



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

YAGO BARROS LIMA

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE FÊMEAS DE DUAS ESPÉCIES DE  
CARANGUEJO ERMITÃO (DECAPODA: ANOMURA: DIOGENIDAE)**

FORTALEZA  
JUNHO - 2018

YAGO BARROS LIMA

Biologia reprodutiva de fêmeas de duas espécies de caranguejo ermitão (Decapoda:  
Anomura: Diogenidae)

Monografia apresentada ao curso de Ciências  
Biológicas, modalidade Bacharelado do  
Departamento de Biologia da Universidade  
Federal do Ceará, como requisito parcial para  
obtenção do título de bacharel em Ciências  
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Feitosa  
Silva.

FORTALEZA

JUNHO - 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- L711b Lima, Yago Barros.  
Biologia reprodutiva de fêmeas de duas espécies de caranguejo ermitão (Decapoda: Anomura: Diogenidae) / Yago Barros Lima. – 2018.  
39 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. José Roberto Feitosa Silva.
1. Fecundidade. 2. Oócitos. 3. Ermitão. 4. Estágios de maturação. I. Título.

CDD 570

---

YAGO BARROS LIMA

Biologia reprodutiva de fêmeas de duas espécies de caranguejo ermitão (Decapoda:  
Anomura: Diogenidae)

Monografia apresentada ao curso de Ciências  
Biológicas, modalidade Bacharelado do  
Departamento de Biologia da Universidade  
Federal do Ceará, como requisito parcial para  
obtenção do título de bacharel em Ciências  
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Feitosa  
Silva.

Aprovado em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. José Roberto Feitosa Silva (Orientador)

Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carminda Sandra Brito Salmito Vanderley  
Universidade Estadual do Ceará – Centro de Ciências da Saúde

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Valesca Pinto de Lima  
Universidade de Fortaleza – Centro de Ciências da Saúde

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer ao Prof. Dout. José Roberto Feitosa Silva, por ter não só aceitado ser meu orientador, mas por também ter me permitido entrar no laboratório Lersa (Laboratório de Estuários e Recursos do Semi-Árido), foi neste laboratório que pude encontrar meu lugar na biologia, além de ter conhecido pessoas maravilhosas. Gostaria de agradecer também aos membros do laboratório, que se sempre que podem, se disponibilizam a ajudar.

Quero agradecer também a Francimeire, não só por ter me doado uma parte do material que me permitiu escrever este trabalho, mas também pela incrível pessoa e amiga que é, que sempre faz o possível para lhe ajudar (desculpa se não fui muito interativo).

À Profa .Dra. Ana Valesca e à Profa. Dra. Sandra Salmito, pela participação como membro desta banca examinadora. Serei grato pelas suas contribuições. E um agradecimento também ao Bioprospec e seus membros por me emprestarem o material necessário que tornou possível a realização deste trabalho.

Agradeço aos meus primos Allysson, Rosana, Larissa, e meu irmão Yuri e minha cunhada Gissely, por me propiciarem momentos maravilhosos de diversão.

Um agradecimento mais que especial para os amigos que nunca imaginei que poderia fazer em toda minha vida, e que por algum motivo aceitaram ser meus amigos, e manter a nossa amizade (vou colocar em ordem alfabética para não ter questão de prioridade): Andressa (e as conversas sem sentido que temos), Gabriel Capra (e as teorias mais complexas sobre qualquer assunto), Gabriel Cocó (e conversas mais sem nexo que tenho com alguém), Heitor (e o quão desprovido de qualquer noção tu é), Hugo (e todos os momentos de alegria que passamos), Luísa (mesmo tendo perdido a Luísa, e agora sendo shiour, continuo te amando), Pedro (e todos os estresses que só tu é capaz de fazer, e as fofocas que compartilhamos, além dos diversos momentos de rir dos outros também), Rute (e todos esses anos tu não me querendo, e nossas conversas no corredor do 909), Thais (e a diversão que é estar contigo, e Virginia (pelas caronas, pelas milhares de saidinhas quando estamos na bad, por tudo isso e muito mais). Gostaria de agradecer de novo a estas pessoas, pois foi com elas

que passei os dias mais felizes da minha vida, fui para os lugares mais legais, e pude esquecer um pouco dos meus problemas.

Gostaria de agradecer também aos amigos que fiz durante esses anos na UFC, que mesmo não estando sempre presentes, são pessoas importantes para mim: Karol Rodrigues (esse agradecimento é o mais especial de todos), Jennifer Bruna, Thiago Guerra, Gabriele Félix, Alice Andrade, Paulo Ricardo, Andreza Freitas, Narrimam Reis, Letícia Freires, Bruna Gonçalves, Cleantony Frota, Felipe Alecrim, Júlia Covas, Pedro Vítor, Cláudio Júnior, Vanessa Alves e os outros que não lembrei do nome nesta hora da noite.

Por fim agradeço aos dois melhores amigos que entraram na minha vida. Primeiro, Cíntia Martins (fotografias) por essa amizade maravilhosa que construímos (apesar de eu fugir de tu no início), por todos os bares e álcoolis que consumimos (faltam muitos ainda), além de todas as discussões filosóficas que tivemos lá no Benfica, por todos os vídeos de travestis que assistimos (e todos que vamos assistir ainda), por todas as nossas ideias de trabalhos para o futuro (aposto na funerária) e por ser essa pessoa incrível que tu és. Sou muito grato por todas as horas que passamos juntos (Não vejo a hora de tu se tornar a maior ornitóloga desse país). E por último, meu irmão de outra mãe, Hipólito Denizard, que apesar das coisas terem desandado um pouco este ano, sou muito feliz por estar contigo. Não consigo escolher coisas para agradecer já que sou grato por tudo que é e significa nossa amizade (apesar de tu dar muito estresse também). Sou grato por todos os lugares que conhecemos juntos, as madrugadas de conversas, e as coisas absurdas que só acontecem conosco, enfim. Eu não canso de dizer isso, mas tu és a pessoa que eu mais sinto orgulho, não só de ser teu amigo, mas pela pessoa sensacional que eu sei que tu vais se tornar.

E em adicional, agradeço a minha cachorra Sofia, por estar me fazendo companhia, enquanto termino de escrever este trabalho às 3 horas da manhã.

## RESUMO

*Clibanarius symmetricus* e *Clibanarius sclopetarius* são duas espécies de caranguejo ermitão distribuídos ao longo da costa marítima do Brasil. Apresentam dimorfismo sexual, de acordo com a posição dos gonóporos. Fecundidade é o número de ovos que uma fêmea deposita em uma única desova. Análises de fecundidade são importantes para se conhecer o potencial reprodutivo de uma espécie. Estudos com a descrição histológica destas espécies podem ser utilizados como modelo para compreensão do sistema reprodutor feminino de crustáceos em geral. O uso de testes histoquímicos auxilia na descrição dos estágios de maturação dos ovócitos desta espécie. Com o objetivo de analisar o desenvolvimento gonadal destes caranguejos ermitões, através de colorações histoquímicas, foram realizadas coletas dos espécimes em quatro estuários (Jaguaribe, Pacoti, Acaraú e Timonha&Ubatuba) através de esforço amostral, e levadas ao laboratório, onde foram dissecados, sexados e dados biométricos foram coletados (para análise da fecundidade das fêmeas ovígeras), e as gônadas removidas. Depois da dissecação, os órgãos passaram por rotina histológica (desidratação, diafanização, impregnação e microtomia), corados com tricrômico de gomori (detecção dos tecidos em geral), hematoxilina-eosina (substâncias ácidas e básicas), azul de alcian/ PAS (detecção de mucopolissacarídeos) e azul de bromofenol (identificação de proteínas totais). Após essa etapa, as secções foram analisadas em microscópio de luz. O ovário, órgão produtor das células sexuais do sistema, apresentou, através da histoquímica, quatro estágios de maturação, que variam de acordo com a incorporação do vitelo. Pela proporção dos estágios celulares e das substâncias químicas presentes foram determinados quatro estágios de maturação da gônada: imatura, em maturação madura e repouso. A fecundidade apresentou correlação positiva com os dados biométricos, mas abaixo da média. Os estágios de maturação corroboram com outros estudos realizados com crustáceos decápodes e a descrição do sistema reprodutor feminino foi realizada com sucesso.

**Palavras-chave:** Fecundidade, oócitos, ermitão, estágios de maturação

## ABSTRACT

The *Clibanarius symmetricus* and *Clibanarius sclopetarius* are two hermit crab species, distributed through the maritime coastal zone of Brazil. They present sexual dimorphism, according to the gonopore position. Fecundity is the number of eggs that a female deposits, in only one spawn. Fecundity analysis is important because they help to understand the reproductive potential of a species. Studies with the histological description of those species can be utilized as models for studies of the female reproductive system of crustaceans, in general. The use of histochemical tests helps in the description of the maturation stages of the oocytes from those species. With the goal to analyze the gonadal development of those hermit crabs, with histochemical coloration, the individuals were collected in four estuaries (Jaguaribe, Pacoti, Acaraú e Timonha&Ubatuba), and taken to laboratory, where they were sexed, biometric data collected (for fecundity analysis), dissected and the gonads were removed. After dissection, the organs passed through histologic routine (dehydration, diaphanization, impregnation and microtomy), colored with trichrome Gomori (detection of tissues), Hematoxylin-eosin (detection of acidophilous and basophilous substances), Alcian/ PAS blue (detection of mucopolysaccharides) and Bromofenol (identification of proteins). After those stages, the sections were observed on an optical microscope. The ovary, the organ that produces the sexual cells, showed, through histochemical analysis, four maturation stages for the oocytes that varies through the incorporation of yolk. With the proportion of oocyte stages and presence of chemical substances, it was possible to determine four stages for the gonad maturation: immature, in maturation, mature and resting. The fecundity showed positive correlation with the biometric data, although below average. The maturation stages corroborates with other studies realized on decapod crustaceans, and the description of the female reproductive system was successful.

**Key words:** Fecundity, oocytes, hermit crab, maturation stages

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Caranguejo-ermitão ( <i>C. sclopetarius</i> ) fora da concha.....	17
Figura 2 – Abdômen de fêmea ovígera de <i>Clibanarius symmetricus</i> .....	18
Figura 3 – Abertura do gonóporo feminino de <i>C. symmetricus</i> como para <i>C. sclopetarius</i> .....	20
Figura 4 – Representação do sistema reprodutor feminino de <i>C. symmetricus</i> e <i>C. sclopetarius</i> .....	21
Figura 5 – Secção histológica de oviducto de <i>C. symmetricus</i> .....	22
Figura 6 – Secção histológica de ovário de <i>C. sclopetarius</i> .....	23
Figura 7 – Secção histológica do ovário de <i>C. symmetricus</i> .....	25
Figura 8 – Coloração do ovário de <i>C. symmetricus</i> .....	26
Figura 9 - Secção histológica de ovário de <i>C. symmetricus</i> .....	27
Figura 10 – Secção histológica de ovário de <i>C. symmetricus</i> .....	28
Figura 11 – Gráfico da correlação dos dados biométricos do <i>Clibanarius sclopetarius</i> .....	29

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1: Dados morfométricos de <i>C. symmetricus</i> e <i>C. sclopetarius</i>.....</b>	<b>29</b>
<b>Tabela 2: Variação de tamanho dos oócitos em diferentes estágios <i>Clibanarius symmetricus</i>.....</b>	<b>30</b>
<b>Tabela 3: Variação de tamanho dos oócitos em diferentes estágios <i>Clibanarius sclopetarius</i>.....</b>	<b>30</b>
<b>Tabela 4: Reação de corantes para cada estágio de maturação dos oócitos para <i>Clibanarius sclopetarius</i> e <i>Clibanarius symmetricus</i>.....</b>	<b>29</b>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Coleta.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2 Análises histológicas.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3 Fecundidade.....</b>	<b>18</b>
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Análises anatômicas.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2 Descrição histológica do sistema reprodutor de <i>C. symmetricus</i> e <i>C. sclopetarius</i>..</b>	<b>21</b>
<b>3.3 Fecundidade de <i>C. sclopetarius</i>.....</b>	<b>28</b>
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>36</b>

## 1.INTRODUÇÃO

Os crustáceos decápodes são componentes do subfilo Crustacea, do filo Arthropoda. São indivíduos que se caracterizam por apresentar um exoesqueleto enriquecido com carbonato de cálcio, formando uma camada bastante endurecida. Apresentam um par de antenas, um par de mandíbulas e um par de maxilas (Rupert & Barnes, 1996). Além do exoesqueleto, os crustáceos possuem apêndices articulados e o corpo segmentado. A cabeça e o tórax estão fundidos em uma peça única, o cefalotórax. O abdômen apresenta apêndices articulados natatórios birremes (dois ramos presos a uma base), embora não seja uma característica comum em todos os crustáceos. Outra característica marcante é a presença de um par de quelípedes, utilizados para manuseio de alimentos, assim como defesa. Na cabeça, estão presentes, além dos dois pares de antenas, dois olhos compostos, geralmente pedunculados. Os crustáceos são o grupo com maior diversidade morfológica entre os animais (Rupert & Barnes, 1996). Eles se apresentam de diferentes formas e tipos, sendo subdivididos em diversos táxons. Uma das ordens com maior número de representantes é a Decapoda.

Este táxon de crustáceos é caracterizado pela presença de dois pares de antenas e por apresentar cinco pares de patas ambulatórias, que os permite realizar locomoção (Brusca & Brusca, 2007). Neste grupo, podemos citar como exemplos os camarões, as lagostas, os lagostins e os caranguejos. Esta ordem de crustáceos se distribui ao longo de todo o planeta, ocorrendo em uma grande variedade de ambientes, desde fossas abissais até estuários (Chen et al., 2016). Dentro do táxon Decapoda, é encontrado o grupo dos Pleocyemata.

O táxon Pleocyemata tem como característica básica de seus representantes a presença da dendrobrânquia (Rupert & Barnes, 1996). Exemplos de espécies presentes nesse grupo são as lagostas e camarões. Outra característica desses indivíduos é a divisão dos apêndices locomotores em dois grupos: pereópodes e pleópodes (Rupert & Barnes, 1996). Enquanto que os pereópodes estão relacionados com a locomoção, defesa (quelípedes) e alimentação (apêndices bucais), os pleópodes são utilizados, além da movimentação, para a reprodução, seja pela transferência do material genético, seja pelo armazenamento de ovos pelas fêmeas. Outro grupo pertencente a este táxon, com características peculiares é a infraordem Anomura.

A principal característica das espécies deste táxon é o seu abdômen não calcificado, sendo considerado “mole”, além de estar separado do cefalotórax. Por apresentar um abdômen “mole”, algumas espécies se utilizam de conchas de gastrópodes para proteção do mesmo (Melo, 1996). Ao longo do crescimento do indivíduo, eles vão trocando de conchas para aquela que se adapte melhor ao tamanho do seu corpo. Os anomuras apresentam mais de 800 espécies, que estão presentes desde fossas abissais até zonas costeiras (Martinelli et al. 2002). Dentro do grupo dos anomuras, estudos que envolvem a biologia reprodutiva destes indivíduos são poucos, já que há um maior interesse comercial nos outros representantes de decápodes, por serem maiores e fazer parte da alimentação diversas classes humanas.

Os caranguejos-ermitões *Clibanarius symmetricus* (Melo, 1999) e *Clibanarius sclopetarius* (Herbst, 1796) são duas espécies comuns da região oeste do atlântico. Eles ocorrem desde a região sudoeste dos Estados Unidos e Golfo do México, até toda a região costeira do Brasil (Melo, 1999). Vivem em regiões de mangue, na faixa entre-marés. Estas espécies apresentam diversas semelhanças anatômicas, sendo possível distinguí-las baseando-se na distribuição de listras nos pereópodes (Negri, Lemaitre, Mantelatto, 2014). Enquanto *C. symmetricus* apresenta pereópodes de coloração esverdeada, e oito listras pretas envolvendo o mesmo, *C. sclopetarius*, apresenta os pereópodes alaranjados e apenas quatro listras pretas em seus pereópodes. Estes animais apresentam fertilização interna, em que o macho deposita a massa espermática no gonóporo da fêmea, e fecundam os oócitos no ovário.

Os sexos de *C. symmetricus* e *C. sclopetarius* podem ser determinados pela posição do gonóporo na base dos seus pereópodes: está localizado no quinto par de pereópodes nos machos, e no terceiro par nas fêmeas. O sistema reprodutor feminino em decápodes, normalmente apresenta um par de ovários que se ligam a oviductos, também pares. Cada oviducto conecta-se ao gonóporo, através de um canal chamado de vagina (Hartnoll, 1968).

A disposição do sistema reprodutor feminino para indivíduos da mesma família de *C. symmetricus* e *C. sclopetarius* foi realizado apenas para duas espécies: *Diogenes pugilator* e *Clibanarius vittatus* (Manjón-Cabeza & Garcia Raso, 2000; Sant’Anna, et al. 2012). Em geral, nos decápodes, além destas estruturas, há a presença da espermateca, uma

estrutura com função de armazenamento dos espermátóforos depositados pelos machos, no gonópodo das fêmeas (Sainte-Marie et al. 1998). Apesar de ser uma estrutura comum para decápodes, a espermateca não está presente no táxon Anomura (Hartnoll, 1968).

A gônada feminina, para crustáceos, apresenta duas zonas: as zonas proliferativas e germinativas. A zona germinativa é a região em que as células sexuais são desenvolvidas. Já a zona proliferativa é a que ocorre a proliferação das células sexuais, e sua maturação. Sua posição varia ao longo dos crustáceos, devido as diferentes formas que o ovário se desenvolve e está localizado no corpo do animal (Carvalho, 1997). Para os ermitões, a zona proliferativa está presente na região ventral da parede do ovário. Em geral, os constituintes celulares da gônada feminina de Decapoda são: células foliculares e células germinativas: oogônia e oócitos. Além do sistema reprodutor feminino, outra característica reprodutiva dos animais em geral, é a fecundidade. Determina-se fecundidade como o número de ovos depositos pela fêmea após a desova. Esta inferência é importante, pois pode ser utilizada como parâmetro na definição do potencial reprodutivo da espécie (Barros, 2007). A fecundidade pode ser estimada pela contagem do número total de ovos que são depositados pelas fêmeas, em apenas uma única desova. Muitos estudos envolvendo fecundidade em crustáceos existem, e o cálculo da fecundidade pode ser útil para observar a variação da mesma ao longo dos anos, o que pode ser causada por alterações ambientais (Turra & Leite, 2007).

Em pesquisas, o número de estudos que descrevem histologicamente o trato reprodutor feminino, em outros decápodes, são abundantes (Ando & Makioka, 1999; Ayub & Ahmed, 2002; Becker, Bradis & Storch, 2011; Castiglioni et al., 2007; Peres & Ogawa, 2016; Shinozaki-Mendes, Akemi & Silva 2012; Santana, Leite & Silva, 2012; Peres & Silva, 2009). Já em anomuras, o número é bem mais reduzido (Kronenberger, Brandis, Turkay & Storch, 2004; Majón-Cabza & Garcia Raso, 2000; Sokolowicz, López-Greco, Gonçalves & Bond-Buckup, 2007). Para indivíduos do mesmo gênero *Clibanarius* existem trabalhos descrevendo o sistema reprodutor masculino (Santos & Mantelatto, 2011), e para as fêmeas, a descrição da vitelogênese ao longo da maturação em *Clibanarius clibanarius* (Varadaraján; Subramonian, 1980). Trabalhos com descrição histológica do trato feminino para *C. symmetricus* e *C. sclopetarius* não foram encontrados, apenas para o cálculo de fecundidade (Turra & Leite, 2007).

Estudos envolvendo o sistema reprodutivo de fêmeas são importantes pois podem ser usados na compreensão de como a reprodução ocorre em diferentes táxons. Além disso, a descrição pode ser utilizada também como um modelo histológico para estudos de sistema reprodutor feminino, para crustáceos em geral, já que os mesmos apresentam diversas características morfológicas semelhantes, sendo possível realizar comparações, e serem animais de fácil acesso e manuseio. Estes animais podem também ser bioindicadores da presença de tributilina, substância utilizada em embarcações para evitar que alguns artrópodes se fixem na proa dos barcos. Fêmeas que foram expostas à esta substância apresentaram desorganização e atrofia em suas gônadas, afetando assim a reprodução (Sant'Anna, et al. 2012),

O presente estudo tem como objetivo descrever anatômica e histologicamente o sistema reprodutor feminino das espécies *C. symmetricus* e *C. sclopetarius*, assim como a fecundidade para *C. sclopetarius*, e compará-las procurando diferenças e semelhanças entre as duas. Nesta descrição também objetiva-se descrever os estágios de maturação dos oócitos das duas espécies.

## 2.MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1- Coleta

Para as análises anatômicas e histológicas, um total de 238 fêmeas foram utilizadas. Dessas, 194 foram da espécie *C. symmetricus* e 42 de *C. sclopetarius*. Os indivíduos foram coletados, sem critério de coleta, em dois estuários diferentes: Jaguaribe e Acaraú, por serem estuários de fácil viagem e acesso. Os ermitões foram capturados manualmente na região entre marés, quando a maré estava baixa, e foram trazidos para o laboratório.

Os indivíduos foram transportados ao Laboratório de Estuários e Recursos do Semiárido (LERSA), na Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza. Lá, foram colocados em refrigerador por 20 minutos, à temperatura de -22°C com finalidade de reduzir o metabolismo e facilitar a remoção de cada indivíduo de sua concha. Os animais foram identificados de acordo com Melo (1999). Medidas morfométricas do comprimento do escudo cefálico (em milímetros) (FIGURA 1) e peso (em gramas) foram registrados para cada indivíduo. Os gonóporos foram descritos e fotografados em microscópio estereoscópico Leica S8AP0.

Em seguida, cada animal foi dissecado, para exposição e retirada do sistema reprodutor feminino (a determinação da cor das gônadas foi realizada com o uso de uma paleta de cores das tintas Coral), sendo colocado em fixador de Davidson (mistura de formol 10%; ácido acético glacial e água do estuário) por um período de 24 horas. Após esse tempo, foi retirado o excesso do fixado em água corrente e os componentes de cada sistema reprodutor foram imersos em álcool 70%, como líquido preservador, onde permaneceram até o início do processamento histológico.



FIGURA 1: Caranguejo-ermitão (*Clibanarius sclopetarius*) fora da concha. A linha vermelha representa o comprimento do escudo cefálico. Escala: 1cm. Foto: Yago Barros.

## 2.2- Análises histológicas

O material, após fixado e mantido em álcool 70%, passou pela etapa chamada de desidratação, em que uma série de álcoois (70%, 80%, 95% e 100%) com banhos de uma hora cada, foi usada com o objetivo de retirar toda a água presente ainda nos órgãos. Após a desidratação, o material foi diafanizado com xilol (dois banhos de duas horas cada) para a retirada do álcool e possibilitar a inclusão em parafina líquida, a 50° C. O processo final é chamado de impregnação, em que o material é mergulhado em parafina, à temperatura ambiente, onde caixas de papel são utilizadas para formar os blocos de parafina solidificada contendo o material biológico a ser seccionado em micrótomo. As secções de 5  $\mu\text{m}$  de espessura, feitas em micrótomo Leica RM2125 RTS, passaram por uma bateria de coloração e foram corados com Hematoxilina-Eosina (para evidenciar substâncias ácidas em vermelho e basófilas em roxo) (Junqueira, Junqueira, 1983); Tricrômico de Gomori (para as fibras colágenas em verde, epitélio em rosa) (Junqueira, Junqueira 1983), azul de alcian/PAS (corando núcleos em roxo e polissacarídeos em azul) (Behmer et al, 1976) e azul de bromofenol (para proteínas totais em azul) (Pearse, 1968).

As lâminas contendo as secções coradas foram observadas utilizando um microscópio Leica DM1000LED e fotografadas usando a câmera Leica DFC295.

### 2.3– Fecundidade para *Clibanarius sclopetarius*

Para o estudo da fecundidade, o método de contagem, assim como as análises estatísticas, foram os mesmos utilizados por Barros (2007). As fêmeas ovígeras (que continham ovos aderidos aos pleópodes) (FIGURA 2) foram colocadas em álcool 70%. Os ovos foram removidos cortando os pleópodes, local em que a massa de ovos está fixada, e colocados em uma solução 150ml de água destilada e 50ml de hipoclorito de sódio, para que os ovos se soltassem das setas ovígeras dos pleópodes. Os ovos, junto da solução de hipoclorito, em um béquer, foram colocados em um agitador magnético, para que a quantidade coletada com a pipeta fosse igual. Cinco alíquotas de 1ml, utilizando uma pipeta, foram retiradas da solução, colocadas em cinco placas de petri, e passaram 1 hora na estufa à 60° para facilitar a contagem. Os ovos foram contados a olho nu.



FIGURA 2: Imagem do abdômen de uma fêmea ovígera de *Clibanarius symmetricus*, com os ovos aderidos aos pleópodes da fêmea. Escala: 1cm.

Foto: Yago Barros.

Em seguida a coleta de dados dos ovos, a fecundidade foi medida multiplicando a média do número de ovos das 5 placas pelo volume total (200ml). O índice de fecundidade média foi calculado seguindo a correlação entre o índice de fecundidade e o tamanho do escudo cefálico das fêmeas. Um diagrama de dispersão foi gerado para a relação entre o número de ovos e o comprimento do escudo cefálico. Estes valores foram submetidos a uma análise de regressão linear e a correlação entre as duas variáveis foi observada.

### 3.RESULTADOS

O maior e menor tamanho de escudo cefálico encontrado para *C. symmetricus* foi 13.30mm e 2.35mm respectivamente e em *C. sclopetarius*, 10.50mm e 1.80mm (TABELA 1) respectivamente. Destes indivíduos, para as fêmeas com escudo cefálico menor que 3.35mm não foi possível distinguir o ovário no abdômen, devido a sua coloração, sendo realizado a histologia do abdômen completo.

#### 3.1 - Análises anatômicas

O sistema reprodutor feminino está localizado desde a região dorsal do abdômen até a região ventral do cefalotórax. O ovário posiciona-se acima da glândula digestiva (hepatopâncreas). Ao longo da maturação do ovário, há um aumento de volume e de extensão, além das alterações de cor neste órgão. Ao chegar nos estágios finais, o ovário ocupa quase toda a região interna do abdômen. O oviducto conecta o ovário ao gonóporo (FIGURA 3). Como este poro genital está localizado na base do terceiro pereópode, no cefalotórax, o oviducto vai da posição dorsal no abdômen, até a posição ventral, cruzando a divisão entre o abdômen e o cefalotórax até a abertura do gonóporo. As cores observadas para os ovários, ao longo do processo de maturação foram: bege, amarelo, laranja, vermelho-claro, vermelho e vermelho-escuro.

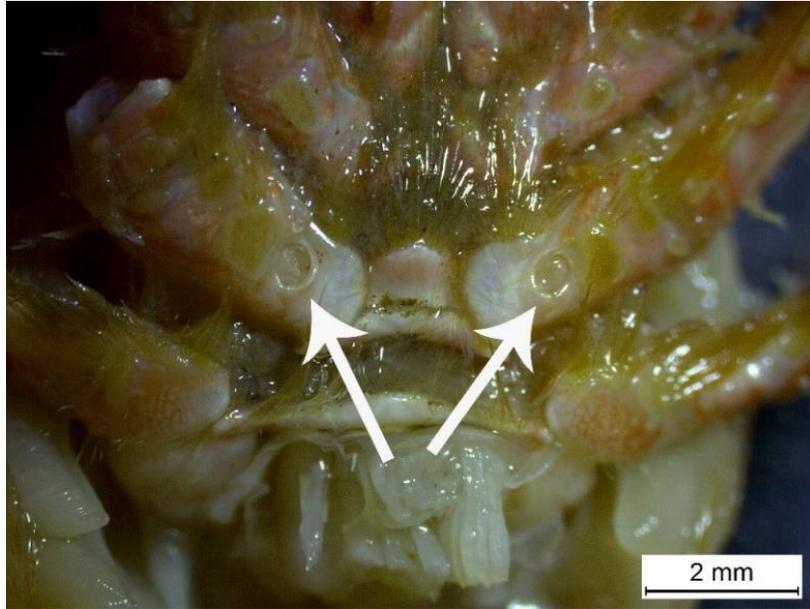


FIGURA 3: Posição dos gonóporos (evidenciado pelas setas) no terceiro par de pereópodes, tanto para *Clibanarius symmetricus* como para *C. sclopetarius*. Foto: Yago Barros.

A abertura do gonóporo de *C. symmetricus* e *C. sclopetarius* está localizada na base de cada pereópodo que formam o terceiro par. O ovário, no abdômen, tem formato de “Y” (FIGURA 4). O tamanho do ovário varia de acordo com o estágio de maturação, e, para ambas espécies, não é observada espermateca. Outras características que ajudam na diferenciação entre macho e fêmea, é o tamanho do quelípode direito, que em machos é relativamente maior, se comparado ao das fêmeas. Além disso, pelo fato do abdômen ser uma estrutura translúcida, é possível observar a coloração interna, em que os machos apresentam uma cor mais esverdeada, enquanto as fêmeas variam de laranja para vermelho-escuro.

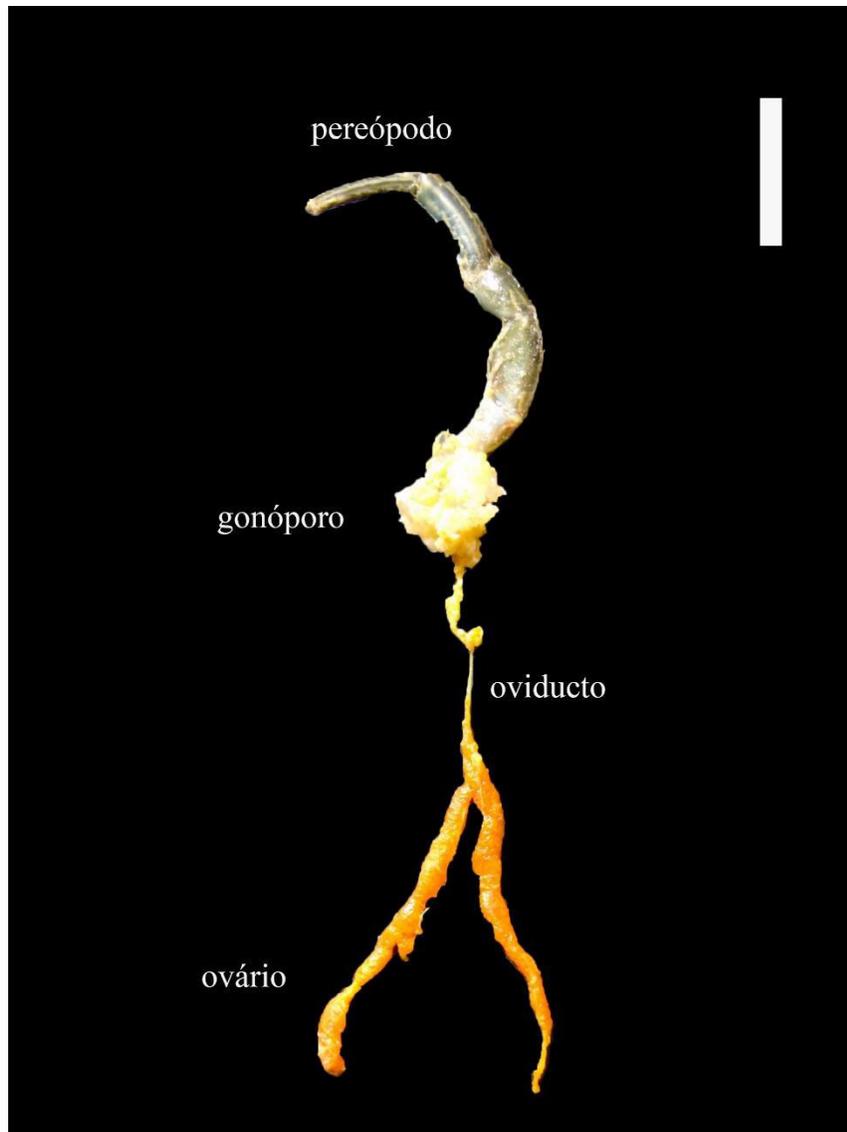


FIGURA 4: Representação do sistema reprodutor feminino de *C. symmetricus* e *C. sclopetarius*, evidenciando o gonóporo (no terceiro pereiópodo), oviducto e ovários. Escala: 1cm. Foto: Yago Barros.

### 3.2- Descrição do sistema reprodutor feminino de *C. symmetricus* e *C. sclopetarius*

O oviducto de ambas espécies é formado por um epitélio colunar simples, secretor e ciliado apoiado em uma lâmina basal (FIGURA 5). Foi observado também um tipo de substância próxima ao epitélio, sendo possível determinar que a substância é secretada pelo mesmo.

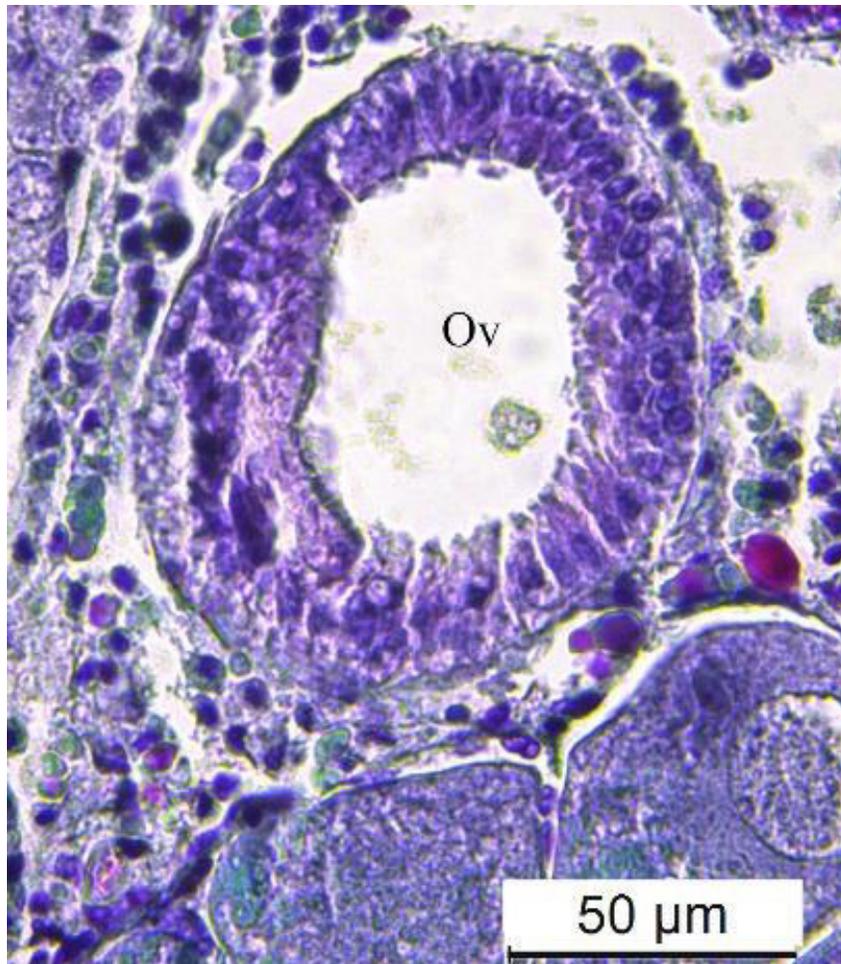


FIGURA 5: Secção histológica de oviducto de *C. symmetricus*, com epitélio simples colunar secretor. Secreção no lúmen do oviducto. Ov: oviducto. Corado com Tricrômico de Gomori. Foto: Yago Barros.

O ovário de ambas espécies é revestido por uma grande quantidade de material fibroso e células, que provavelmente são células fibroblastos ou mesmo miofibroblastos. Além destas células, aparecem outras que formam agrupamentos por entre as células sexuais, que podem ser as células foliculares (FIGURA 6). Assim, podemos indicar que as células que constituem o ovário das duas espécies são: células produtoras das fibras, células foliculares e células sexuais; estas, em vários estágios de desenvolvimento maturativo. As células foliculares são encontradas em torno das células sexuais, são ovais e o núcleo ocupa quase que por completo o citoplasma, e seu formato vai modificando à medida que os oócitos maturam, tornando-se mais pavimentosas e achatadas (FIGURA 7).



FIGURA 6: Secção histológica de ovário de *C. sclopetarius*. A seta indica uma camada de células, provavelmente fibroblastos que envolvem o ovário. O1: oócitos 1; O2: oócitos 2. Corado com Tricrômico de Gomori. Foto: Yago Barros.

As células sexuais das duas espécies estão divididas em dois grupos: oogônia e oócitos (em diferentes estágios de maturação). A oogônia é o conjunto de células pequenas, esféricas, com um núcleo e nucléolo, também oval, e o citoplasma é de difícil visualização

(FIGURA 7). Estas células são precursoras dos oócitos, e se localizam, normalmente em uma zona de proliferação. Nas células germinativas, que são células originadas da oogônia em um estágio mais avançado de maturação, é possível, além das outras estruturas, observar também o nucléolo, porém, ao longo de sua maturação, o citoplasma aumenta o volume, principalmente por deposição de vesículas de vitelo, tornando-se mais difícil a observação do núcleo e nucléolo. Desse modo, foram destacados quatro estágios de maturação para estas células. Os critérios para determinação de cada estágio, foram: tamanho das células, a deposição de substâncias ácidas e básicas no citoplasma, proporcionada pelas reações aos corantes e o grau de desenvolvimento do núcleo. Os oócitos apresentaram uma variação de tamanho, variando de  $0,372 \mu\text{m}$  até  $354,04 \mu\text{m}$ , ao longo dos estágios maturativos (TABELA 2 e 3). As reações entre os corantes e cada estágio de maturação dos oócitos, está descrito na tabela 4.

Os quatro estágios descritos para ambas espécies dos oócitos são: oócito 1, oócito 2, oócito 3 e oócito 4.

Oócito 1 – são maiores que as oogônias, e caracterizadas por ter um citoplasma basofílico com um núcleo redondo. É possível observar o nucléolo, e estas células apresentam tamanhos reduzidos, se comparado com os outros estágios (FIGURA 7). Não ocorre ainda a deposição de vitelo, e o núcleo ocupa uma boa parte do citoplasma.

Oócito 2 – caracterizados pela presença de vesículas de vitelo no citoplasma e são um pouco mais acidófilos. Em algumas ainda é possível observar o nucléolo no núcleo. Elas apresentam forma ovalada. Neste estágio inicia-se o preenchimento do citoplasma por grânulos de vitelo (FIGURA 6).

Oócito 3 – O núcleo é de difícil observação, e o nucléolo não é mais visível, por seus tamanhos terem reduzido, e a célula apresenta uma grande quantidade de vitelo, além de apresentar um citoplasma bem mais ácido (FIGURA 9).

Oócito 4 – Neste estágio, é possível observar os grânulos de vitelo bem evidentes, ocupando por inteiro o citoplasma. Não se observa nem núcleo e nem nucléolo. Os oócitos são bem maiores, se comparado com os outros estágios dos oócitos (FIGURA 10). Neste estágio, o oócito está pronto para ser liberado e fecundado.

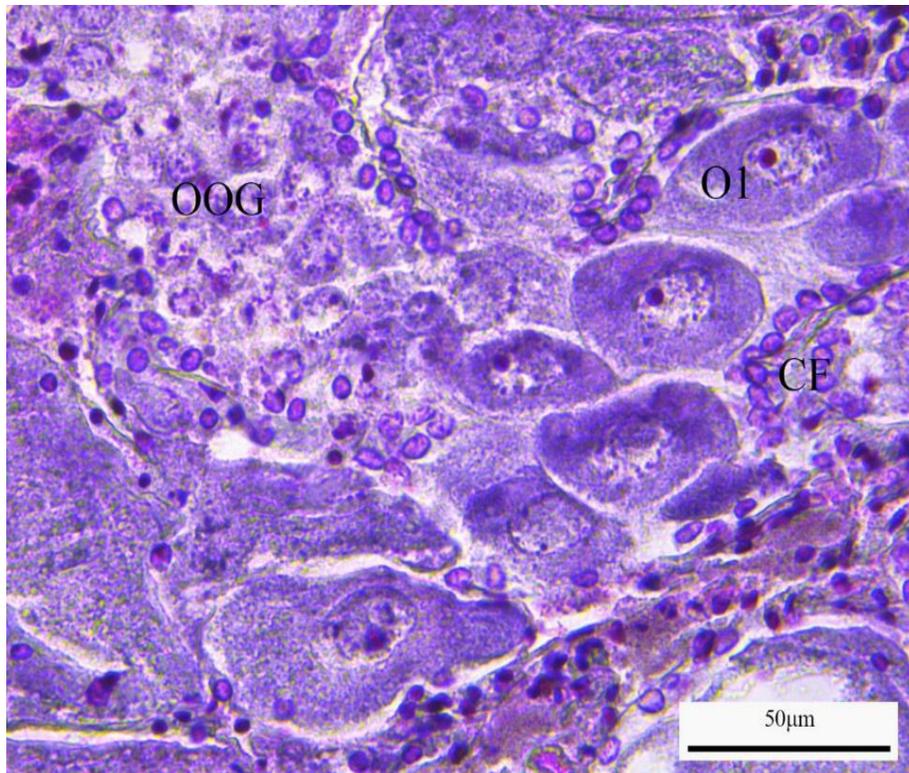


FIGURA 7: Secção histológica do ovário de *C. symmetricus*. Oog: oogônia; CF: células foliculares. As células foliculares estão nos espaços entre oócitos, envolvendo-os; O1: oócito no estágio 1. Observa-se no O1 núcleo e nucléolo, assim como o citoplasma é visível. Corado com Tricrômico de Gomori. Foto: Yago Barros.

A proporção de células sexuais em determinados estágios, assim como o posicionamento das células foliculares, além da proporção de estágios dos oócitos, permitiram a determinação de quatro estágios de maturação ovariana: imaturo, em maturação, maduro e em repouso (para as duas espécies).

#### Estágio 1 – Imaturo

Neste estágio, o ovário apresenta uma cor translúcida, e em alguns casos amarelo ou bege. Há a zona de proliferação da oogônia, seguida pelos oócitos envoltos em células foliculares, ainda ovais (FIGURA 7). Há uma maior presença de oócitos 1, que reagem com hematoxilina-eosina, apesar de ser negativo a coloração com azul de alcian/PAS.

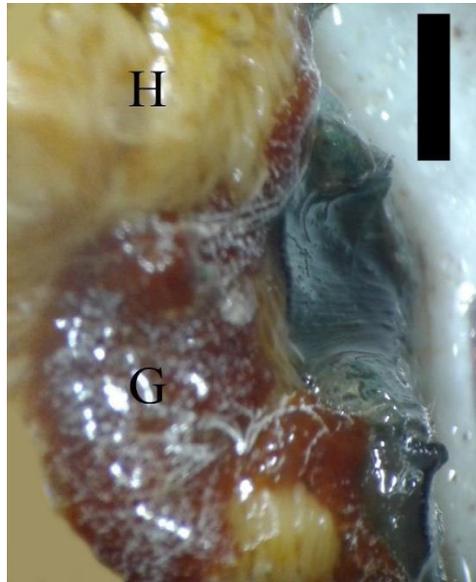


FIGURA 8: Abdômen dissecado de *C. symmetricus* com a diferença de coloração entre hepatopâncreas (H) e gônada (G). Escala: 1cm. Foto: Yago Barros

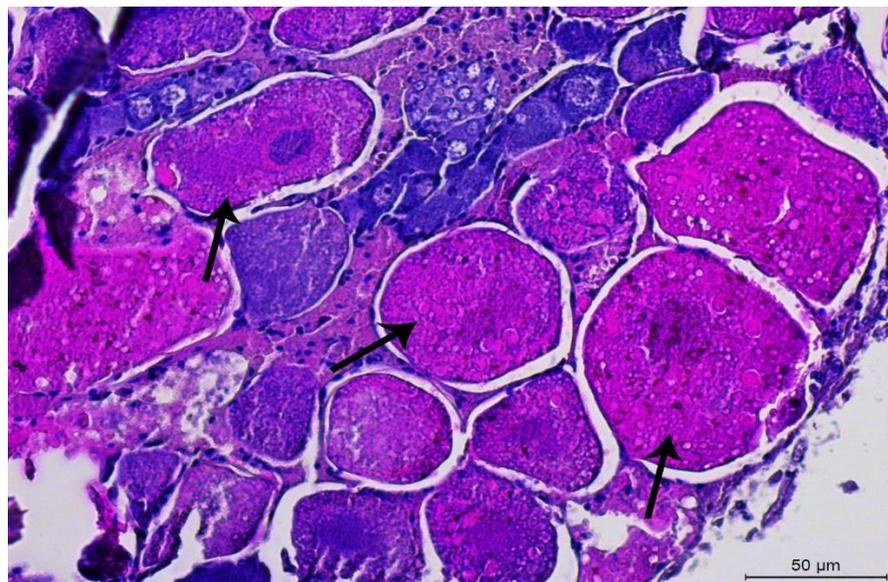


FIGURA 9: Secção histológica de gônada feminina de *C. sclopetarius*. As setas indicam os Oócitos no estágio 3, com o núcleo de difícil observação. Nesta figura, também é possível observar oócitos em diversos outros estágios, característica de uma espécie com desova múltipla. Corado com Hematoxilina-Eosina. Foto: Yago Barros.

### Estágio 2 – Em maturação

A cor do ovário começa a adquirir uma coloração vermelho claro (FIGURA 8). Neste estágio, há duas fases, a vitelogênese inicial e a vitelogênese. Na vitelogênese inicial, há uma maior presença de oócitos 1 e 2, que apresentam citoplasma basófilo, de acordo com a coloração hematoxilina-eosina e tricrômico de gomori. Há também uma reação ao azul de bromofenol, indicando a presença de proteínas. No início da vitelogênese começam a surgir as vesículas de vitelo, sendo bem distinguíveis no citoplasma, aumentando a sua concentração. Na vitelogênese é mais comum a presença de oócitos 2 e oócitos 3. As células foliculares se tornam mais pavimentosas, formando uma fina camada em torno de cada um dos oócitos.

### Estágio 3 – Maduro

Os ovários de todas as fêmeas nesse estágio, apresentam coloração vermelho-escuro. As zonas germinativas se apresentam separadas em algumas áreas do ovário, e reduzidas, devido à grande presença de oócitos 4. Oócitos 3 estão presentes em menor quantidade. Há uma forte reação ao azul de bromofenol nos oócitos 4 (FIGURA 10), evidenciando a grande quantidade de vitelo, rico em proteína. Houve uma forte reação com o azul de alcian/PAS, indicando a grande presença de polissacarídeos nesses oócitos.

### Estágio 4 – Em repouso

O mais comum nesse estágio, são fêmeas com ovário de coloração vermelho-claro. Neste estágio, o ovário está numa fase de reorganização, em virtude da eliminação dos oócitos maduros para fecundação. Os poucos oócitos presentes, que estão em diferentes estágios de maturação (FIGURA 9) estão sendo reabsorvidos. É possível observar a oogônia e alguns oócitos, assim como se vê novamente a zona de proliferação.

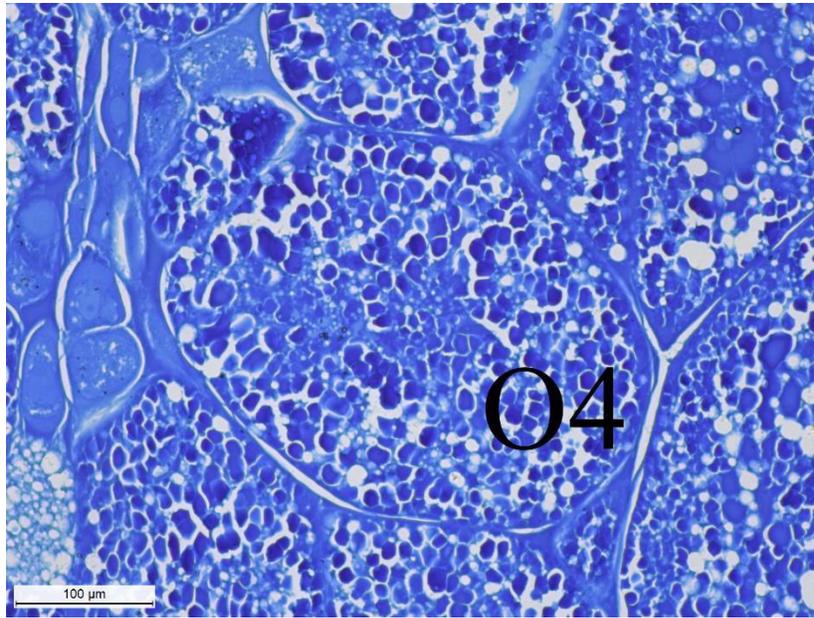


FIGURA 10: Secção histológica de ovário de *C. symmetricus*. O4: oócito no estágio 4 com grande quantidade de grãos de vitelo. O núcleo não é mais distinguível. Corado com azul de bromofenol. Foto: Yago Barros.

#### 4.3 - Fecundidade

Foram utilizadas um total de 34 fêmeas ovígeras de *C. sclopetarius*. A fecundidade não foi quantificada para *C. symmetricus* pois não se coletou um número satisfatório de fêmeas ovígeras de *C. symmetricus* para realizar a análise. Fêmeas ovígeras estiveram presentes em todos os meses em que foram realizadas coletas. A massa de ovos das fêmeas normalmente apresentava uma coloração vermelho escuro, (FIGURA 8) indicativo da grande quantidade de vitelo.

A presença de fêmeas ovígeras e maduras em todos os meses de coleta indica atividade reprodutiva ao longo de todo o ano. A variação de tamanho do escudo cefálico das fêmeas ovígeras foi de 3,9 mm à 9,8 mm. Em relação a fecundidade, houve uma grande variação do número de ovos por fêmeas, variando entre 1.120 a 12.440 ovos por fêmea, obtendo-se uma média de 5171 ovos por indivíduo.

Uma análise de regressão linear foi efetuada, relacionando o comprimento do escudo cefálico e a fecundidade por fêmea. A figura 11 mostra os resultados da análise de regressão do tamanho do escudo cefálico para a fecundidade de *C. sclopetarius*. Nesta espécie, há correlação positiva entre estas duas variáveis, com o coeficiente de correlação (r) igual a 0,546123.

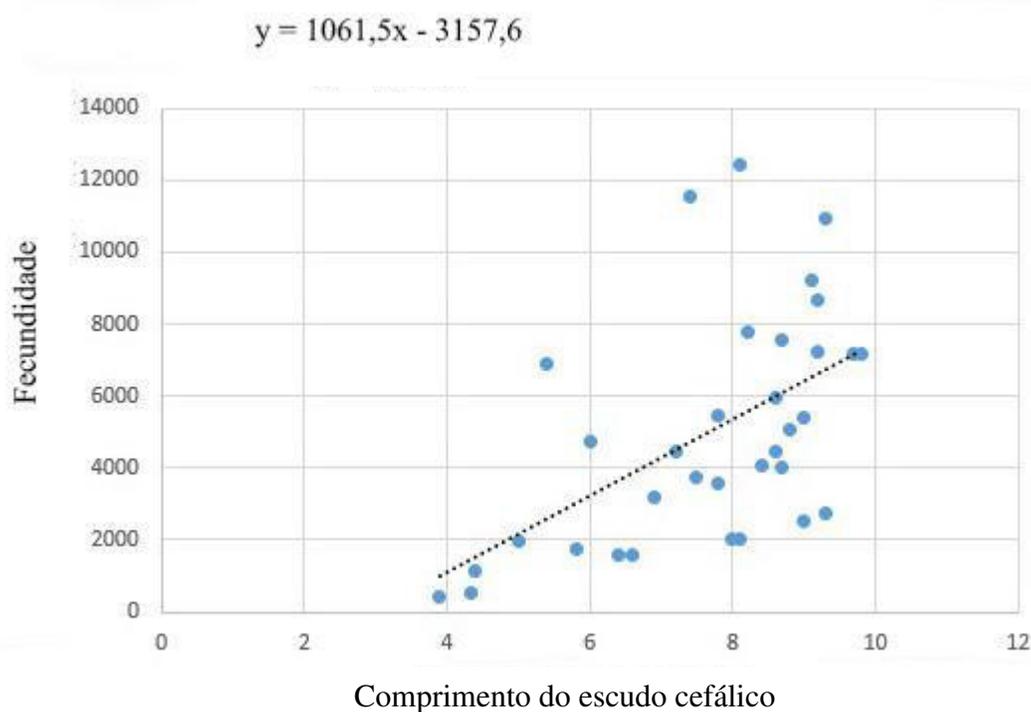


FIGURA 11 – Correlação entre as variáveis comprimento do escudo cefálico e fecundidade das fêmeas ovígeras de *Clibanarius sclopetarius*.

Tabela 1: Valores mínimos, máximo e media do comprimento do escudo cefálico de *Clibanarius symmetricus* e *Clibanarius sclopetarius*, em milímetros.

	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média</b>
<i>C. symmetricus</i>	2,35	13,30	7,12	8,23
<i>C. sclopetarius</i>	3,35	10,50	6,34	8,345

Tabela 2: Variação de tamanho dos oócitos em diferentes estágios *Clibanarius symmetricus*, em micrômetros.

	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média</b>
<i>Oogônia</i>	0,372	23,087	15,312	7,12
<i>Oócito I</i>	3,404	55,589	24,231	15,219
<i>Oócito II</i>	12,345	139,191	68,345	50,399
<i>Oócito III</i>	15,887	140,434	105,292	52,844
<i>Oócito IV</i>	31,775	354,404	228,293	96,902

Tabela 3: Variação de tamanho dos oócitos em diferentes estágios *Clibanarius sclopetarius*, em micrômetros.

	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média</b>
<i>Oogônia</i>	0,432	22,349	14,345	8,15
<i>Oócito I</i>	3,100	58,361	22,312	17,324
<i>Oócito II</i>	10,422	138,284	70,412	54,321
<i>Oócito III</i>	18,293	151,129	108,234	58,126
<i>Oócito IV</i>	30,395	360,128	234,443	98,987

Tabela 4: Reação dos corantes ao longo dos estágios de desenvolvimento das células sexuais de *C. symmetricus* e *C. sclopetarius*.

<b>CLIBANARIUS SYMMETRICUS E CLIBANARIUS SCLOPETARIUS</b>				
<b>CORANTES</b>	Hematoxilina-Eosina	Tricômico de Gomori	Alcian/PAS	Bromofenol
<b>OOGÔNIA</b>	Extremamente basófilo	Reage bem	Não há reação	Não há reação
<b>OÓCITO 1</b>	Basófilo	Reage bem	Não há reação	Não há reação
<b>OÓCITO 2</b>	Pouco basófilo	Reage bem	Baixa reação	Baixa reação
<b>OÓCITO 3</b>	Ácido	Reage bem	Forte reação	Reage bem
<b>OÓCITO 4</b>	Extremamente ácido	Reage bem	Forte reação	Forte reação

#### 4.DISCUSSÃO

Neste estudo, foi possível afirmar, histologicamente, que as duas espécies de caranguejo ermitão, não apresentam diferenças do sistema reprodutor feminino. Uma possível explicação para que não ocorra cópula entre as espécies é que as mesmas respondam apenas a um sinal ferormônico, que apenas indivíduos de cada espécie reconhecem, sendo possível assim a cópula. As fêmeas apresentam um gonóporo côncavo. É possível que esse formato tenha o objetivo de facilitar a cópula com o macho, favorecendo a deposição dos espermatóforos.

Através das análises histológicas, foi possível observar as estruturas que compõem o sistema reprodutor feminino. O oviducto apresenta um epitélio colunar. O epitélio apresentou uma reação positiva com azul de alcian/PAS. Isso pode ser um indicativo que o epitélio secreta substância quitinosa (Linder, 1959) e que estas substâncias são utilizadas para formar a camada ao redor dos ovos fertilizados. Esta suposição é apoiada por Ando & Makioka (1992), que propõem que esse tipo de epitélio na parede do oviducto está relacionado com a fertilização interna, em que o mesmo irá revestir os oócitos fecundados, quando liberados pela fêmea. Apesar de ser considerado que esta substância participa da fecundação, não foi possível determinar sua função, já que Vazques (2008) mostrou que a função desta secreção varia nos decápodes, como exemplo, *Cherax quadricarinatus* (decapoda) apresenta a mesma secreção, mas sua fecundação é externa. Apenas com análises histológicas e histoquímicas não foi possível determinar sua função em *Clibanarius*.

Apesar de o ovário possuir o formato de “Y”, ele é considerado assimétrico se comparado aos demais ovários dos outros decápodes. Esta assimetria do ovário (Kronenberger et al. 2004) ocorre devido a uma torção do corpo, já que os ermitões adaptam seus corpos para a estrutura interna das conchas dos gastrópodes. Outros estudos mostram que devido a torção, as zonas germinativa e proliferativa mudam de posição, de acordo com o crescimento do ovário (Varadarajan & Subramonian, 1980). Uma característica do ovário destes animais é que o mesmo não é rígido, o que facilita sua acomodação no abdômen, ao longo da mudança de conchas que os caranguejos-ermitões realizam ao longo da vida.

Para *C. symmetricus* e *C. sclopetarius*, foram definidos quatro estágios de maturação da gônada feminina (imaturo, em maturação, maduro e em repouso). Para

decápodes, em geral, não há uma determinação fixa para os estágios de maturação, já que diferentes autores determinam diferentes estágios, no táxon, se adaptando a suas análises e descobertas (Santos, Lima, Nascimento, Sales & Oshiro, 2009). Os estágios que mais são utilizados para determinação da maturação são os quatro estágios: Pré-vitelogênese, vitelogênese, maduro e em deposição (Peres de Souza & Feitosa Silva, 2009). Estes estágios, apesar de apresentarem nomes diferentes aos propostos neste atual trabalho, são os mesmos. A escolha para não usar esta nomenclatura se dá, devido ao fato de que alguns autores consideram o termo pré-vitelogênese errado, já que neste estágio, de fato, já está ocorrendo a vitelogênese (Adiyodi & Subramoniam, 1983).

Nos estágios imaturo e em maturação, é possível observar uma variação na cor dos ovários nas fêmeas. O estágio imaturo pode ser caracterizado pela cor translúcida da gônada e no estágio em maturação, é observado a coloração laranja, o mesmo que descrito por Manjón-Cabeza & Garcia Raso (2000), indicando que a maturação se iniciou. A cor laranja ocorre devido ao acúmulo de caroteno no ovário, mais especificamente nos oócitos (Charniaux-cotton, 1985). Com a reação de hematoxilina-eosina, foi possível determinar que os oócitos em estágios iniciais são mais basófilos, e nos estágios avançados, vão se tornando ácidos. O alto grau de basicidade nas células germinativas iniciais acontece pois há um aumento no número de ribossomos no citoplasma, mais especificamente no retículo endoplasmático rugoso (Chaves, 1993). Esse armazenamento ocorre mais em oócitos I. Oócitos I e II apresentaram uma baixa reação com o azul de alcian/PAS, assim como o azul de bromofenol. Isto acontece, pois, apesar de já estar ocorrendo formação de glicoproteínas no retículo endoplasmático rugoso (Meusy, 1980), não é possível ainda ser corado pelo bromofenol (Tan-Fermin & Pudadera, 1989). A resposta ao azul de alcian/PAS se dá pelo fato de que as substâncias que possuem polissacarídeos se acumulam primeiro nos grânulos de vitelo, presentes nos oócitos III e IV (Inagawa et al., 1993).

Nos estágios mais avançados de maturação, a gônada apresenta uma forte cor vermelha, indicando a grande quantidade de vitelo presente nos oócitos. Ao longo da maturação, é possível observar o desaparecimento do núcleo. Este fato indica que o núcleo sofreu uma migração para a região ventral do ovário até se tornar não visível (Cabiddu et al, 2008). As células germinativas também começam a mostrar uma forte reação com a eosina,

já que o mesmo se torna extremamente acidófilo, devido à natureza do vitelo que é produzido, simultaneamente a redução da quantidade de organelas citoplasmáticas do estágio “em maturação” (Chaves, 1993). Nestes estágios, é possível observar a presença de diversas vesículas no citoplasma. Estas vesículas, de acordo com a coloração hematoxilina-eosina, apresentam vitelo e lipídios, dentro das mesmas, e que seu número aumenta ao longo da maturação. Este resultado também foi observado por (Majón-Cabeza, Cobos, & García Raso, 2011). No estágio em repouso, foi observado todos os tipos de oócitos, no ovário. Isso indica que a fêmea passa por um processo determinado de oosorção, em que as células germinativas não fecundados são reabsorvidas, e a energia é reutilizada para produção de novos oócitos. Alguns autores apontam que a oosorção também é utilizada quando a fêmea passa por um período muito longo de fome (Hinsch, 1992).

Conan et al. (2001) determina que fêmeas de crustáceos podem ser consideradas maduras quando as mesmas são capazes de produzir gametas viáveis. Com esta informação, foi possível determinar que a menor fêmea encontrada que apresentava gametas viáveis, possuía um escudo cefálico de 2,35mm e 1,80mm para *C. symmetricus* e *C. sclopetarius*, respectivamente, indicando que indivíduos deste tamanho já estão aptos para cópula e reprodução. Nenhum indivíduo na fase juvenil foi encontrado, sendo uma possibilidade que a região de recrutamento destas espécies acontece em outro lugar, diferente da coleta.

As fêmeas ovígeras apresentaram uma reprodução contínua e múltipla. É considerado reprodução contínua quando há a presença de fêmeas com gônadas em estágios maduros, assim como a presença de fêmeas ovígeras ao longo de todos os meses do ano (Linhares, 2010). Já a reprodução múltipla é característica quando, em fêmeas maduras ou já com a massa de ovos posta, é possível observar que as mesmas já estão produzindo novas células germinativas para uma nova cópula. Sendo assim, podemos determinar que *C. sclopetarius* tem um alto potencial reprodutivo durante o período de estudo. Estes resultados foram diferentes dos apresentados por Turra (2001), que observou que *C. sclopetarius* apresenta uma reprodução sazonal. O resultado encontrado mostra que é possível que a características reprodutivas destes animais alteram de acordo com as condições ambientais que estes indivíduos se encontram (Turra & Leite 2007).

Foi constatado que as fêmeas de *C. sclopetarius* produzem, uma média de 5171 ovos por desova, com este valor alterando ao longo da variação de tamanho das fêmeas. Turra (2001) encontrou valores próximos para a mesma espécie, em relação a fecundidade. Esta mudança também é causada pela disponibilidade de recursos, assim como características do ambiente, como temperatura, pressão, salinidade que afetam diretamente na biologia reprodutiva destes indivíduos (Barros, 2007).

Há uma correlação ( $r$ ) de 0,5146123 positiva, porém baixa entre o tamanho do escudo cefálico e a fecundidade destes indivíduos. Este resultado está de acordo com muitos trabalhos realizados em crustáceos, já que o tamanho do corpo da fêmea em crustáceos é o principal determinante do potencial reprodutivo (Hines, 1982). Entretanto, apesar de as fêmeas apresentarem uma maior produção de ovos, esta mesma produção varia de acordo com a energia que a fêmea possui disponível, energia esta que é influenciada diretamente por fatores ambientais (Oliveira & Leme, 2004).

Alguns crustáceos apresentam estratégias para aumentar o número de massa de ovos, como a maturação sexual mais jovem (Yam & Dudgeon, 2005). Esta estratégia pode estar ocorrendo para *C. sclopetarius*, correspondente ao fato que indivíduos muito pequenos, com escudo cefálico de tamanho de 3,5mm já possuíam a massa de ovos. Isto pode ser causado por algum agente estar influenciando na biologia reprodutiva destes animais. Se comparada com outros crustáceos, a correlação de 0,523 pode ser considerada baixa. Barros (2007) também encontrou uma correlação baixa, pois valores de correlação menor ou igual a 0,5 são considerados ruins. Esta baixa correlação pode ser causada por algum estresse ambiental que estes animais estão passando. Como descrito por Sant'anna et al. (2012), a presença de tributilina na água causa alterações histológicas no sistema reprodutor dos ermitões, e como estes estuários possuem uma abundante presença humana, outros poluentes também podem estar afetando a biologia desses indivíduos, sendo necessário a realização de estudos para analisar o impacto que estas espécies estão sofrendo.

## 5. CONCLUSÕES

As duas espécies não apresentaram diferenças morfológicas, em relação a seus sistemas reprodutores femininos, sendo necessários outros estudos que determinem o que impede a cópula entre as espécies.

Através da histoquímica, foi possível determinar cinco estágios de maturação do oócito de *Clibanarius symmetricus* e *Clibanarius sclopetarius*, além de quatro estágios de maturação para as fêmeas de ermitão.

A correlação entre fecundidade e tamanho do escudo cefálico de *C. sclopetarius* é baixa, o que pode ser algum indicativo de que algum fator está afetando a reprodução destes animais. E para *C. sclopetarius* foi encontrado uma reprodução contínua.

## REFERÊNCIAS

- ADIYODI, R. G. & T. SUBRAMONIAM. Arthropoda — Crustacea, **Reproductive biology of invertebrates**, 1: 443-495, 1983.
- ANDERSON, D.T. Embryology - the Biology of Crustácea. **New York: Academic Press**, New York V. 1 p. 1-41, 1982.
- ANDO, H. & MAKIOKA, T. Notes on structure of the ovary and oogenesis in *Triops longicaudatus* (Notostraca, Branchiopoda, Crustacea). Proc. Arthropod. **Embryology Society Japan**, v. 27, p. 1-4, 1992
- ANDO, H & MAKIOKA, T. Structure of the ovary and mode of oogenesis in a freshwater crab *Potamon dehaani*. **Journal of Morphology**, v, 239, p. 107-114, 1999.
- AYUB, Z., & AHMED, M. A description of the ovarian development stages of penaeid shrimps from the coast of Pakistan. **Aquaculture Research**, v. 33, p. 767-776, 2002.
- BARROS, B. T. **Fecundidade e desenvolvimento embrionário inicial do caranguejo aratu *Goniopsis cruentata* (Decapoda: Brachyura: Grapsidae), no manguezal do Rio Jaguaribe** 2007. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- BECKER, C., BRANDIS, D., & STORCH, V. Morphology of the female reproductive system of European pea crabs (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Pinnotheridae). **Journal of Morphology**, v. 272, p. 12-26, 2011.
- BEHMER, O.A., TOLOSA, E.M.C., FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**, São Paulo: Edart, p. 115, 1976.
- BRUSCA, R. & BRUSCA, G.J. **Invertebrados**, 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2007.
- CABIDDU, S., FOLESSA, M.C., GASTONI, A., PORCU, C., & CAU, A. Gonad Development of the Deep-Sea Lobster *Polycheles typhlops* (Decapoda: Polichelidae) from the Central Western Mediterranean. **Journal of Crustacen Biology**, v. 28, p. 494-501, 2008.

CARVALHO, F.; CORTEZ, A.; BALDAIA, L. & CARDOSO, J.M. Extração e purificação de hormonas sexuais esteróides e ecdisteróides no camarão *Penaeus japonicus*. **Actas do XIV Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Química**, Aveiro p. 5-8, 1994.

CASTIGLIONI, D. da S., NEGREIROS-FRANSOZO, M. L., GRECO, L. S. L., SILVEIRA, S. O. Gonad development in females of fiddler crab *Uca rapax* (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) using macro and microscopic techniques. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 97, p. 505-510, 2007.

CASTILHO-WESTPHAL, G. G., OSTRENSKY, A., PIE, M. R., & BOEGER, W. A. Morphology of the female reproductive system and reproductive cycle of the mangrove land crab *Ucides cordatus* (L.) in the Baía de Antonina, Paraná, Brazil. **Acta Zoologica**, v. 94, p. 86-93, 2013.

CHARNIAUX-COTTON, H. Vitellogenesis and its control in malacostracan crustacea. **Integrative and Comparative Biology**, v. 25, p. 197-206, 1985.

CHAVES, T de C. & MAGALHÃES, C. O. Desenvolvimento ovocitário em *Macrobrachium acanthurus* (Heller, 1962) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae), camarão dulcícola da região amazônica. **Acta Amazon**, v. 23, p. 17-23, 1993.

CHEN, G. C., LU, C., LI, R., CHEN, B., HU, Q., & YE, Y. Effects of foraging leaf litter of *Aegiceras corniculatum* (Ericales, Myrsinaceae) by *Parasesarma plicatum* (Brachyura, Sesamidae) crabs on properties of mangrove sediment: a laboratory experiment. **Hydrobiologia**, v. 763, p. 937-947, 2016.

CONAN, G. Y., COMEAU, M., & MORIYASU, M. Are morphometrical approaches appropriate to establish size at maturity for male American Lobster, *Homarus americanus*? **Journal of Crustacean Biology**, v. 21, p. 937-947, 2001.

DALABONA, G. e Silva, J. L. Período reprodutivo de *Ucides cordatus* (Linnaeus) (Brachyura, Ocypodidae) na Baía das Laranjeiras, sul do Brasil. **Acta Biológica Paranaense**, vol. 34, p. 115-126, 2005.

HARTNOLL, R. G. Morphology of the genital ducts in female crabs. **Journal of the Linnean Society of London, Zoology**, v. 47, p. 279-300, 1968.

HINES, A. H. Allometric constraints and variables of reproductive effort in brachyuran crabs. **Marine Biology**, v. 69, p. 309-320, 1982.

HINSCH, W. G. Ovary of the golden crab, *Chaceon fenneri*: I. Post-spawning and oosorption. **Journal of Morphology**, v. 211, p. 1-6, 1992.

INAGAWA, M. M, CHIU, J. KUDO, M., ITO, E., & TAKASHIMA, E. Female reproductive biology and oocyte development of the red frog crab, *Ranina ranina*, off Hachijojima, Izu Islands, Japan. **Marine Biology**, v. 115, p. 613-623, 1993.

JUNQUEIRA, L. C. V. & JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**, São Paulo: Ed. Santos, p. 50-75, 1983.

KRONENBERGER, K., BRANDIS, D., TÜRKAY, M. & STORCH, V. Functional morphology of the reproductive system of *Galanthea intermedia* (Decapoda: Anomura) **Journal of Morphology**, v. 262, p. 500-516, 2004.

LINDER, J. K. Studies on the fresh water fairy shrimp *Chirocephalopsis bundyi* (FORBES). **Journal of Morphology**, v. 262, p. 500-516, 1959.

LITULO, C. Fecundity and breed biology of the hermit crab *Diogenes brevirostris* (Stimpson, 1858) (Anomura: Diogenidae) from southern Mozambique. **Invertebrate Reproduction and Development**, v. 46, p. 41-46, 2004.

MANJÓN-CABEZA, M. E., & GARCÍA RASO, J. E. Reproductive aspects of females of the hermit crab *Diogenes pugilator* (Crustacea: Decapoda: Anomura) from southern Spain. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**, v. 80, p. 85-93 2000.

MANJÓN-CABEZA, M. E., COBOS, V. & GARCÍA RASO, J. E. The reproductive system of *Hippolyte niezabitowskii* (Decapoda, Caridea). **Zoology**, v. 114, p. 140-149, 2000.

MELO, G. A. S. **Manual de Identificação dos Crustacea Decapoda do litoral brasileiro: Anomura, Thalassinidea, Palinuridea, Astacidea**, São Paulo, Editora Plêiade, p. 551, 1999.

MEUSY, J. PAYEN, J. Female reproduction in malacostracan crustacean. **Zoological science**, v. 5, p. 217-265, 1988.

NEGRI, M., LEMAITRE, R., & MANTELATTO, F. L. Molecular and morphological resurrection of *Clibanarius symmetricus* (Randall, 1840), a cryptic species hiding under the name of the “thin stripe” hermit crab *C. vittatus* (Bosc, 1802) (Decapoda: Anomura: Diogenidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 34, p. 848-861, 2014.

OLIVEIRA, C. C. F., LEME, M. H. A. Desenvolvimento embrionário e fecundidade do caranguejo *Armases rubripes* (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) de uma região estuarine de Ubatuba-SP. **Biociências**, v. 10, p. 129-137, 2004.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry. Theoretical and Applied**. Churchill, London. Ed. J&A. 1968.

RUPERT, E. E., BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6 ed. São Paulo: Ed. Roca. p. 1028, 1996.

PERES DE SOUZA, L. & FEITOSA SILVA, J. R. Morphology of the female reproductive system of the red-clawed mangrove tree crab (*Goniopsis cruentata* Latreille, 1803). **Scientia Marina**, v. 73, p. 527-539, 2009.

PERES, DE SOUZA, L.; OGAWA, C. Y.; SILVA, J. R. F. ; CAMARGO-MATHIAS, M. I. . Comparative morphology of the female genital ducts of seven eubrachyuran crabs (Saint Laurent, 1980). **Acta Zoologica (Stockholm)**, v. n/a, p. n/a-n/a, 2016. RUPERT, E. E., BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6 ed. São Paulo: Ed. Roca. p. 1028, 1996.

SAINT-MAIRE, G., SAINT-MARIE, B. Morphology of the spermathecal, oviduct, intermediate chamber, vagina of the adult snow crab (*Chionoecetes opilio*) **Journal of Zoology**, v. 76, p. 1589-1604, 1998.

SANTANA, G. X., LEITE, M. M. L.; SILVA, J. R. F. Componentes somáticos e germinativos ovarianos do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* Linnaeus, 1763 (Decapoda: Ocypodidae). **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 43, p. 52-57, 2010

SANT'ANNA, B. S., SANTOS, D. M., MARCHI, M. R. R., ZARA, F. J., & TURRA, A. Effects of tributyltin exposure in hermit crabs: *Clibanarius vittatus* as a model. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, p. 632-638, 2012.

SANTOS, N. M., MANTELATTO, F. L. Reproductive system of the male hermit crab *Clibanarius scolopetarius*: gonopore, spermatophore, and spermatozoal morphologies. **Aquatic Biology**. v. 12, p. 271-280, 2011.

SHARIFIAN, S., KAMRANI, E., & SAFAIE, M. Tissue and cell oogenesis and ovarian development in the freshwater crab *Sodhiana iranica* (Decapoda: Gecarcinuidae) from the south of Iran. *Tissue and Cell*, v. 47, p. 213-220, 2015

SHINOZAKI MENDES, R. A.; SILVA, J. R. F.; SANTANDER, N. J.; HAZIN, F. H. V.; Reproductive biology of the land crab *Cardisoma guanhumi* (Decapoda: Gecarcinidae) in north-eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the UK (Online)**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

SOKOLOWICZ, C. C., LÓPEZ-GRECO, L. S., GONÇALVES, R., & BOND-BUCKUP, G. The gonads of *Aegla platensis* Schmitt (Decapoda, Anomura, Aeglidae): a macroscopic and histological perspective. **Acta Zoologica**, v. 88, p. 229-242, 2007.

TAN-FERMIN, J. D., & PUDADERA, R. A. Ovarian maturation stages of the wild giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius. **Aquaculture**, v. 77, p. 229-242, 1989.

TURRA, A., & LEITE, F. Fecundity of three sympatric populations of hermit crabs (Decapoda, Anomura, Diogenidae). **Crustaceana**. v. 74, p. 1019-1027, 2001.

TURRA, A., & LEITE, F. Embryonic development and duration of incubation period of tropical intertidal hermit crabs (Decapoda, Anomura). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 24, p. 677-686, 2007.

VARADARAJÁN, S. & SUBRAMONIAN, T. Histological changes during vitellogenesis in the ovary of the hermit crab *Clibanarius clibanarius*. **Proceeding of the Indian National Science Academy**. v. 46, p. 645-651, 1980.

VAZQUEZ, F. J., TROPEA, C., & LOPÉZ GRECO, L. S. Development of the female reproductive system in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae). **Invertebrate Biology**. v. 127, p. 433-443, 2008.

YAM, R. S. W., DUDGEON, D. Inter- and intraspecific differences in the life history and growth of *Caridina* spp. (Decapoda: Atyidae) in Hong Kong streams. *Freshwater Biology*. v. 50, p. 2114-2128, 2005.