longo do que nas demais espécies com 5 dentes desiguais, e quarto e quinto pereiópodos bem desenvolvidos (Figura1).

Tratamento das amostras para estudo ultra-estrutural

O tamanho dos camarões apresentado neste artigo refere-se ao comprimento do cefalotórax (CC), definido como a distância linear entre a margem póstero-orbital e o sulco mediano posterior do cefalotórax (Figura 1).

No laboratório, 15 fêmeas, cujo tamanho variou de 5,0 mm CC até 28,0 mm CC, e 10 machos, cujo tamanho variou de 5,0 mm CC até 26,0 mm CC, foram anestesiados por resfriamento e cada télico e petasma foram removidos.



Figura 1 - Xiphopenaeus kroyeri. Vista lateral de um exemplar adulto. Comprimento do cefalotórax (CC). Escala 10 mm. (Modificado de Pérez-Farfante & Kensley 1997).

As amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 por 24h. Posteriormente, seguiu-se o procedimento de rotina para Microscopia Eletrônica de Varredura:

•Lavagem em tampão fosfato 0,1 M pH 7,3 (3x de 5 minutos);

- •Pós-fixação em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão (30 minutos);
- •Desidratação em sequência crescente de soluções de álcool etílico;

•Secagem em aparelho ponto crítico CPD 020 (Balzer Union), com CO₂ líquido;

•Colagem dos materiais em suportes apropriados;

•Metalização em aparelho MED 010 (Balzer Union), com camada de 10 nm de ouro.

As observações foram realizadas em Microscópio Eletrônico de Varredura QUANTA-200, da FEI COMPANY, com voltagens variando de 10-20 kV e documentadas por fotografia digital no próprio microscópio.

Procedimentos de medidas e cálculos para análise do crescimento do petasma

Uma amostra de 115 camarões machos (5,0 mm CC até 26,0 mm) foi selecionada para as mensurações.

Os machos obtidos foram medidos quanto ao comprimento do cefalotórax (CC) e comprimento do endopodito do primeiro pleópodo (= petasma), sem a expansão terminal (PL1) e com a expansão terminal (PL1 + ex) (Figura 2). As medidas do CC foram obtidas com paquímetro e as dos apêndices sob microscópio estereoscópio, provido de ocular micrométrica.



Figura 2 – Esquema do petasma de Xiphopenaeus kroyeri. Comprimento do petasma (PL), expansão terminal do petasma (ex). Escala 1 mm. (Modificado de Pérez-Farfante & Kensley 1997).

A condição morfológica do petasma (endopoditos unidos ou separados) também foi anotada.

Os dados foram plotados em gráficos, a dispersão dos pontos analisada e a função potência foi ajustada aos pontos. Esta análise foi efetuada separadamente para indivíduos, cujo petasma apresentava os endopoditos unidos e para aqueles, cujo petasma ainda estava separado.

A seguir, a função potência ($Y = aX^b$) foi transformada logaritmicamente (lnY = lna + b lnX). A variável CC foi usada como variável independente e os comprimentos do petasma como dependentes; a constante alométrica é o "b" que significa o grau de alometria da parte do corpo em estudo (neste caso, o petasma). A alometria positiva é caracterizada por b>1, alometria negativa por b<1 e isometria por b = 1 (Huxley 1950). O valor de b encontrado em cada relação foi testado por meio do teste "t" com 5% de nível de significância. Uma análise de covariância (α =5%) foi utilizada para testar as inclinações e os interceptos das regressões no estudo do crescimento relativo do petasma (Zar 1996).

A comparação do tamanho, no qual o crescimento do petasma ocorre entre as fases juvenil e adulta, foi estudada por meio de uma análise de "K-means clustering". Este procedimento é baseado no estabelecimento de grupos pré-determinados, atribuindo os espécimes para um dos grupos por meio de um processo iterativo, que minimiza a variância dentro dos grupos e maximiza a variância entre os grupos. A seguir, uma análise discriminante foi aplicada, permitindo uma nova classificação de tais grupos, isolando-os em categorias distintas: juvenis e adultos. Este procedimento estatístico baseou-se na análise efetuada por Sampedro *et al.* (1999) e Corgos & Freire (2006).

RESULTADOS

Análise ultraestrutural dos caracteres sexuais secundários

As características morfológicas, de um télico adulto, são observadas em fêmeas com tamanho maior do que 10.2 mm de CC (Figuras 3A, 3B, 3C e 4C).

Nas fêmeas adultas o télico é uma placa única, lisa, localizada no do sétimo e do oitavo segmentos torácicos. A porção anterolateral desta estrutura é caracterizada por um capuz muito reduzido (Figuras 3A, 3B, 3C e 4C). A abertura do télico é um sulco transversal que se estende do lado direito do tórax do camarão até o esquerdo (Figuras 3A, 3B, 3C e 4C).

Nos estágios imaturos, quando o télico inicia o seu desenvolvimento, o sulco tem um grande espaço entre as placas (Figura 4A), o qual se torna mais estreito à medida que alcança o final do desenvolvimento (Figuras 4B e 4C). A placa posterior cresce gradualmente cobrindo parte da placa anterolateral. As duas placas formam uma bolsa, na qual os espermatozóides são estocados. Durante o desenvolvimento do télico, os gonóporos também mudam na sua forma, de oval (Figuras 4D e 4E) para uma estrutura em forma de "vírgula", e ocorre um grande aumento no número de cerdas, as quais são do tipo paposa (Figura 4F) (Garm 2004).

As características morfológicas relacionadas ao petasma adulto são observadas em machos com tamanho maior do que 11,0 mm de CC (Figuras 3D, 3E, 3F e 5A).

Nos machos adultos, o petasma está unido na margem dorsomedial por uma grande quantidade de pequenos ganchos chamados cincinnuli (Figuras 3D, 3E, 3F, 5A e 5D), formando assim uma canaleta, por meio da qual os espermatóforos serão

transferidos para as fêmeas. Nos machos jovens, os endopoditos do primeiro par de pleópodos estão separados (Figura 5B) e os cincinnuli estão ausentes ou em pouca quantidade (Figura 5E). A quantidade de cincinnuli aumenta gradualmente, até que exista um número suficiente para unir os dois endopoditos e, assim, formar o petasma. O endopodito é reto no início do desenvolvimento. À medida que este atinge a maturidade, o número de cincinnuli aumenta e a parte mais distal do endopodito se curva e se torna perpendicular à parte proximal do apêndice, formando uma estrutura em forma de T (Figuras 3D, 3E, 3F e 5A). Esta extremidade do petasma possui pequenos espinhos na face ventral (Figura 5C). Durante o desenvolvimento do petasma, os gonóporos não mudam quanto a sua forma, apenas aumentam de tamanho, e, ao contrário das fêmeas, esses gonóporos não possuem cerdas (Figura 5F).

Análise do crescimento relativo do petasma

A representação gráfica da relação PL_1 +ex vs. CC em *X. kroyeri* encontra-se na figura 6. O resultado da análise de crescimento relativo do petasma para *X. kroyeri* (Tabela I) evidencia que durante a fase juvenil o crescimento é altamente alométrico positivo (P<0,05) e na fase adulta, pode ser isométrico (P>0,05) ou ligeiramente alométrico positivo (P<0,05).



Figura 6 – Xiphopenaeus kroyeri Regressão CC vs. PL1+ex, com as respectivas equações potências.

Tabela I - Resultados da análise alométrica efetuada em *X. kroyeri* para as relações do comprimento do petasma (Pl1 e Pl1 +ex) e o comprimento da carapaça.

Fase	X. kroyeri	ln y = b ln X + lna	teste t Ho: b = 0	Coeficiente de determinação (r ²)	Nível alométrico
	Pl ₁ vs. CC	Ln $Pl_1 = 2,28 \ln CC - 4,25$	*	0,97	Positivo
Juvenil	(Pl ₁ + ex) vs. CC	Ln (Pl ₁ + ex) = 2,58lnCC - 4,56	*	0,91	Positivo (Figura 6)
Adultos	Pl ₁ vs. CC	Ln Pl ₁ = 1,16 lnCC – 1,56	*	0,97	Positivo
	$(\mathbf{Pl}_1 + \mathbf{ex})$ vs. CC	Ln (Pl ₁ + ex) = 1,04 lnCC – 0,81	ns	0,89	Isométrico (Figura 6)

* <0.05; ns p>0.05

DISCUSSÃO

Entre as publicações sobre os caracteres sexuais secundários em Penaeoidea, destacam-se as de Tuma (1967), Tirmizi (1968), Tirmizi & Javed (1976) e Hassan (1981), que apresentaram os aspectos macroscópicos do desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários dos camarões *Penaeus merguiensis*, *Parapenaeopsis stylifera*, *Metapenaeus stebbingi* e *Metapenaeus affinis*, respectivamente.

Segundo Castro *et al.* (2005), tanto machos quanto fêmeas de *X. kroyeri* com CC maior do que 11.6 ± 1.8 mm são considerados espécimes adultos, baseando-se na morfologia externa dos caracteres sexuais secundários. No presente trabalho, os resultados mostraram que os indivíduos maiores do que 11,0 mm de CC já possuem os caracteres sexuais secundários formados, podendo assim estar aptos à reprodução e logo, sendo considerados adultos. No entanto, é necessário um estudo de histologia gonadal para que se possa afirmar com segurança se tais indivíduos estão realmente aptos à reprodução.

Em relação à morfologia dos caracteres sexuais secundários do *X. kroyeri*, somente depois de adquirir o sulco transversal completo no télico e o gonóporo em forma de vírgula, com uma grande quantidade de cerdas, é que se pode considerar que uma fêmea está adulta. Pode-se supor que o grande aumento do número de cerdas nos gonóporos está relacionado com sua proteção, prevenindo a entrada de corpos estranhos, como por exemplo, protozoários. Os machos podem ser considerados adultos após a união dos endopoditos para formar o petasma, levando em conta que indivíduos nessa faixa de tamanho já apresentam gônadas formadas.

O tipo de télico e de petasma nas diferentes espécies de camarões está relacionado com o comportamento reprodutivo, a posição de cópula e a condição de muda em que as fêmeas se encontram na época do acasalamento (Bueno 1990, Dall *et al.* 1990, Misamore & Browdy 1996). Da mesma maneira, em camarões de télico fechado o sentido da abertura do télico e a forma do petasma podem estar relacionados com a posição do macho em relação à fêmea durante a cópula.

Espécies de camarões com télico aberto apresentam espermatóforos com uma complexidade maior (Bauer 1986, 1991, Bauer & Cash 1991, Chow *et al.* 1991, Bauer & Min 1993). Nessas espécies, o vaso deferente é subdividido em dois ductos, um contendo a massa espermática e o outro com substâncias acessórias que servem para a fixação da massa espermática no télico da fêmea até o momento da fecundação. Verifica-se, nesses casos, que o petasma é do tipo semi-aberto (Tabela II).

Por outro lado, em espécies de camarões com télico fechado os espermatóforos são mais simples (Bauer 1986, 1991, Bauer & Min 1993, Subramoniam 1995). Deste modo, o vaso deferente é um tubo único, contendo o material que participa da formação de vários pequenos espermatóforos. Verifica-se que essas espécies possuem petasma do tipo semi-fechado ou fechado (Tabela II).

O conhecimento de que camarões juvenis encontrados na natureza com petasma incompleto ainda não se reproduziram nenhuma vez durante sua vida, pode ser determinante para uma captura mais racional, prevenindo que se utilizem animais abaixo do tamanho mínimo para comercialização.

A aplicação da técnica alométrica no estudo do crescimento relativo em camarões não tem sido abordada, particularmente, com relação aos caracteres sexuais secundários.

O estudo do crescimento relativo do petasma evidenciou que, durante a fase juvenil, a taxa de crescimento é alta tanto quando se utiliza o comprimento simples do petasma ou quando se utiliza o tamanho total deste apêndice, incluindo a expansão terminal. Em ambos os casos, os valores do coeficiente "b" são muito superiores a 1, ou seja, 2,3 para PL1 e 2,6 para PL1+ex. Tais valores de coeficiente sugerem um rápido crescimento para este apêndice na fase juvenil. Por outro lado, na fase adulta o petasma apresenta uma taxa de crescimento menor, próximo a isométrico. Isto pode significar que ao atingir a fase adulta, o PL do macho passa a crescer numa taxa praticamente semelhante a do CC, acompanhando o crescimento das fêmeas e, portanto, apresentando tamanho compatível para o acasalamento.

Apesar da figura 6 mostrar que a fase adulta se inicia nos indivíduos com aproximadamente, 12,5 mm CC, as atividades laboratoriais mostraram que existem animais com o petasma formado a partir dos 10,0 mm de CC. Este resultado pode ter sido decorrente do baixo número de indivíduos na faixa entre 10,0 e 14,0 mm CC da amostra analisada. Com a utilização de um número maior de indivíduos, o gráfico poderia apresentar uma sobreposição das retas na faixa de tamanho onde ocorre a transição da fase juvenil para a fase adulta, ou poderia refletir na junção das retas, ou ainda, poderia evidenciar uma nítida separação entre as duas fases, corroborando os resultados do presente trabalho.

Em *X. kroyeri*, o crescimento do petasma em relação ao crescimento da carapaça exibe uma considerável alometria positiva antes da puberdade e uma isometria após esta fase. Mas depois da puberdade o crescimento relativo do macho torna-se isométrico, pois estaria em proporções adequadas para o processo reprodutivo. Tal estrutura estaria, então, integrada aos outros órgãos, caracterizando um mecanismo de grande eficiência para a transferência dos espermatóforos.

Tabela II - Comparação do tipo de petasma e de télico das espécies de camarões que ocorrem no litoral do Estado de São Paulo (Pérez-Farfante & Kensley 1997).

TÁXON	PETASMA	TÉLICO
PENAEOIDEA		
Farfantepenaeus brasiliensis (Latreille, 1817)	Semi-fechado	Fechado
Farfantepenaeus paulensis (Pérez –Farfante, 1967)	Semi-fechado	Fechado
Litopenaeus schmitti (Burkenroad, 1936)	Semi-aberto	Aberto
Artemesia longinaris Bate, 1888	Semi-fechado	Fechado
Rimapenaeus constrictus (Stimpson, 1874)	Semi-fechado	Fechado
Xiphopenaeus kroyeri (Heller, 1862)	Semi-fechado	Fechado
SOLENOCERIDAE		
Pleoticus muelleri (Bate, 1888)	Semi-aberto	Aberto
SICYONIIDAE		
Sicyonia dorsalis Kingsley, 1878	Fechado	Fechado
Sicyonia typica (Boeck, 1864)	Fechado	Fechado
Sicyonia laevigata Stimpson, 1871	Fechado	Fechado
Sicyonia parri (Burkenroad, 1934)	Fechado	Fechado

As características morfológicas externas e informações disponíveis sobre maturação gonadal de camarões (Guitart & Quintana 1978, Crocos & Kerr 1983, Dumont & D'Incao 2004) indicam o tamanho exato do início da vida adulta nesses camarões, o qual pode ser usado na identificação de populações adultas para o manejo da pesca e controle para a preservação dos estoques naturais.

A partir do momento em que a morfologia externa está completa, o indivíduo poderia utilizar a energia disponível para o desenvolvimento gonadal. Entre os estudos efetuados com X. kroyeri, que abordam as características gonadais macroscópicas para a determinação do recrutamento (jovens) e período reprodutivo destacam-se os de Castro et al. (2005) e Freire (2005). No entanto, não há nenhuma publicação que apresente uma análise microscópica sobre gônadas deste camarão. Das publicações existentes, somente Tuma (1967) inclui uma comparação do desenvolvimento gonadal com a ontogenia dos caracteres sexuais secundários para *Fenneropenaeus merguiensis* (De Man, 1888) (*=Penaeus merguiensis*). Esse autor considerou que o critério mais válido para indicar que um indivíduo está adulto é quando eles se encontram em atividades de acasalamento. Dessa forma, Tuma (1967) verificou que os machos de *F. merguiensis* apresentaram a gônada funcional pouco antes da completa formação do petasma, enquanto fêmeas tornavam-se funcionais após a formação do télico.

A importância deste tipo de estudo recai no fato de que o mesmo poderá servir como subsídio para estudos sistemáticos. Pérez-Farfante (1970) utilizou os caracteres sexuais secundários dos juvenis em três espécies do gênero *Penaeus* para diferenciá-las, evidenciando a importância de tais características para a taxonomia. Vale ressaltar que, para a diferenciação das duas espécies do gênero *Fartantepenaeus* presente no litoral brasileiro, são utilizadas as estruturas do petasma e o télico (Costa *et al*.2003). A maior dificuldade está na identificação das formas juvenis, pois são escassos os estudos sobre a ontogenia inicial dos caracteres sexuais secundários dos camarões marinhos.

REFERÊNCIAS

- Bauer, R. T. 1986. Phylogenetic trends in sperm transfer and storage complexity in decapod crustaceans. Journal 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. (ed.). *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York. pp.183-207.
- Bauer, R. T. 1994. Usage of the terms *thelycum* and *spermatheca* in the reproductive morphology of the decapoda, with special reference to the Penaeoidea. Journal Crustacean Biology, 14(4): 715-721.
- 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. & 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.
- Bueno, S. L. S. 1990. Maturation and spawning of the white shrimp *Penaeus shmitti* Burkenroad, 1936, under large scale rearing conditions. Journal of the World Aquaculture Society, 21(3): 170-179.
- Castro, R. H.; Costa, R. C.; Fransozo, A. & Mantelatto F. L. M. 2005. Population structure of the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1962) (Crustacea:

Penaeoidea) in the litoral os São Paulo, Brazil. Scientia Marina, 69(1): 105-112.

- Chow, S. & Sandifer, P. A. 1991. Differences in growth, morphometric traits and male sexual maturity among Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, from different commercial hatcheries. Aquaculture, 92: 165-178.
- Chow, S.; Dougherty, M. M.; Dougherty, W. J. & Sandifer, P. A. 1991. Spermatophore formation in the white shrimps *Penaeus setiferus* and *P. vannamei*. Journal Crustacean Biology, 11(2): 201-216.
- Corgos, A. & Freire, J. 2006. Morphometric and gonad maturity in the spider crab *Maja brachydactyla:* a comparison of methods for estimating size at maturity in species with determinate growth. **ICES Journal of Marine Science, 63**: 851-859.
- Costa, R. C. & Fransozo, A. 2004. Abundance and ecological distribution of the shrimp *Rimapenaeus constrictus* (Crustacea: Penaeidae) in the northern coast of São Paulo, Brazil. Journal Natural History, 38(7): 901-912.
- Costa, R. C.; Fransozo, A.; Melo, G. A. S. & Freire, F. A. M. 2003. An illustred key for Dendrobranchiata shrimps from the northern coast of São Paulo state, Brazil.
 Biota Neotropica, 3(1): 1-12.
- Crocos, P. J. & Kerr, J. D. 1983. Maturation and spawning of the banana prawn *Penaeus merguiensis* de Man (Crustacea: Penaeidae) in the Gulf of Carpentaria, Australia. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 69:37-59.
- Dall, W.; Hill, B. J.; Rothlisberg, P. C. & Sharples, D. J. 1990. The biology of the Penaeidae. In: Blaxter, J. H. S. & A. J. Southward (eds.). Advances in marine biology. San Diego: Academic press, San Diego, 27: 1-489.

- Dumont, F. L. C. & D'Incao, F. 2004. Estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas do camarão-barba-ruça (*Artemesia longinaris* Decapoda: Penaeidae).
 Iheringia, Série Zoologia, 94(4):389-393.
- Freire, F. A. M. 2005. Distribuição ecológica e biologia populacional de <u>Xiphopenaeus</u> <u>kroyeri</u> (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) no litoral do Estado de São Paulo. 247 pp. Tese de doutorado. Curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas –Instituto de Biociências - UNESP – Botucatu.
- Garm, A. 2004. Revising the definition of the crustacean seta and setal classification systems based on examinations of the mouthpart setae of seven species of decapods. Zoological Journal of the Linnean Society, 142: 233-252.
- Guitart, B. & Quintana, M. 1978. Estadíos de maduracíon gonadal en las especies comerciales importantes del género *Penaeus* en el Banco de Campeche. Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras, 3: 82-126.
- Hartnoll, R. G. 1974. Variation in growth pattern between some secondary sexual characters in crabs (Decapoda, Brachyura). **Crustaceana**, **27**(2): 131-136.
- Hassan, H. U. 1981. The genital organs and their development in *Metapenaeus affinis* (Decapoda, Penaeidae) studied through rearing them in the laboratory.Hydrobiologia, 78: 49-58.
- Malecha, S. R. & Hedgecok, D. 1989. Prospects for the domestication and breeding of marine shrimp. Sea Grant Technical Report. University of Hawaii Sea Grant College Program, Honolulu, USA.
- Misamore, M. J. & Browdy, C. L. 1996. Mating behavior in the white shrimps *Penaeus setiferus* and *P. vannamei*: A generalized model for mating in Penaeus. Journal Crustacean Biology, 16(1): 61-70.
- Nakagaki, J. M. & Negreiros-Fransozo, M. L. 1998. Population biology of *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Decapoda: Penaeidae) from Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil. Journal of Shellfish Research, 17(4): 931-935.
- Pérez-Farfante, I. & Kensley, B. 1997. Penaeoid and Sergestoid shrimps and Prawns of the world. Keys and diagnosis for the families and genera. Mémoires du Muséum National D'Histoire Naturelle, 175: 1-233.
- Pérez-Farfante, I. 1970. Caracteristicas diagnosticas de los juveniles de *Penaeus aztecus* aztecus, P. duorarum y P. brasiliensis (Crustacea, Decapoda, Penaeidae).
 Memórias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, 30:159–182
- Sampedro, M. P.; González-Gurriarán, E.; Freire, J. & Muiño, R. 1999. Morphometry and sexual maturity in the spider crab *Maja squinado* (Decapoda: Majidae) in Galicia, Spain. Journal Crustacean Biology, 19(3): 578-592.
- Subramoniam, T. 1995. Light and electron microscopic studies on the seminal secretions and the vas deferens of the penaeiodean shrimp, *Sicyonia ingentis*. Journal of Biosciences, 20(5): 691-706.
- Tirmizi, N. M. & Javed, W. 1976. Study of juveniles of *Metapenaeus stebbingi* Nobili (Decapoda, Penaeidae) with particular reference to the structure and development of the genitalia. **Crustaceana, 30**(1): 55-67.
- Tirmizi, N. M. 1968. On the structure and some developmental stages of genitalia in the prawn *Parapenaeopsis stylifera* (H. Milne Edwards) (Decapoda, Penaeidea).Crustaceana, 15: 193-203.
- Tuma, D. J. 1967. A description of the development of primary and secondary sexual characters in the banana prawn, *Penaeus merguiensis* de Man (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 18:73-88.

- 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.
- Zar, J. H. 1996. *Biostatistical Analysis*. 3rd ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 915 p.

DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

- A Esquema do télico de *X. kroyeri*. Sulco transversal (seta); gonóporo (G); capuz (*).
 Barra de escala: 1 mm. (modificado de Pérez-Farfante & Kensley, 1997)
- B Macroscopia do télico de uma fêmea com CC 11,2 mm. Sulco transversal (seta); gonóporo (G); capuz (*). Barra de escala: 1,0 mm.
- C Eletromicrografia de Varredura do télico de uma fêmea com CC 28,5 mm. Sulco transversal (seta); gonóporo (G); capuz (*). Barra de escala: 2,0 mm.
- D Esquema da vista dorsal do petasma de *X. kroyeri*. Região onde estão os cincinnuli (seta); expansão terminal (E). Barra de escala: 1 mm. (modificado de Pérez-Farfante & Kensley, 1997)
- E Macroscopia da vista dorsal do petasma de um macho com CC 10,3 mm. Região onde estão os cincinnuli (seta); expansão terminal (E). Barra de escala: 1,0 mm.
- F Eletromicrografia de Varredura da vista dorsal do petasma de um macho com CC 22,1 mm. Região onde estão os cincinnuli (seta); expansão terminal (E). Barra de escala: 2,0 mm.



Figura 3

Eletromicrografias de Varredura

- A Télico de uma fêmea com CC 7,5 mm. Sulco transversal (seta); gonóporo (G);
 capuz (*). Barra de escala: 1,0 mm.
- B Télico de uma fêmea com CC 10,2 mm. Sulco transversal (seta); gonóporo (G);
 capuz (*). Barra de escala: 2,0 mm.
- C Télico de uma fêmea com CC 15,3 mm. Sulco transversal (seta); gonóporo (G);
 capuz (*). Barra de escala: 2,0 mm.
- D Gonóporo de uma fêmea com CC 7,5 mm. Abertura do gonóporo (seta); cerdas (C).
 Barra de escala: 100,0 μm.
- E Gonóporo de uma fêmea com CC 10,2 mm. Abertura do gonóporo (seta); cerdas
 (C). Barra de escala: 400,0 μm.
- F Gonóporo de uma fêmea com CC 15,3 mm. Abertura do gonóporo (seta); cerdas
 (C). Barra de escala: 500,0 μm.



Figura 4

Eletromicrografias de Varredura

- A Vista ventral do petasma de um macho com CC 22,1 mm. Cincinnuli (seta). Barra de escala: 2,0 mm.
- **B** Petasma de um macho com CC 8,4 mm. Petasma (seta). Barra de escala: 2,0 mm.
- C Detalhe da expansão do petasma de um macho com CC 12,4 mm. Espinhos (seta). Barra de escala: 500,0 μ m.
- **D** Detalhe da vista dorsal do petasma de um macho com CC 12,4 mm. Cincinnuli (seta). Barra de escala: 50,0 μm.
- E Detalhe do petasma de um macho com CC 10,1 mm. Cincinnuli (seta). Barra de escala: 200,0 μm.
- F Gonóporo de um macho com CC 12,4 mm. Abertura do gonóporo (seta). Barra de escala: 1,0 mm.



Figura 5

SEGUNDO CAPÍTULO

MORFOLOGIA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO, FORMAÇÃO DO ESPERMATÓFORO E ULTRAESTRUTURA DO ESPERMATOZÓIDE DO CAMARÃO SETE-BARBAS XIPHOPENAEUS KROYERI (HELLER, 1862) (DECAPODA: PENAEOIDEA)

RESUMO

O camarão Sete-barbas, Xiphopenaeus kroyeri (Heller, 1862), é considerado um dos recursos pesqueiros mais importantes dentre os Dendrobranchiata de águas marinhas rasas do litoral norte do Estado de São Paulo. O propósito deste trabalho foi descrever o sistema reprodutor masculino, macro e microscopicamente, a formação do espermatóforo e a morfologia do espermatozóide de X. kroyeri. Os camarões foram coletados por meio de arrastos na Enseada de Ubatuba, São Paulo, Brasil (23º 25'S, 45º 03'W). Os machos maduros foram anestesiados e o sistema reprodutor foi retirado, fixado, seguindo posteriormente o procedimento de rotina para inclusão em historresina. Uma parte do vaso deferente distal foi removida de outros machos adultos e submetida ao processamento para observação em microscopia de varredura. A gônada masculina de X. kroyeri, ao nível macroscópico, é composta por um testículo lobulado. Ao nível microscópico, cada lobo contém células no mesmo estágio do ciclo espermatogênico e os ácinos vizinhos, também, contém células no mesmo estágio do ciclo, caracterizando um testículo restrito. O vaso deferente é anatomicamente diferenciado em três partes, desde o testículo até a ampola: vaso deferente proximal, vaso deferente médio e vaso deferente distal. O vaso deferente proximal é translúcido e muito convoluto, enquanto o vaso deferente médio é branco, mais espesso e, também, convoluto; o vaso deferente distal é translúcido e reto, onde os espermatóforos elípticos são observados por transparência, terminando na ampola. O vaso deferente proximal possui um epitélio simples com células cilíndricas secretoras, os espermatozóides aparecem livres na luz do vaso. No vaso deferente médio, existe um epitélio simples cúbico e a formação dos espermatóforos parece iniciar pela secreção do epitélio. No vaso deferente distal os

espermatóforos elípticos estão completamente formados. O espermatozóide apresenta acrossoma arredondado anterior, com um "spike" e, posteriormente, é constituído por uma região em forma de cone, que corresponde ao núcleo e citoplasma. As características do sistema reprodutor masculino de *X. kroyeri* seguem o padrão geral dos camarões peneídeos. A forma e o número de espermatóforos são diferentes daquelas espécies de peneídeos de télico aberto. A relação entre a forma dos espermatóforos e o tipo de télico é descrito e comparado com outras espécies de Penaeidae.

Palavras-chave: histologia gonadal, espermatóforo, espermatozóide, Penaeoidea.

ABSTRACT

The seabob shrimp, Xiphopenaeus kroyeri (Heller, 1862), is considered as the most important fishery resource among Dendrobranchiata from marine shallow waters in the northern coast of São Paulo State. This research describes the reproductive system of mature males in X. kroyeri at macroscopic and microscopic level, including the spermatophore formation and the spermatozoa ultrastruture at SEM level. The shrimps were collected by trawling in the Ubatuba Bay (23° 25'S; 45° 03'W), Ubatuba, São Paulo, Brazil. Specimens were maintained in a thermo box with picked ice until the laboratory procedures. Mature male were anesthetized and their reproductive systems were dissected, fixed and the usual routine procedure for light microscopic were followed. Part of the distal vas deferens was prepared for SEM observation. The gonad of X. kroyeri, at macroscopic level, is compounded by a lobular testis. At microscopic level, each lobe contains cells in the same stage of the spermatogenic cycle and the neighboring lobes also follow the same stage, characterizing a restricted testis. The vas deferens is anatomically differentiated in three parts from testis towards the ampoule: proximal vas deferens (PVD), middle vas deferens (MVD) and distal vas deferens (DVD). The PVD is translucent and very convoluted while the MVD is white, wider and also convoluted; and the DVD is a translucent and straight cord, where the elliptic spermatophores are observed by transparency, ending in the ampoule. The PVD has a single-layer epithelium with cylindrical cells highly secretor where free spermatozoa are present. At the MDV, a single-layered cubic epithelium is observed and the formation of the spermatophores seems to begin by the epithelium secretion. Finally, at the DVD whose epithelium is similar to the MDV, the elliptic spermatophores are completely

formed. The spermatozoon presents an anterior rounded acrosome a spike and it is constituted by a portion with conic shape in its posterior portion that corresponds to the nucleus and cytoplasm. The macroscopic features of the male reproductive system of *X*. *kroyeri* resemble the general pattern of the penaeids shrimps. But its shape, organization and number of the spermatophores is quite distinctive from other penaeideans that have an open thelycum. The relationship between the shape of the spermatophores and the type of thelycum is addressed and compared within Penaeidae.

Key words: gonad histology, spermatophore, spermatozoa, Penaeoidea.

INTRODUÇÃO

Os camarões peneídeos têm importância econômica, considerando-se o total de captura das várias espécies exploradas ao redor do mundo (Bauer 1991), incluindo no Brasil. Muitos aspectos fundamentais sobre a biologia reprodutiva das espécies de importância econômica ainda são desconhecidos aos níveis ecológico e filogenético (Alfaro *et al.* 2003).

O camarão Sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862), é considerado um dos mais importantes recursos pesqueiros, dentre os Dendrobranchiata, de águas marinhas da costa norte do Estado de São Paulo (Nakagaki & Negreiros-Fransozo 1998, Fransozo *et al.* 2000, Castro *et al.* 2005). Além disso, possui importante papel ecológico, juntamente com outros organismos marinhos, no sentido de manter a estabilidade nas relações tróficas de comunidades bentônicas (Nakagaki & Negreiros-Fransozo 1998), pois é um dos componentes que apresenta maior biomassa. Nas últimas décadas, *X. kroyeri*, tem sido muito explorado como recurso pesqueiro, chegando a ser 90% do total de camarões peneídeos capturados em águas rasas, ou seja, em profundidades menores do que 20m (Fransozo *et al.* 2002).

Estudos realizados com *X. kroyeri* focaram aspectos da sua distribuição geográfica e batimétrica (Williams 1984, D'Incao 1995, Costa *et al.* 2007), inquéritos faunísticos na costa do estado de São Paulo (Nakagaki & Negreiros-Fransozo 1998, Costa *et al.* 2000, 2003) ou abundância e padrões de diversidade de comunidades bentônicas (Pires 1992).

De acordo com Bauer & Min (1993), o conhecimento detalhado da natureza e formação dos espermatóforos, das substâncias associadas e a sua disposição nas fêmeas,

são essenciais para o entendimento dos mecanismos de inseminação, estoque de espermatozóides e a liberação dos mesmos durante a fertilização. As características associadas aos espermatozóides e a morfologia reprodutiva são importantes nas análises das relações evolutivas em camarões peneídeos e suas implicações nos sistemas de acasalamento (Bauer 1991). A indução da reação acrossômica em camarões Penaeoidea é imprescindível para a implementação prática e uma avaliação segura da qualidade espermática, bem como a adequação do conhecimento sobre a maturação do esperma e as possíveis barreiras da hibridização (Alfaro *et al.* 2003).

Os espermatóforos têm como principal função proteger os espermatozóides durante a transmissão para as fêmeas, mas também são fontes importantes de energia, prolongando a durabilidade do esperma estocado na fêmea. Entretanto, informações sobre a composição química desses elementos continuam desconhecidas (Subramoniam 1991).

Em crustáceos decápodos os espermatozóides são imóveis e são transferidos para as fêmeas em espermatóforos (Bauer 1991). Estas estruturas têm uma variação morfológica muito grande dentro dos diferentes grupos de decápodos (Bauer 1991). Os camarões peneídeos produzem espermatóforo de complexidades variadas e que são transferidos para o télico (Bauer & Cash 1991, Bauer & Min 1993, Alfaro *et al.* 2003). Fêmeas com télico aberto geralmente recebem espermatóforos com estruturas acessórias complexas, como asas, enquanto em um télico fechado os machos produzem massas de espermatóforo simples (Bauer 1991, Bauer & Min 1993, Subramoniam 1995, Alfaro *et al.* 2003).

Nas últimas décadas, o número de publicações sobre a estrutura dos espermatozóides em crustáceos decápodos tem revelado a ocorrência de uma ampla

diversidade de morfologia espermática. Essa variedade estrutural segundo Medina *et al.* (2006), é de utilidade em estudos taxonômicos e filogenéticos.

Medina *et al.* (2006) analisaram a ultraestrutura do espermatozóide de três espécies de Solenoceridae e mencionaram que para os Penaeidae, pelo menos, dez espécies apresentam seus espermatozóides descritos sob o ponto de vista ultraestrutural. Alguns estudos têm sido desenvolvidos sobre a biologia reprodutiva de camarões peneídeos, principalmente, sobre ciclo reprodutivo e estrutura do espermatozóide (Mota-Alves & Rodrigues 1977, Clark & Griffin 1988, Subramoniam 1995, Scelzo & Medina 2003), mas nada está disponível na literatura para *X. kroyeri*.

O presente estudo descreve o sistema reprodutor masculino e a formação do espermatóforo em *X. kroyeri* por meio da macroscopia e da microscopia óptica. Além disso, apresenta-se pela primeira vez na literatura a morfologia externa do espermatozóide de *X. kroyeri*, sob microscopia eletrônica de varredura.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas dos exemplares de *X. kroyeri* foram realizadas no litoral Norte do Estado de São Paulo, na região de Ubatuba (44° 52'W e 23° 22'S). Os arrastos foram efetuados com um barco de pesca artesanal, equipado com redes de arrasto do tipo "double-rig". Os camarões coletados foram mantidos em caixas térmicas com gelo picado até o momento das análises no laboratório, ainda no litoral.

No laboratório os exemplares de *X. kroyeri* foram anestesiados para a retirada da região dorsal do cefalotórax, permitindo, desse modo, a remoção das gônadas. Uma parte desse material foi fixado em solução de glutaraldeído 2,5% e paraformaldeído 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,3, de 24 a 48 horas. Em seguida, o material foi submetido ao procedimento para inclusão em metacrilato-glicol (historresina), de acordo com o seguinte protocolo:

- •Desidratação em álcool 70% (24 horas) e álcool 95% (2 horas);
- •Embebição em mistura de resina (Leica) e álcool 95% (5h);
- •Embebição em resina pura (Leica) (12 horas);
- •Inclusão em resina com catalisador em temperatura ambiente (24 horas);
- •Polimerização em estufa a 37°C (24 horas);
- •Montagem dos blocos.

Os cortes histológicos (5 µm) foram submetidos a três colorações, Azul de Toluidina pH 4,7, Hematoxilina-eosina e Ácido Periódico de Schiff (PAS), sendo, posteriormente analisados em Microscópio Leica acoplado a sistema de captação de imagens digitais. Para a observação ultraestrutural dos espermatozóides, amostras do vaso deferente distal foram dissecadas e fixadas em solução de glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 por 24h. Posteriormente, seguiu-se o procedimento de rotina para Microscopia Eletrônica de Varredura:

•Lavagem em tampão fosfato 0,1 M pH 7,3 (3x de 5 minutos);

•Pós-fixação em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão (30 minutos);

•Desidratação em sequência crescente de soluções de álcool etílico;

•Secagem em aparelho ponto crítico CPD 020 (Balzer Union), com CO₂ líquido;

•Colagem dos materiais em suportes apropriados;

•Metalização em aparelho MED 010 (Balzer Union), com camada de 10 nm de ouro.

As observações foram realizadas em Microscópio Eletrônico de Varredura QUANTA-200, da FEI COMPANY, com voltagens variando de 10-20 kV e documentadas por fotografia digital no próprio microscópio.

RESULTADOS

Características macroscópicas do aparelho reprodutor masculino

O testículo do *X. kroyeri* é uma estrutura branca multilobular (Figura 1) com, aproximadamente, 6 pares de lóbulos e está localizado no meio do cefalotórax, entre o coração e o estômago. O vaso deferente inicia-se na porção posterior do testículo e segue até a base do 5th pereiópodo, onde estão localizadas as aberturas das ampolas. O vaso deferente pode ser anatomicamente diferenciado em três partes, desde o testículo até as ampolas: vaso deferente proximal (VDP), vaso deferente médio (VDM) e vaso deferente distal (VDD) (Fig. 1). O VDP é translúcido e muito enovelado enquanto que o VDM é branco, mais largo e também é enovelado. O VDD é um cordão reto translúcido, no qual espermatóforos elípticos podem ser observados por transparência, terminando na ampola.



Figura 1 – Sistema reprodutor masculino de *Xiphopenaeus kroyeri*. Testículo multilobular (T), vaso deferente proximal (P), vaso deferente médio (M), vaso deferente distal (D) e ampola (A). Barra de escala: 10,0 mm.

Características microscópicas do sistema reprodutor masculino

Ao nível microscópico, cada lobo testicular é formado por túbulos seminíferos, que contém células num mesmo estágio do ciclo espermatogênico (Figuras 2A - 2F). É possível observar grupos de espermatogônias próximas à periferia de cada túbulo seminífero (Figuras 2B, 2C, 2E e 2F). Próximo a estes grupos de espermatogônias, os espermatócitos ou espermátides ou ainda espermatozóides estão entre as células de Sertoli (Figura 2B). Túbulos seminíferos vizinhos também apresentam o mesmo estágio do ciclo espermatogênico. Em um mesmo túbulo seminífero é possível observar até três estágios da espermatogênese (Figura 2F).

No testículo maduro, todos os tipos de células espermatogênicas são observadas, como segue: espermatogônias (células arredondadas com núcleo grande e central); espermatócitos I (células arredondadas, menores do que as espermatogônias, difícil distinguir o núcleo do citoplasma); espermatócitos II (células arredondadas, do mesmo tamanho dos espermatócitos, com núcleo central esférico e com a cromatina compactada); espermátides (células pequenas com núcleos basófilos e grandes em relação ao citoplasma); e espermatozóides (células alongadas) (Figuras 2A- F).

O espermatozóide tem a forma semelhante à de um cone. Um grupo de espermatozóides envolvidos por uma fina membrana constitui um espermatóforo (Figuras 3B, 3C e 3E).

O VDP tem um epitélio simples com células cilíndricas secretoras onde os espermatozóides estão imersos em uma matriz homogênea pouco corada pelo HE e pelo PAS, sem nenhuma membrana os envolvendo (Figuras 3A e 3 D).

No VDM o epitélio é simples cúbico e a formação dos espermatóforos se inicia, a estrutura da membrana dos espermatóforos parece ter início pela secreção do epitélio que é PAS positiva. Os espermatóforos são irregulares, de tamanhos variados (Figura 3B).

Finalmente, no VDD o epitélio é simples pavimentoso e pouco secretor os espermatóforos elípticos (PAS +) já estão completamente formados (Figuras 3C e 3E). Muitos espermatóforos elípticos são observados e esses estão rodeados por uma grande quantidade de matriz heterogênea observada também na MEV (Figuras 4A, 4B e 4C). O tamanho médio dos espermatóforos foi de 122,0 μ m ± 24,5 μ m na sua maior largura e 99,1 μ m ± 20,6 μ m na menor largura.

A ampola apresenta um evidente epitélio estratificado secretor, envolto externamente por células musculares. Dentro da ampola existe uma secreção (PAS -) homogênea intensamente corada pela eosina (Figura 3F), e heterogênea quando corada pelo azul de toluidina. Não foram encontrados espermatóforos nas ampolas (Figura 3F).

O espermatozóide maduro de *X. kroyeri* apresenta um acrossoma arredondado anterior, do qual parte uma estrutura alongada; o "spike", importante no momento da fecundação (Figuras 4E e 4F). Posteriormente ao acrossoma o espermatozóide é formado por uma estrutura em forma de cone, região que acreditamos representar o núcleo e o citoplasma da célula (Figuras 4D - 4F). Dentro dos espermatóforos existe uma matriz extracelular em meio aos espermatozóides (Figuras 4D - 4F).

DISCUSSÃO

As características do sistema reprodutor masculino de *X. kroyeri* seguem o padrão geral dos camarões peneídeos (Tuma 1967, Chow *et al.* 1991, Bauer & Min 1993), sua forma, simplicidade e o número de espermatóforos são semelhantes àquelas descritas para *Rimapenaeus similis* por Bauer & Min (1993), a qual, trata-se de uma espécie com télico fechado. Por outro lado o sistema reprodutor masculino de *X. kroyeri* é diferente dos outros peneídeos que possuem télico aberto, como o *Litopenaeus schmitti, L. vannamei* e *Penaeus setiferus*, onde os espermatóforos apresentam "asas" e outros acessórios para se fixar ao télico da fêmea (Bauer 1991, Chow *et al.* 1991).

A relação entre a forma dos espermatóforos e o tipo de télico é descrito e comparado com outras espécies de Penaeidae (Subramoniam 1991). De acordo com esse mesmo autor, fêmeas de télico aberto, geralmente, recebem espermatóforos com estruturas acessórias complexas, como "asas", enquanto que fêmeas de télico fechado recebem espermatóforos simples. Provavelmente, esta diferença deva-se ao fato de que as fêmeas de télico aberto não possuem receptáculos para armazenar os espermatóforos até o momento da fecundação. Desse modo, espermatóforos com estruturas elaboradas possibilitariam uma fixação adequada ao télico, enquanto que, nas fêmeas de télico fechado se espermatóforos ficam depositados dentro dos receptáculos, protegidos pela placa externa do télico, não necessitando assim de estruturas de fixação.

No camarão carídeo *Macrobrachium rosenbergii* o espermatóforo consiste numa massa espermática rodeada por duas matrizes (Chow 1982), o qual se mostra diferente de todos os outros tipos de espermatóforos.

Cada lobo testicular contém células que estão num único estágio da espermatogênese, e os lobos adjacentes também estão nesse mesmo estágio. Esta descrição caracteriza o tipo restrito de testículo, de acordo com Grier (1993). Este padrão também foi observado por Okumura & Hara (2004) para *M. rosenbergii*, e para *Penaeus stylirostris* por Bell & Lightner (1988). Enquanto que em Astacidea cada lobo testicular está em um estágio da espermatogênese e os lobos vizinhos estão em estágios diferentes (López-Greco *et al.* 2007).

Os crustáceos Dendrobranchiata apresentam a morfologia dos espermatozóides muito diversa. Em geral, o espermatozóide é uma célula altamente polarizada formada por três partes anatômicas distintas: o corpo celular, a região do capuz e o "spike" (= prolongamento da vesícula do acrossoma) (Felgenhauer & Abele 1991).

Em linhas gerais, a forma dos espermatozóides de *X. kroyeri* vista em preparações MEV é similar em Penaeidae, Sicyoniidae e Solenoceridae, os quais são caracterizados por possuírem um espermatozóide uniestrelado (Medina *et al.* 2006). Além disto, a presença de um capuz acrossômico que é projetado para frente em um apêndice pontiagudo conhecido como "spike" (Medina *et al.* 2005, 2006). No entanto, *X. kroyeri* possui uma forma cônica e uma região arredondada na extremidade mais ampla, de onde se origina o spike.

A literatura existente sobre a morfologia de espermatozóides mostra que este tipo de estudo é promissor e muito útil na elucidação de problemas taxonômicos e/ou filogenéticos. No entanto, a grande variedade de formas encontradas entre os espermatozóides de Dendrobranchiata (Medina *et al.* 2006) pode indicar que várias modificações surgiram ao longo da evolução desse grupo, ocasionando alterações que tornaram as comparações muito complexas. Um exemplo disto é o caso dos Solenoceridae *Solenocera membranosa, S. africana* e *Pleoticus muelleri* que apresentam considerável similaridade estrutural (Medina *et al.* 2006) e que sustenta a afinidade entre Penaeidae e Solenoceridae. No entanto, significantes diferenças foram encontradas em relação à Sicyoniidae, sugerindo uma separação desta família em relação à assembléia formada por Penaeidae-Solenoceridae (Medina *et al.* 2006).

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.
- Bauer, R. T. 1991. Sperm transfer and storage structures in Penaeoid shrimps: a functional and phylogenetic perspective: *In*: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (ed.). *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York. pp.183-207.
- 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. & 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.
- Bell, T. A. & Lightner, D. V. 1988. A handbook of normal penaeid shrimp histology.The World Aquaculture Society, Allan Press Inc., 114 p.
- Castro, R. H.; Costa, R. C.; Fransozo, A. & Mantelatto F. L. M. 2005. Population structure of the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1962) (Crustacea: Penaeoidea) in the litoral os São Paulo, Brazil. Scientia Marina, 69(1): 105-112.
- 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.

- Chow, S.; Dougherty, M. M.; Dougherty, W. J. & Sandifer P.A. 1991. Spermatophore formation in the white shrimps *Penaeus setiferus* and *P. vannamei*. Journal Crustacean Biology, 11(2): 201-216.
- Clark Jr., W. H. & Griffin, F. J. 1988. The morphology and physiology of the acrosome reaction in the sperm of the decapod, *Sicyonia ingentis*. Development Growth & Differentiation, 30(5): 451-462.
- Costa, R. C.; Fransozo, A.; Melo, G. A. S. & Freire, F. A. M. 2003. An illustred key for Dendrobranchiata shrimps from the northern coast of São Paulo state, Brazil.
 Biota Neotropica, 3(1): 1-12.
- Costa, R. C.; Fransozo, A.; Mantelatto, F. L. M. & Castro, R. H. 2000. Occurrence of shrimp species (Natantia: Penaeidea: Caridea) in Ubatuba Bay, Ubatuba, SP, Brazil. Proceedings of the Biological Society of Washington, 113(3): 776-781.
- Costa, R. C.; Fransozo, A.; Freire, F. A. M. & Castilho, A. L. 2007. Abundance and ecological distribution of the "sete-barbas" shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1962) (Decapoda: Penaeoidea) in three bays of the Ubatuba region, south-eastern Brazil. Gulf and Caribbean Research, 19: 33-41.
- D'Incao, F. 1995. Taxonomia, padrões distribucionais e ecológicos dos Dendrobranchiata (Crustácea: Decapoda) do litoral brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 365p.
- Felgenhauer, B. E. & Abele, L. G. 1991. Morphological diversity of Decapod spermatozoa. *In:* Bauer, R. T. & Martin, J. W.(eds.). *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press, New York. 1-215 pp.
- Fransozo, A.; Costa, R. C.; Pinheiro, M. A. A.; Santos, S. & Mantelatto, F. L. M. 2000. Juvenile recruitment of the seabob *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1962)

(Decapoda, Penaeidea) in Fortaleza Bay, Ubatuba, SP, Brazil. Nauplius, 8(2): 179-184.

- Fransozo, A.; Costa, R. C.; Mantelatto, F. L. M.; Pinheiro, M. A. A. & Santos, S. 2002.
 Composition and abundance of shrimp species (Penaeidea and Caridea) in
 Fortaleza bay, Ubatuba, São Paulo, Brazil. *In:* Escobar-Briones, E. & Alvarez, F.
 (eds.). *Modern Approaches to Study of Crustacea*. Kluwer Academic/Plenum
 Publishers. pp.117-123.
- Grier, H. 1993. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. *In:* Rusell, L. & Griswold, M. (eds.). *The Sertoli cells*. Cache River Press, Clearwater FL. pp. 703-739.
- Jamieson, B. G. M. & Tudge, C. C. 2000. Crustacea Decapoda. In: Adiyodi, K. G.; Adiyodi, R. G. & Jamieson, B. G. M. (eds.). Reproductive biology of invertebrates. Progress in male gamete ultrastructure and phylogeny. Vol. 9C, Wiley, Chichester. pp. 1-95.
- Jamieson, B. G. M. 1991. Ultrastructure and phylogeny of crustacean spermatozoa. Memoirs of the Queensland Museum, 31: 109-142.
- Jamieson, B. G. M.; Ausio, J. & Justine, J. L. 1995. Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy. Memoires du Museum National d'Historie Naturelle Paris, 166: 343-358.
- López-Greco, L. S.; Vazquez, F. & Rodriguez, E. M. 2007. Morphology of the male reproductive system and spermatophore formation in the freshwater "red claw" crayfish *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1898) (Decapoda, Parastacidae). Acta Zoologica, 88: 223-229.
- Martin, J. W. & Davis, G. E. 2001. *An update classification for the recent Crustacea*. Science Series No 9. Natural History Museum of Los Angeles County. 124p.

- Medina, A.; Scelso, M. A. & Tudge, C. C. 2005. Spermatozoal ultrastructure in three atlantic solenocerid shrimps (Decapoda, Dendrobranchiata). International Journal of Morphology, 267: 300-307.
- Medina, A.; Garcia-Isarch, E.; Sobrino, I. & Abascal, F. J. 2006. Ultrastructure of the spermatozoa of Aristeopsis edwardsiana and Aristeus varidens (Crustacea, Dendrobranchiata, Aristeidae). Zoomorphology, 125: 39-46.
- Mota-Alves, M. I. & Rodrigues, M. M. 1977. Aspectos da reprodução do camarão Setebarbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Decapoda, Macrura), na costa do Estado do Ceará. Arquivos de Ciências do Mar, 17(1): 29-35.
- Nakagaki, J. M. & Negreiros-Fransozo, M. L. 1998. Population biology of *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Decapoda: Penaeidae) from Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil. Journal of Shellfish Research, 17(4): 931-935.
- Okumura, T. & Hara, M. 2004. Androgenic gland cell structure and spermatogenesis during the molt cycle and correlation to morphotypic differentiation in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Zoological Science**, **21**: 621-628.
- Pires, A. M. S. 1992. Structure and dynamics of benthic megafauna on the continental shelf offshore of Ubatuba southeastern Brazil. Marine Ecology Progress Series, 86: 63-76.
- Scelzo, M. A. & Medina, A. 2003. Spermatozoal ultrastructure in Artemesia longinaris (Decapada; Penaeidae). Journal Crustacean Biology, 23(4): 814-818.
- Subramoniam, T. 1991. Chemical composition of spermatophores in Decapod crustaceans: 309-321. In: Bauer, R. T. & Martin, J. W. (eds.). Crustacean Sexual Biology. Columbia University Press, New York, 355 p.

- Subramoniam, T. 1995. Light and electron microscopic studies on the seminal secretions and the vas deferens of the penaeiodean shrimp, *Sicyonia ingentis*. Journal of Biosciences, 20(5): 691-706.
- Tuma, D. J. 1967. A description of the development of primary and secondary sexual characters in the banana prawn, *Penaeus merguiensis* de Man (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 18:73-88.
- Willians, A. B. 1984. Shrimps, lobsters and crabs of the Atlantic Coast of the Eastern United State, Maine to Florida. Smithsonian Institution Press, Washington, U.S.A., 550p.

DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

Fotomicrografias

- A Testículo de X. kroyeri. Lobos testiculares (L); Espermatócitos primários (I);
 Espermatócitos secundários (II). Coloração: Azul de Toluidina. Barra de escala: 50,0 μm.
- B Testículo de X. kroyeri. Lobos testiculares (L); Espermatócitos secundários (II);
 Espermatogônias (G); Células de Sertoli (S). Coloração: Azul de Toluidina. Barra de escala: 20,0 μm.
- C Testículo de X. kroyeri. Espermatogônias (G); Espermatócitos primários (I).
 Coloração: Azul de Toluidina. Barra de escala: 20,0 μm.
- D Testículo de X. kroyeri. Espermatócitos secundários (II). Coloração: H.E. Barra de escala: 20,0 μm.
- **E** Testículo de *X. kroyeri*. Espermatogônias (G); Espermátides (D). **Coloração**: H.E. Barra de escala: 20,0 μm.
- F Testículo de X. kroyeri. Espermatócitos primários (I); Espermatócitos secundários (II); Espermatogônias (G); Espermátides (D). Coloração: H.E. Barra de escala: 50,0 μm.



Figura 2

Fotomicrografias

- A Vaso deferente proximal de *X. kroyeri*. Epitélio simples (E); Matriz extracelular (M); Espermatozóides (Z). Coloração: Azul de Toluidina. Barra de escala: 50,0 μm.
- B Vaso deferente médio de *X. kroyeri*. Epitélio simples (E); Matriz extracelular (M);
 Espermatóforos (F). Coloração: Azul de Toluidina. Barra de escala: 50,0 μm.
- C Vaso deferente distal de *X. kroyeri*. Epitélio simples (E); Matriz extracelular (M);
 Espermatóforos (F). Coloração: Azul de Toluidina. Barra de escala: 50,0 μm.
- D Vaso deferente proximal de *X. kroyeri*. Epitélio simples (E); Matriz extracelular (M); Espermatozóides (Z). Coloração: H.E. Barra de escala: 50,0 μm.
- E Vaso deferente distal de *X. kroyeri*. Epitélio simples (E); Matriz extracelular (M);
 Espermatóforos (F). Coloração: H.E. Barra de escala: 20,0 μm.
- F Ampola de *X. kroyeri*. Epitélio estratificado (E); Matriz extracelular (M).
 Coloração: H.E. Barra de escala: 50,0 μm.



Figura 3

Eletromicrografias de Varredura

- A Vaso deferente distal de X. kroyeri. Matriz extracelular entre os espermatóforos (M); Espermatóforos (F). Barra de escala: 100,0 μm.
- **B** Vaso deferente distal de X. kroyeri. Espermatóforos (F). Barra de escala: 200,0 μm.
- C Vaso deferente distal de *X. kroyeri*. Matriz extracelular entre os espermatóforos (M); Espermatóforos (F). Barra de escala: 50,0 μm.
- D Espermatóforo de X. kroyeri. Espermatozóides (Z); Matriz extracelular dentro do espermatóforo (Ma). Barra de escala: 20,0 μm.
- E Espermatozóide de *X. kroyeri.* "Spike" (S); Acrossoma (A); Região posterior (P);
 Matriz extracelular dentro do espermatóforo (Ma). Barra de escala: 10,0 μm.
- F Espermatozóide de *X. kroyeri.* "Spike" (S); Acrossoma (A); Região posterior (P);
 Matriz extracelular dentro do espermatóforo (Ma). Barra de escala: 10,0 μm.


Figura 4