

RENATA AKEMI SHINOZAKI MENDES

BIOLOGIA REPRODUTIVA DO GUAIAMUM, *Cardisoma guanhumi*
LATREILLE, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE)
NA REGIÃO DE ARACATI/ CE.

Recife, PE
Outubro, 2008.

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Pesca e Aqüicultura
Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura

BIOLOGIA REPRODUTIVA DO GUAIAMUM, *Cardisoma guanhumi* LATREILLE, 1828
(DECAPODA: GECARCINIDAE) NA REGIÃO DE ARACATI/CE.

RENATA AKEMI SHINOZAKI MENDES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, para obtenção título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros.

Orientador: Fábio Hissa Vieira Hazin
(Universidade Federal Rural de Pernambuco)
Co-orientador: José Roberto Feitosa
(Universidade Federal do Ceará)

Recife, PE
Outubro, 2008

FICHA CATALOGRÁFICA

M538b Mendes, Renata Akemi Shinozaki
Biologia reprodutiva do guaimum, *Cardisoma Guanhumí*
Latreille, 1828 (Decapoda : Gecarcinidae) na Região de Aracati,
CE / Renata Akemi Shinozaki Mendes. -- 2008.
90 f. : il.

Orientador : Fábio Hissa Vieira Hazin
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicul –
tura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento
de Pesca e Aqüicultura.
Inclui anexo e bibliografia.

CDD 574.16

1. Brachyura
2. Reprodução
3. Manguezal
4. *Cardisoma Guanhumí*
 - I. Hazin, Fábio Hissa Vieira
 - II. Título

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Pesca e Aqüicultura
Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura

BIOLOGIA REPRODUTIVA DO GUAIAMUM, *Cardisoma guanhumi* LATREILLE, 1828
(DECAPODA: GECARCINIDAE) NA REGIÃO DE ARACATI/CE.

RENATA AKEMI SHINOZAKI MENDES

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de **Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura** e aprovada com distinção em 13 de outubro de 2008 pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura, em sua forma final.

Prof. Dr. Paulo Travassos
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Hissa Vieira Hazin - Orientador
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. José Roberto Feitosa Silva - Co-orientador. Membro externo
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Silvio Peixoto - Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Paulo Eurico Pires Travassos – Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Paulo Guilherme Oliveira - Membro interno (Suplente)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedico este trabalho aos quais nunca estiveram ausentes, até na maior distância geográfica. Donos de um amor imensurável.

Emiko Shinozaki Mendes;
Paulo de Paula Mendes;
Paula Tiyemi Shinozaki Mendes;
Renato Hideki Shinozaki Mendes;
Jones Santander Neto.

AGRADECIMENTOS

- À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura, em especial ao prof. Paulo Travassos (coordenador) e Selma Santiago (secretária) pela enorme atenção e carinho;
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado;
- Ao orientador Fábio Hazin, pela amizade e confiança, pelas inúmeras correções de trabalhos, mas, principalmente, pelos valiosos ensinamentos que serão eternos;
- Ao Co-Orientador e querido amigo, José Roberto Feitosa, primeiramente por aceitar essa Pernambucana no Ceará, de braços aberto (risos), e pelas incontáveis horas de análises microscópicas, discussões de literatura e tantos ensinamentos, inclusive de moral e boa conduta, sem os quais este trabalho não existiria;
- Aos que fazem o Laboratório de Embriologia e Histologia Animal, pela cumplicidade e pelos agradáveis momentos de coleta no Cumbe-Aracati, que certamente tornaram este trabalho melhor, em especial a Leonardo Peres, Tatyane Bandeira e André Damásio;
- Ao Nelson, catador de guaiamum, por tanta boa vontade, hospitalidade e, principalmente, por nos ensinar que a sabedoria não está, necessariamente, nos livros;
- Ao querido Jones Santander, por pacientemente nos ajudar na triagem do material, pelas sugestões nos artigos e por nos dar força e incentivo nas horas mais difíceis;
- Ao prof. Paulo de Paula, pela doação do programa estatístico SYSEAPRO e ajuda nas análises estatísticas; pelos conselhos mais importantes e por estar sempre disposto a ajudar;
- À prof^a. Cristina Gesteira, pela atenção e por permitir que realizássemos as fotomicrografias no CEDECAM;
- Ao Leonardo Peres pelo auxílio na identificação de alguns componentes histológicos;
- Ao prof. Paulo Pezzuto, da Universidade do Vale do Itajaí, pela atenção e por gentilmente nos ceder o programa estatístico REGRANS;
- Ao prof. Silvio Peixoto, pela literatura sugerida e pela indicação do programa IMAGETOOLS para medição e contagem das células;
- E a todos aqueles que injustamente não foram citados.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABELAS	VII
RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	03
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	04
4. ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	10
4.1. Oogênese e maturação ovariana do caranguejo terrestre <i>Cardisoma</i> <i>guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE).....	10
4.2. Maturação gonadal de machos do caranguejo terrestre <i>Cardisoma</i> <i>guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE).....	31
4.3. Ciclo reprodutivo do caranguejo terrestre <i>Cardisoma guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE) no Ceará, Brasil.....	51
5. COMENTÁRIOS CONCLUSIVOS.....	
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	
ANEXOS	

LISTAS

LISTAS DE FIGURAS

	Pág.
Artigo científico 1: Oogênese e maturação ovariana do caranguejo terrestre <i>Cardisoma guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE)	
Figura 1: Localização geográfica da área de coleta do <i>C. guanhumi</i>	12
Figura 2: Desenho esquemático da localização do trato reprodutivo feminino no cefalotórax do <i>C. guanhumi</i>	15
Figura 3: Fotomicrografias dos componentes germinativos e somáticos do trato reprodutivo de fêmeas do <i>C. guanhumi</i>	20
Figura 4: Fotomicrografias de secções da espermateca e região de ligação entre a gônada e a espermateca.	21
Figura 5: Fotomicrografias dos estágios gonadais de fêmeas do <i>C. guanhumi</i> ...	22
Artigo científico 2: Maturação gonadal de machos do caranguejo terrestre <i>Cardisoma guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE)	
Figura 1: Localização geográfica da área de coleta do <i>C. guanhumi</i>	33
Figura 2: Desenho esquemático da localização do trato reprodutivo masculino no cefalotórax do <i>C. guanhumi</i>	36
Figura 3: Fotomicrografias do trato reprodutor masculino de <i>C. guanhumi</i>	40
Figura 4: Fotomicrografias do trato reprodutor masculino de <i>C. guanhumi</i>	41
Artigo científico 3: ciclo reprodutivo do caranguejo terrestre <i>Cardisoma guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE) no Ceará, Brasil.	
Figura 1: Localização geográfica da área de coleta do <i>C. guanhumi</i>	54
Figura 2: Distribuição de frequência absoluta e relativa de largura do cefalotórax (LC) indicando a frequência absoluta e relativa de cada classe, para machos e fêmeas de <i>C. guanhumi</i> capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	58
Figura 3: Relação (L ₅ -L ₄) x LC para sexos separados de <i>C. guanhumi</i> capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	59
Figura 4: Ciclo reprodutivo de fêmeas de <i>C. guanhumi</i> capturadas no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	60
Figura 5: Frequência de fêmeas de <i>C. guanhumi</i> aptas à reprodução (fisiologicamente) por classes de largura do cefalotórax, capturadas no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	61
Figura 6: Frequência de machos de <i>C. guanhumi</i> aptos à reprodução (fisiologicamente) por classes de largura do cefalotórax, capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	61
Figura 7: Frequência de fêmeas de <i>C. guanhumi</i> aptas à reprodução (morfometricamente) por classes de largura do cefalotórax, capturadas no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	62
Figura 8: Frequência de machos de <i>C. guanhumi</i> aptos à reprodução (morfometricamente) por classes de largura do cefalotórax, capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	62
Figura 9: Relação entre Largura do cefalotórax (cm) e largura do quarto segmento abdominal, de fêmeas de <i>C. guanhumi</i> , capturadas no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	63
Figura 10: Relação entre Largura do cefalotórax (cm) e comprimento da quela, de machos de <i>C. guanhumi</i> , capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	63

LISTAS DE TABELAS

	Pág.
Artigo científico 1: Oogênese e maturação ovariana do caranguejo terrestre	
<i>Cardisoma guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE)	
Tabela 1: Diâmetro (média ± erro*) dos oócitos e dos núcleos, em µm, e a relação entre estas duas médias, em porcentagem, para os estágios de desenvolvimento celular encontrados para o <i>C. guanhumi</i> , capturado em Aracati/CE.....	23
Tabela 2: Composição celular dos estágios maturativos de fêmeas de <i>C. guanhumi</i>	23
Tabela 3: Variação da cor das gônadas, em porcentagem, de fêmeas de <i>C. guanhumi</i> capturadas no Ceará, Brasil.....	24
Tabela 4: Lista das cores da gônada em diferentes estágios de desenvolvimento gonadal para o <i>C. guanhumi</i> , por diferentes autores.....	27
Artigo científico 2: Maturação gonadal de machos do caranguejo terrestre	
<i>Cardisoma guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE)	
Tabela 1: Diâmetro (média ± variância) das células germinativas masculinas e dos núcleos, em µm, e a relação entre estas duas médias, em porcentagem, para os estágios de desenvolvimento celular encontrados para o <i>C. guanhumi</i> , capturado em Aracati/CE.....	42
Tabela 2: Diâmetro médio das células e núcleos de espermatogônias (EPG), espermatócitos (EPC), espermatídes (EPT) e espermatozóides (EPZ), citados por diversos autores.....	47
Artigo científico 3: Ciclo reprodutivo do caranguejo terrestre <i>Cardisoma guanhumi</i> Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE) no Ceará, Brasil.	
Tabela 1: Número de indivíduos coletados mensalmente no Período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.....	57
Tabela 2: Pluviometria na região de Aracati, no período entre Dez./06 e Nov./07. Fonte: FUNCEME.....	60
Tabela 3: Tamanho de primeira maturação para machos e fêmeas de <i>C. guanhumi</i> , baseados em três análises distintas: ponto de inflexão da curva, caractere relevante e análise histológica.....	64
Tabela 4: Tamanho máximo de maturação para machos e fêmeas de <i>C. guanhumi</i> baseados em duas análises distintas: morfometria e fisiologia.....	64
Tabela 5: Período reprodutivo e tamanho de primeira maturação de <i>C. guanhumi</i> encontrado por diversos autores e nas legislações vigentes em diversos países.....	66

RESUMO

Foram analisados 353 indivíduos no período entre dez./06 e nov./07 no manguezal do estuário do Rio Jaguaribe, Ceará, Brasil. A proporção sexual média foi de 1:1 ao longo dos meses. O trato reprodutivo de *C. guanhumi* foi descrito macro e microscopicamente. Os ovários são compostos por oogônias (diâmetro de $14,17 \pm 2,02 \mu\text{m}$), oócitos pré-vitelogênicos ($51,02 \pm 7,39 \mu\text{m}$), oócitos vitelogênicos ($110,93 \pm 9,33 \mu\text{m}$), oócitos maduros ($237,52 \pm 22,70 \mu\text{m}$) e oócitos atrésicos. As células germinativas masculinas encontradas nos testículos foram espermatogônias ($10,5 \pm 1,32 \mu\text{m}$), espermatócitos ($9,6 \pm 0,52 \mu\text{m}$), espermatídes ($5,6 \pm 0,41 \mu\text{m}$, fase inicial, e $4,3 \pm 0,21$, fase final) e espermatozóides ($3,9 \pm 0,09 \mu\text{m}$). Foram identificados os seguintes estágios de desenvolvimento gonadal para as fêmeas: imaturo (cor translúcida, zona germinativa contendo oogônias e zona de maturação periférica com oócitos pré-vitelogênicos); em maturação (cor variando de amarela a marrom escura; zona de maturação com oócitos pré-vitelogênicos vitelogênicos); maturo (cor marrom escura; predominância de oócitos maturos na zona de maturação); em recuperação (cor marrom escura ou amarela contendo resíduos de oócitos não eliminados, estágio observado nas fêmeas ovígeras) e em repouso (cor translúcida à amarela, parede da gônada espessa e resíduos de oócitos atrésicos). Os machos, por sua vez, foram classificados em: imaturos (ausência de espermatóforos no vaso deferente posterior) ou maturos (com espermatóforos presentes no vaso deferente posterior e ocasionalmente no ducto ejaculatório). O período reprodutivo das fêmeas se iniciou no mês de agosto, com maior frequência em novembro e dezembro, se encerrando no mês de fevereiro. Foram encontradas fêmeas ovígeras de novembro a fevereiro. Entre os machos, 37,5% eram imaturos e 62,5% eram maturos, não havendo uma sazonalidade nesta proporção. O tamanho de primeira maturação sexual, em termos da largura do cefalotórax, para as fêmeas foi estimado em: $L_{50\text{-morfológico}} = 6,12 \text{ cm}$; $L_{50\text{-fisiológico}} = 5,87 \text{ cm}$, e para os machos em: $6,91 \text{ cm}$ e $6,22$ respectivamente. O tamanho da muda puberal foi igual a $6,20 \text{ cm}$ e $7,10 \text{ cm}$ para fêmeas e machos, respectivamente.

Palavras-chaves: Brachyura, reprodução, células germinativas, manguezal.

ABSTRACT

From Dec./06 to Nov./07, 353 specimens of blue crab, *C. guanhumi*, caught in the Jaguaribe River Estuary, were examined. The mean sex ratio was equal to 1:1 throughout the studied months. The reproductive tract was described both macroscopically and microscopically. The germinative cells in the ovary are oogonia (diameter $14.17 \pm 2.02 \mu\text{m}$), pre-vitellogenic oocytes ($51.02 \pm 7.39 \mu\text{m}$), vitellogenic oocytes ($110.93 \pm 9.33 \mu\text{m}$), mature oocytes ($237.52 \pm 22.70 \mu\text{m}$), and atretic oocytes. In the testis, the cells were classified, in order of maturation, in: spermatogonia (diameter: $10.5 \pm 1.32 \mu\text{m}$), spermatocytes (diameter: $9.6 \pm 0.52 \mu\text{m}$), spermatides (initial phase diameter: $5.6 \pm 0.41 \mu\text{m}$; final phase diameter: 4.3 ± 0.21) and spermatozoids (diameter: $3.9 \pm 0.09 \mu\text{m}$). The following stages of ovarian development were identified: immature (translucent, germinative zone containing oogonia and peripheral maturation zone with pre-vitellogenic oocytes); maturing (color ranging from yellow to dark brown; maturation zone with vitellogenic oocytes); mature (dark brown color; predominance of mature oocytes in maturation zone); spawning (dark brown or yellow color, containing non-eliminated residual oocytes; stage observed in ovigerous females); resting (translucent to yellow color, thick gonad wall and residual atretic oocytes). The following stages of testis development are suggested: immature (absence of spermatophores in the posterior vas deferens); and mature (spermatophores in the posterior vas deferens and occasionally in the ejaculatory duct). Female reproductive period starts at August and ends in February, with a peak of activity in November/ December. Ovigerous females were found from November to February. Of all males examined, 37.5% were immature and 62.5% were mature, with no seasonality in such proportion. Size at first sexual maturity, in cephalotorax width, was equal to $L_{50\text{morphometric}} = 6.12 \text{ cm}$; $L_{50\text{physiological}} = 5.87 \text{ cm}$, for females, and to 6.91 cm and 6.22, respectively, for males. The size at puberal moult was equal to 6.20 cm and 7.10 cm, for females and males, respectively.

Key-word: Brachyura, reproduction, germinative cell, mangroove..

1. INTRODUÇÃO

Os manguezais são ecossistemas formados por comunidades vegetais e animais peculiares de ambientes alagados, resistentes à alta salinidade da água e do solo (Rebelo e Medeiros, 1988). Habitado por diversos animais, desde formas microscópicas até grandes peixes, aves, répteis e mamíferos (Schaeffer-Novelli, 1995), os manguezais constituem importantes áreas de alimentação e reprodução para muitas espécies de vertebrados e invertebrados, em função de possuírem águas biologicamente mais produtivas que as do rio e do mar adjacente (Miranda et al., 2002), além de oferecerem abrigo aos diversos organismos que nele habitam.

Segundo Soffiati (2004), o manguezal é um ecossistema de alta produtividade biológica que cumpre quatro funções ecológicas básicas: 1- Suas árvores ajudam a conter a erosão hídrica e eólica costeira; 2- É um ambiente extremamente favorável à reprodução de incontáveis espécies de água doce e salgada, além daquelas que vivem exclusivamente no seu interior; 3- Sua constituição torna-o excelente local protetor de animais na fase jovem; 4- É produtor e exportador de alimentos para o mar, sobretudo pelos movimentos das marés.

Os crustáceos constituem um dos grupos mais importantes da fauna dos manguezais (Coelho et al., 2004), entre os quais se destacam os caranguejos e siris que, por possuírem alto valor ecológico, fazem parte da cadeia trófica deste importante ecossistema, além de possuírem valor econômico para as comunidades que dependem do estuário para a sua subsistência. Entre as espécies exploradas comercialmente, destacam-se o *Ucides cordatus* (caranguejo-uçá), o *Callinectes danae* (siri-azul) e o *Cardisoma guanhumi* (guaiamum) (Shaeffer-Novelli, 1995).

O guaiamum é considerado um caranguejo terrestre por apresentar significantes adaptações comportamentais, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas as quais permitem que o mesmo permaneça fora da água por longos períodos. Possui hábitos noturnos e constrói galerias perto do mar, sempre onde a água pode ser alcançada (Melo, 1996).

A espécie apresenta distribuição circumequatorial, ocorrendo no Atlântico Oeste em todos os estuários do Caribe, América Central e América do Sul, incluindo a Colômbia, Venezuela, Bahamas e Porto Rico, além dos Estados Unidos, onde se encontra limitado ao Golfo do México e à Flórida (Burggren e McMahon, 1988; Hill, 2001). A amplitude de sua distribuição é, em grande medida, determinada pela temperatura, sendo a sobrevivência das larvas comprometida em áreas onde a temperatura é inferior a 20°C (Hill, *op. cit.*).

O guaiamum possui importância comercial no Caribe e nas Bahamas (Lloyd, 2001), mas não nos Estados Unidos, onde não costuma ser apreciado como alimento, invadindo, muitas vezes, os gramados de jardins para cavar suas tocas (Hill, 2001). No Brasil, é bastante consumido na região costeira do Nordeste. Nos locais onde não há o consumo local, os catadores de guaiamuns são, muitas vezes, estimulados a coletar os crustáceos para enviá-los a outras cidades onde o consumo é intenso, como, por exemplo, em Recife- PE.

Como resultado da crescente pressão de consumo, as populações de espécies animais habitantes de manguezais com valor econômico, como, por exemplo, o *Ucides cordatus* e o *C. guanhumi*, estão decrescendo de forma acelerada. Além da captura excessiva, as populações têm sido também impactadas pela supressão direta e indireta do seu ecossistema (Soffiati, 2004).

O conhecimento dos aspectos da reprodução de uma espécie pode ser uma importante ferramenta para o controle das capturas no intuito de assegurar a manutenção do equilíbrio da população. A determinação do tamanho em que ocorre a maturidade gonadal, por exemplo, é de grande relevância para o manejo de espécies de valor comercial ou alimentar.

Dados relativos à maturidade gonadal, são, portanto, essenciais para a definição do tamanho mínimo de captura, enquanto que informações relativas à época de desova são cruciais para o estabelecimento de períodos de defeso, de forma a garantir que a população possa atingir a maturidade e seus indivíduos possam se reproduzir pelo menos uma vez.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Estudar as características reprodutivas da população de *C. guanhumi* no estuário do Rio Jaguaribe, Ceará, nordeste do Brasil.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever macro e microscopicamente o sistema reprodutor;
- Caracterizar os estágios de maturação gonadal;
- Determinar os graus de desenvolvimento das células germinativas;
- Analisar a variação sazonal dos estágios de maturação gonadal;
- Determinar o tamanho de primeira maturação fisiológica e morfológica para ambos os sexos;
- Identificar aspectos de dimorfismo sexual; e
- Determinar o ciclo reprodutivo.

3. REVISÃO DA LITERATURA

Entre os artrópodes, o subfilo Crustacea possui representantes primariamente aquáticos, sendo a classe malacostraca possuidora de mais da metade de todas as espécies de crustáceos conhecidas, incluindo as formas maiores, como caranguejos, lagostas e camarões, os quais pertencem à ordem Decapoda (Ruppert e Barnes, 2005). Ao contrário de outros Decapoda que mantiveram uma condição primitiva devido à manutenção da forma alongada do corpo, os Brachyura sofreram uma significativa modificação em sua morfologia com a redução do abdômen e seu dobramento ventral em direção à parte anterior do corpo (Ruppert e Barnes, op cit.).

A morfologia e localização dos ovários dos Brachyura *Portunus sanguinolentus*, *Ucides cordatus*, *Callinectes sapidus* e *Goniopsis cruentata* seguem um padrão semelhante, no qual os ovários são órgãos dorsais, com dois lobos alongados e ligados entre si por uma comissura transversal, abaixo do coração, apresentando duas espermatecas na porção próxima aos gonóporos (Ryan, 1967; Mota Alves, 1975; Johnson, 1980; Souza, 2006).

Lee e Yamazaki (1990) descrevem detalhadamente a espermateca, como sendo uma bolsa capaz de armazenar espermatóforos, apresentando uma camada de epitélio colunar na parede deste órgão, que secreta substâncias no interior da mesma. Uma secreção de caráter basófilo preenche o interior do órgão e parece servir de suporte aos espermatozóides (Johnson, 1980). Ryan (1967) descreveu, para *P. sanguinolentus*, que a espermateca é uma porção alargada do oviduto, externamente circundada por uma fina camada de quitina. A presença de uma cutícula quitinosa também é relatada por Johnson (1980) e Diesel (1989), para *C. sapidus* e *Inachus phalangium*, respectivamente.

Minagawa e Sano (1997), ao analisarem a oogênese e o desenvolvimento ovariano da lagosta *Panulirus japonicus*, classificaram quatro estágios de desenvolvimento celular. Ayub e Ahmed (2002), ao estudarem camarões do gênero *Pennaes* spp., classificaram 5 estágios

de desenvolvimento ovocitário, havendo um estágio mais avançado, denominado de “oócitos com corpos corticais”, encontrado também por Peixoto (2003) e Ayub e Ahmed (2002).

Os ovários passam por uma série de mudanças na coloração ao longo do processo de maturação de suas células. Charniaux-Cotton e Payen (1988) citam que as cores se devem à presença de carotenóides que, associados à vitelina, são o componente mais abundante no vitelo das células germinativas.

Os ovários de *C. guanhumi* ao longo do processo maturativo apresentam cores que variam de translúcido, amarelo ou marfim amanteigado, mostarda, e marrom, chegando ao marrom escuro, quase negro, segundo Botelho et al. (2001) e Silva e Oshiro (2002). Para outros Brachyura, Weitzman (1966) e Ryan (1967) relataram as cores na seguinte ordem: translúcido, amarelo-laranja, marrom e marrom escuro ou vermelho. As gônadas dos camarões peneídeos em um estágio de maturação mais avançada apresentam a coloração verde (Ayub e Ahmed, 2002; Haefner e Spaargaren, 1993; Peixoto et al., 2003, Carvalho, 1981). Já em lagostas e siris, a coloração final tende a ser laranja escura e vermelha (Minagawa e Sano, 1997; Robertson e Kruger, 1994).

Quanto à descrição do aparelho reprodutor masculino, Moriyasu e Benhalima (1998) descrevem para o majidae *Chionocetes opilio*, um trato reprodutor em forma de “H”, bilateral, de coloração branca e, sendo formado por um par de testículos e um par de vasos deferentes. Para algumas espécies, entretanto, não se observa comissura, que conforme a letra “H”, como descrito por Mouchet (1931), para *Cancer pagurus* (Cancroidea) e *Carcinus maenas* (Portunidae).

El-Sherief (1991) cita que os espermatozóides são formados no testículo, seguindo então para o vaso deferente, enquanto Cronin (1947) relata que o vaso deferente pode ser dividido em diferentes regiões funcionais envolvidas na síntese da matriz espermatofórica e na produção de espermátóforos. Segundo o mesmo autor, além de Johnson (1980) e Nagao e

Munehara (2003), o testículo de forma convoluta apresentando ácidos testiculares é uma característica comum aos Brachyura.

Almeida e Buckup (1999), por sua vez, citaram que as gônadas masculinas do lagostim *Parastacus defossus* são formadas, microscopicamente, por parede testicular e ácidos, que contêm as células germinativas, e túbulos coletores longitudinais que conduzem os espermatozoides dos ácidos até o vaso deferente.

Medina e Rodríguez (1992), utilizando microscopia eletrônica, descreveram os espermatozoides de Brachyura como sendo células com cromatina descondensada e um largo acrossomo. Já Wielgus-Serafinska (1976) citou, para *O. limosus*, a presença de cinco a oito braços radiais, geralmente seis, enquanto Hinsch (1973) reportou para a superfamília Oxyrhyncha, um espermatozoide com três braços radiais, embora esse número possa variar com a espécie. Da mesma forma que Medina e Rodríguez (1992), ambos os autores utilizaram microscopia eletrônica.

O espermatóforo, cuja formação se inicia no vaso deferente posterior (Benhalima e Moriyasu, 2000) é uma cápsula formada por uma parede acelular (Moriyasu e Benhalima, 1998) imersa numa secreção heterogênea, PAS positiva, contendo áreas alcian-positivas (Johnson, 1980). Sainte-Marie e Sainte-Marie (1999) citam, ainda, que a parede do espermatóforo atua na proteção dos espermatozoides ali contidos, contra substâncias presentes na espermateca da fêmea.

Anilkumar (1999), Hartnoll (1969), Goshima (2000) e Gardner e Williams (2002) determinaram o estágio de maturação com base na presença ou ausência de espermatóforos no vaso deferente. Nagao e Munehara (2003) classificaram os indivíduos, quanto à maturidade, em seis estágios, baseando-se na porcentagem de lóbulos contendo células em cada estágio de maturação.

Quanto aos estudos de reprodução do *C. guanhumi* desenvolvidos no Brasil, Silva e Oshiro (2002) avaliaram alguns aspectos reprodutivos da espécie, no sudeste do País com

base em uma análise macroscópica das gônadas femininas. Botelho et al. (2001) analisaram aspectos populacionais, incluindo aspectos reprodutivos, na região Nordeste, enquanto Abrunhosa et al. (2000) desenvolveram o cultivo do ovo à forma juvenil, também no nordeste do Brasil.

Em outros países, destacam-se os trabalhos sobre *C. guanhumi* desenvolvidos por Gifford (1962), sobre a biologia geral, na Flórida, Estados Unidos; Feliciano (1962), sobre a biologia e importância econômica, em Porto Rico; e Taissoun (1974), sobre a biologia geral da espécie, na Venezuela.

A espécie *C. guanhumi* apresenta algumas semelhanças com espécies do gênero *Uca*, cujos machos possuem uma quela bem desenvolvida e os adultos, de ambos os sexos, apresentam a carapaça com coloração que vai do azul escuro até tons de cinza e branco (Burggren e McMahon, 1988). Os juvenis geralmente possuem os pereiópodos alaranjados, enquanto as fêmeas ovíferas freqüentemente mudam a coloração, apresentando carapaças cinza ou branca (Lloyd, 2001).

Bozada e Chávez (1986) encontraram uma população de *C. guanhumi* com proporção sexual próxima de 1:1, no México, resultado semelhante ao encontrado por Silva e Oshiro (2002) no sudeste do Brasil.

Quanto à distribuição de tamanho dos indivíduos da população de *C. guanhumi*, Rivera (2005), em Cuba, encontrou uma amplitude de largura do cefalotórax de 6,5 a 10,5 cm, para machos, e 7,0 a 9,0 cm, para fêmeas; Bozada e Chávez (1986), no México, encontraram machos de 2,7 a 10,5 cm e fêmeas de 4,2 a 7,9 cm; e Silva e Oshiro (2002), no Brasil, machos de 2,7 a 8,5 cm e fêmeas de 3,1 a 8,3 cm.

Segundo Hill (2001), o tamanho de primeira maturação das fêmeas de *C. guanhumi*, nos Estados Unidos, ocorre próximo aos quatro anos de vida, quando os indivíduos alcançam uma massa corpórea de 40 g, sendo o crescimento considerado lento, se comparado com outras espécies de caranguejo, pois enquanto a maioria das espécies necessita de 20 mudas até

a maturidade, o guaiamum necessita de cerca de 60. Silva e Oshiro (2002), no Rio de Janeiro, encontraram um tamanho de primeira maturação para o *C. guanhumi* de 5,3 cm de largura da carapaça para fêmeas e 5,1 cm para os machos. Botelho et al. (2001), em Pernambuco, encontraram para fêmeas o tamanho de 3,55 cm de largura da carapaça. Na Venezuela, Taissoun (1974) encontrou um tamanho de 7,00 cm, enquanto, Giménez e Acevedo (1982), em Cuba, reportaram um valor de 5,00 cm de largura da carapaça para o tamanho de primeira maturação.

Segundo Hicks (1985), na maioria dos caranguejos da família Gecarcinidae, podem ocorrer sucessivas migrações para reprodução durante um ano, mas não há evidências de que uma fêmea possa desovar mais de uma vez. Baseado em análise das condições ovarianas, Gifford (1962) sugeriu que as fêmeas de *C. guanhumi* podem desovar mais de uma vez por estação, no sul da Flórida/EUA. Costa e Negreiros-Fransozo (1996) corroboram com esta afirmação, citando que desovas múltiplas podem acontecer em um simples período de intermudas para *Callinectes danae*.

Em fêmeas mantidas em condições de laboratório de *Gecarcinus lateralis*, observou-se mais de três desovas durante uma estação de reprodução (Klaassen, 1975), embora não se possa garantir que este comportamento ocorra na natureza. Em experimentos com *Epigrapsus notatus*, por outro lado, a espécie apresentou apenas uma desova por estação (Liu e Jeng, 2005).

O ciclo reprodutivo do guaiamum é amplamente dependente do clima e do ciclo lunar (Burggren e McMahon, 1988; Lloyd, 2001; Hill, 2001). Fortes chuvas de primavera dão início à migração reprodutiva, quando as fêmeas iniciam a procura por parceiros, enquanto migram de suas tocas até a costa. Para compensar as primeiras semanas do período migratório, no período que antecede à migração, os indivíduos têm um rápido ganho de peso.

Segundo Hill (2001), a fertilização é interna, com uma uma fecundidade por desova entre 300.000 e 700.000 ovos, podendo ocorrer diversas desovas ao longo do ano, com

estações de desova variando de local para local. De acordo com o mesmo autor, na Flórida, as desovas ocorrem de junho a dezembro, com picos em outubro e novembro; nas Bahamas, de julho a setembro, e na Venezuela, de julho a novembro. Taissoun (1974), na Venezuela cita o período entre setembro e janeiro; Bozada e Chávez (1986) e Rivera (2005), no México, mencionam, respectivamente, em junho/julho e agosto. Para o Brasil, Silva e Oshiro (2002) relataram que no sudeste do país, as desovas ocorrem nos meses de março a maio, enquanto no nordeste do Brasil, segundo Botelho et al. (2001), o período se estende de dezembro a fevereiro.

A legislação vigente no Brasil, Instrução Normativa nº. 90 de 02/02/06 (IBAMA, 2006), determina que o tamanho mínimo de captura para machos nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e Sergipe é de 6,00 cm de largura de cefalotórax, sendo igual a 7,00 cm, no Estado da Bahia. A mesma instrução normativa determina, também, que a captura, a manutenção em cativeiro, o transporte, o beneficiamento, a industrialização, o armazenamento e a comercialização de fêmeas da espécie *C. guanhumi* é proibida. Institui, ainda, a proibição, de indivíduos no período de andada, entre os meses de dezembro a março. Entende-se por “andada” o período reprodutivo em que os guaiamuns machos e fêmeas saem de suas galerias (tocas) e andam pelo manguezal para acasalamento (IBAMA, 2006).

4. ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 Oogênese e maturação ovariana do caranguejo terrestre *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE).

Shinozaki-Mendes, R. A.^{1,2,3}; Silva, J. R. F.¹; Sousa, L. P.¹; Hazin, F. H. V.²

¹Universidade Federal do Ceará/ Laboratório de Histologia Animal (Av. Mister Hull, s/n Pici - Bloco 909 CEP 60455760 Fortaleza/ CE); ²Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Laboratório de Oceanografia Pesqueira (Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n Dois Irmãos - DEPAq CEP 52171900 Recife/ PE); ³E-mail: renataasm@gmail.com.

Resumo

No presente trabalho, o trato reprodutivo de fêmeas do *C. guanhumi* foi descrito macro e microscopicamente, definindo-se os estágios de maturação gonadal e relacionando-se os mesmos à coloração das gônadas e ao grau de desenvolvimento das células germinativas. Os ovários são compostos por oogônias (diâmetro de $14,17 \pm 2,02 \mu\text{m}$), formando ninhos na zona germinativa; oócitos pré-vitelogênicos ($51,02 \pm 7,39 \mu\text{m}$), de caráter basofílico, apresentando um ou dois nucléolos; oócitos vitelogênicos ($110,93 \pm 9,33 \mu\text{m}$), que apresentaram caráter acidófilo; oócitos maduros ($237,52 \pm 22,70 \mu\text{m}$), nos quais foi possível observar o córion; e oócitos atrésicos. Os componentes somáticos encontrados foram: parede gonadal, células foliculares, vasos hemais e espermateca. Foram identificados os estágios de desenvolvimento gonadal que seguem: imaturo (cor translúcida, zona germinativa contendo oogônias e zona de maturação periférica com oócitos pré-vitelogênicos); em maturação (cor variando de amarela a marrom escura; zona de maturação com oócitos pré-vitelogênicos e vitelogênicos); maturo (cor marrom escura; predominância de oócitos maduros na zona de maturação); em recuperação (cor marrom escura ou amarela contendo resíduos de oócitos não eliminados, estágio observado nas fêmeas ovígeras); em Repouso (cor translúcida à amarela, parede da gônada espessa e resíduos de oócitos atrésicos). Os caracteres do trato reprodutor aqui analisados corroboram a hipótese de monofilia dos Brachyura.

Palavras-chaves: Manguezal, Brachyura, células germinativas, reprodução.

INTRODUÇÃO

Os crustáceos Brachyura, que fazem parte da cadeia trófica dos manguezais, são economicamente importantes para as comunidades que dependem do estuário para sua subsistência. Várias espécies são exploradas comercialmente, das quais se destacam: *Ucides cordatus*, *Callinectes danae* e *Cardisoma guanhumi* (Shaeffer-Novelli, 1995).

O naturalista Albert Eckout realizou um dos primeiros registros para esta espécie no Brasil, entre os anos 1643 e 1644, durante a ocupação Holandesa (Tavares, 1993). Em 1648, Macgraf, zoólogo, descreveu esta espécie pelo nome “Guanhumi”, mas foi apenas em 1825 que a espécie recebeu a nomenclatura binomial *Cardiosoma guanhumi* Latreille (Tavares, *op. cit.*), assumindo, em 1828, o nome científico utilizado até os dias atuais, *Cardisoma guanhumi* Latreille.

C. guanhumi é considerado um caranguejo terrestre por apresentar adaptações comportamentais, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas que permitem que o mesmo permaneça fora da água por longos períodos (Melo, 1996). Apesar da adaptação destes animais à vida terrestre, eles necessitam retornar à água para se reproduzirem, sendo necessário para tanto, muitas vezes, uma longa caminhada (Schram, 1986).

A espécie ocorre no Atlântico Oeste, em todos os estuários da América Central e América do Sul (Burggren e McMahon, 1988). Nos Estados Unidos, a sua distribuição está limitada ao Golfo do México e à Flórida (Hill, 2001). A amplitude de sua distribuição é, em grande medida, determinada pela temperatura da água, sendo a sobrevivência das larvas comprometida em áreas onde a temperatura é inferior a 20°C (Hill, *op. cit.*).

Esta espécie possui importância comercial no Caribe e nas Bahamas (Lloyd, 2001), assim como no Brasil, onde é bastante apreciado como alimento em diversos Estados. Como resultado da crescente pressão de consumo, há um aumento excessivo da captura, como também a supressão direta e indireta do seu ecossistema (Soffiati, 2004).

O desenvolvimento do ciclo reprodutivo dos crustáceos inclui a proliferação das células, o seu crescimento para maturação, ovulação, extrusão dos ovos e incubação até o momento da desova (Sastry, 1983). Adicionalmente, para a compreensão do ciclo reprodutivo, é necessária a descrição da maturação das células da linhagem germinativa no ovário.

A descrição do aparelho reprodutor feminino dos crustáceos Brachyura foi realizada por Ryan (1967); Hartnoll (1968); Johnson (1980); Diesel (1989); Minagawa e Sano (1997); Brandis e Storch (1999); e Souza (2006), objetivando um melhor entendimento da reprodução destes animais.

No presente trabalho, buscou-se compreender a dinâmica reprodutiva de fêmeas de *C. guanhumi*, a partir da descrição macroscópica e microscópica do sistema reprodutor, caracterizando-se, ao mesmo tempo, os estágios de desenvolvimento das células germinativas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coletas

A coleta dos indivíduos foi realizada em uma área de manguezal, no estuário do Rio Jaguaribe ($04^{\circ}26'S$ a $04^{\circ}32'S$ e $037^{\circ}46'W$ a $037^{\circ}48'W$), município de Aracati, litoral leste do Estado do Ceará, Brasil, junto à localidade do Cumbe (Fig. 1).

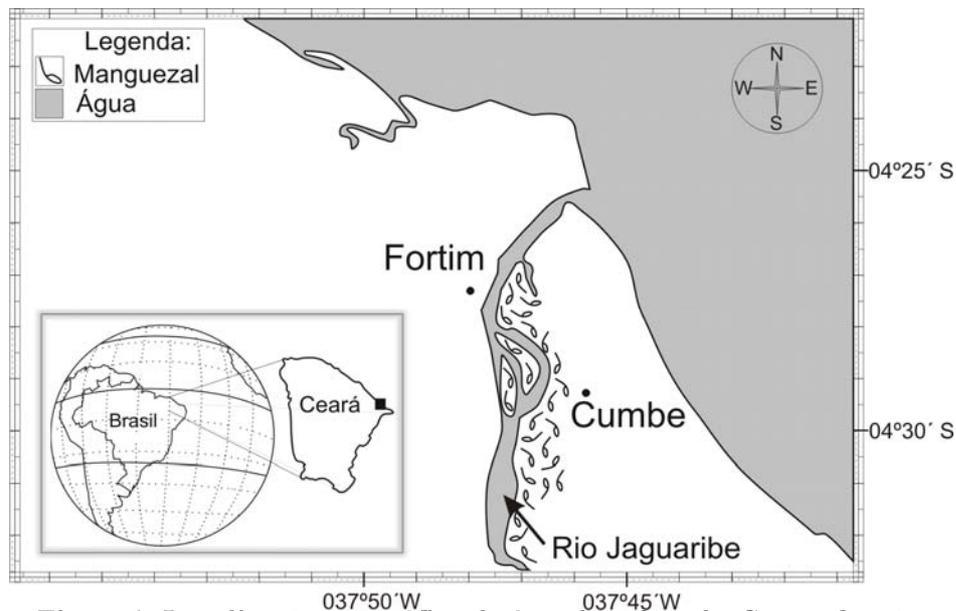


Figura 1: Localização geográfica da área de coleta do *C. guanhumi*.

Os animais foram capturados com armadilhas artesanais, colocadas à noite, próximas às tocas, e recolhidas no dia seguinte, pela manhã. Antes da dissecação, os indivíduos foram mantidos em refrigerador à temperatura de -10°C, por 20 minutos, ou até a sua imobilização. Em seguida, a carapaça foi retirada para a exposição do trato reprodutivo. Foram coletados 179 indivíduos com largura do cefalotórax variando entre 4,34 e 8,56 cm, no período de 12 meses, com uma média mensal de 15 indivíduos.

Processamento dos exemplares

Antes da retirada do trato reprodutor foi observada a sua localização na cavidade cefalotorácica. Para a determinação da coloração ovariana, foi utilizada a escala RGB (Red, Green and Blue), proposta por Robinson et al. (1995), onde a combinação de cores primárias (vermelho, verde e azul) origina qualquer cor secundária.

O material coletado foi fixado em solução de Davidson, por 24h, tendo sido, em seguida, conservado em solução de álcool 70%. Os fragmentos do trato reprodutivo foram submetidos à desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em xilol e impregnação e inclusão em parafina a 60°C. Cada bloco contendo material biológico foi seccionado a 5µm, sendo as lâminas, em seguida, coradas pelos métodos de Azul de Bromofenol (adaptado de Pearse, 1985), para detecção das proteínas totais; Azul de Alcian/ PAS (adaptado de Junqueira e Junqueira, 1983; e de Pearse, 1985), para detecção de glicoproteínas, mucopolissacarídeos ácidos e glicogênio; e Tricrômico de Gomori (adaptados de Tolosa et al., 2003), para diferenciação dos tecidos.

Com o intuito de se verificar possíveis diferenças no desenvolvimento das células germinativas ao longo das gônadas, as mesmas foram seccionadas na região anterior, média e posterior, fotografando-se as lâminas contendo as secções. As células germinativas foram classificadas em estágios distintos baseados na forma, relação núcleo-citoplasma e reação aos corantes. As células foram mensuradas quanto ao diâmetro máximo e do núcleo, sendo

utilizadas apenas aquelas que apresentaram o núcleo na secção observada. Com base na proporção das células de cada estágio, foram determinadas as fases de desenvolvimento ovariano. Para compreender a dinâmica reprodutiva foram estabelecidas as relações entre as características microscópicas e macroscópicas. Por fim, a espermateca foi também descrita.

Tratamento estatístico

Foi utilizada a estatística descritiva quanto à média e erro padrão da média para o diâmetro da célula (DC), diâmetro do núcleo (DN) e na relação DC/ DN em porcentagem. Para avaliar se os diâmetros das células e seus respectivos núcleos, nos diversos estágios celulares, apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), foi testada, inicialmente, a homocedasticidade dos dados (teste de Bartlett) (Zar, 1972; Mendes, 1999). Como as variâncias se apresentaram de forma não homogênea, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Zar, 1984; Mendes, 1999).

RESULTADOS

Descrição macroscópica

O sistema reprodutor feminino de *C. guanhumi* é formado por ovários pares e espermatecas desembocando no gonóporo. Os ovários são órgãos dorsais que se apresentam como dois lobos alongados e ligados entre si por uma comissura transversal, abaixo do coração. A porção posterior à comissura, denominada de lobo posterior, apresenta uma expansão lateral na forma de bolsa, a espermateca. Os gonóporos, cuja visualização é possível a olho nu, se localizam no esternito, na altura do 3º par de pereiópodos.

O volume, comprimento e a cor das gônadas variam de acordo com o grau de desenvolvimento das células germinativas. Entretanto, os lobos de uma mesma gônada apresentam a coloração uniforme. O grau de desenvolvimento ovariano foi classificado em quatro estágios: Não desenvolvido; pouco desenvolvido; em desenvolvimento ou desenvolvido, cujos detalhes podem ser observados na figura 2.

No estágio A (não desenvolvido), as gônadas são bastante delgadas com diâmetro uniforme e coloração translúcida. No estágio B (pouco desenvolvido), os lobos gonadais apresentam-se expandidos e com diâmetro aumentado. Entretanto, a porção que antecede a espermateca (Fig. 2, indicação “x”) é reduzida e a coloração varia de amarelo a laranja. No estágio C (em desenvolvimento) há um aumento no diâmetro e comprimento, com a porção anterior da gônada começando a ocupar a região lateral do cefalotórax e a região que antecede a espermateca apresentando-se diminuta. A cor varia de laranja a marrom claro. No estágio D (desenvolvido), a gônada passa a ocupar todo espaço vazio do cefalotórax, atingindo o limite máximo de diâmetro e comprimento dos ovários, apresentando-se com coloração marrom escura. Além disso, a região que antecede a espermateca não se torna mais visível.

A espermateca apresenta coloração esbranquiçada translúcida no estágio A e esbranquiçada opaca nos demais estágios, exibindo um pequeno incremento no seu volume, ao longo dos estágios maturativos.

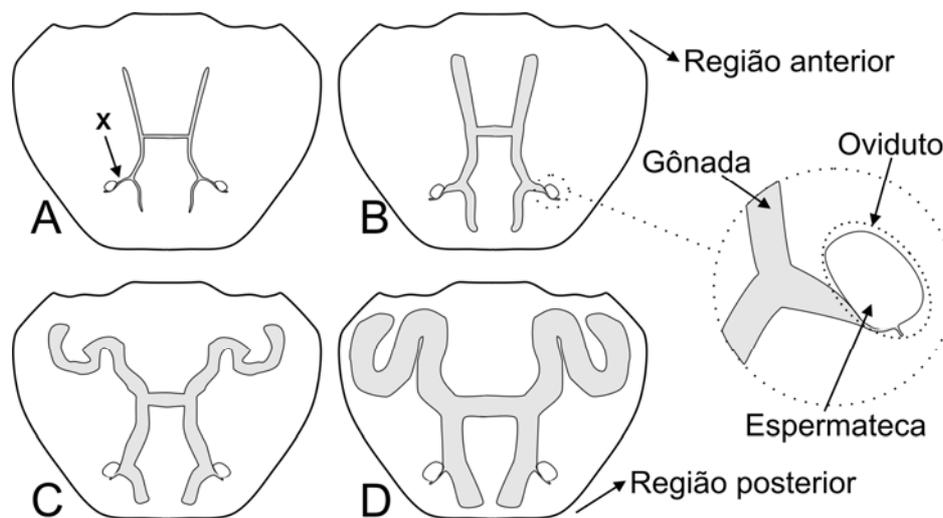


Figura 2: Desenho esquemático da localização do trato reprodutivo feminino no cefalotórax e estágios macroscópicos do *C. guanhumi*. Vista dorsal, excluindo-se o dorso da carapaça e demais componentes. A: não desenvolvido; B: pouco desenvolvido; C: em desenvolvimento e D: desenvolvido. X: região da gônada que antecede a espermateca.

Descrição microscópica

Os ovários são constituídos por células germinativas protegidas por componentes somáticos, cuja composição e disposição no seu interior variam em função do grau de

desenvolvimento. De acordo com a reação aos corantes e diâmetro médio das células germinativas, foram estabelecidos quatro estágios de desenvolvimento celular: oogônias, ovócitos pré-vitelogênicos, ovócitos vitelogênicos e ovócitos maduros, além de oócitos atrésicos, como segue:

Oogônias (OO) (Fig. 3a e 3b): Diâmetro de 9 a 26 μm . Encontram-se formando ninhos, na região mais central da gônada (zona germinativa). No estágio inicial, apresentam citoplasma escasso em relação ao núcleo conspícuo, o qual apresenta cromatina central bastante condensada, corando-se fortemente de roxo pelos métodos Alcian/ PAS e Tricrômico de Gomori, indicando ser bastante basófilo. Já o citoplasma apresentou uma reação mais fraca a esses corantes, além de haver apresentado pouco acúmulo de proteínas, corando-se fracamente pelo azul de bromofenol, se comparado com os demais estágios de desenvolvimento. Na fase final deste estágio, a cromatina mais condensada está aderida ao envoltório interno do núcleo (Fig. 4b).

Oócitos pré-vitelogênicos (OPV) (Fig. 3c): Diâmetro de 26 a 100 μm . Encontram-se na periferia da zona germinativa, com citoplasma mais desenvolvido que o estágio anterior, embora o caráter basófilo ainda permaneça. No núcleo pôde-se observar a presença de um a dois nucléolos periféricos (geralmente um), com a cromatina descondensada na sua região periférica. O citoplasma corou-se pelo azul de bromofenol, indicando a presença de proteínas. No núcleo, apenas os nucléolos são fortemente corados.

Oócitos vitelogênicos (OV) (Fig. 3d): Diâmetro de 79 a 160 μm . São células de maior volume se comparadas ao estágio anterior e, devido a esse aumento de volume, justapostas, de maneira que as suas formas, antes esféricas, passam a ser poliédricas. Há uma grande deposição de proteínas no citoplasma, as quais irão compor o vitelo, com a sua presença sendo evidenciada pela intensa coloração com o Azul de Bromofenol. As deposições vitelogênicas distribuem-se prioritariamente na região periférica do citoplasma, dando-lhe um aspecto granular. De caráter acidófilo, essa região da célula corou-se em rosa claro pelo método Alcian/ PAS. Pôde-se ainda observar a cromatina perinuclear e a presença de um nucléolo. Quando corados pelo Tricrômico de Gomori, notou-se a coloração verde fracamente distribuída na célula.

Oócitos maduros (OM) (Fig. 3e): Diâmetro de 132 a 310 μm . Devido ao grande volume da célula em comparação ao reduzido tamanho do núcleo, o mesmo se torna pouco visível. O

nucléolo, quando evidente, ocorre somente em número de um por núcleo. Nesse estágio a célula já está pronta para ser eliminada e fecundada. Grânulos de vitelo são encontrados em todo o citoplasma, em maior tamanho, com grânulos mais finos externamente ao núcleo. Em volta da célula, há um espessamento intensamente corado em verde pelo Tricrômico de Gomori. Esse espessamento é o córion, sendo um indicador do último estágio de desenvolvimento da linhagem germinativa.

Oócitos atrésicos (OA) (Fig. 3f): Sem um formato definido, são as células que amadureceram e não foram liberadas, entrando, assim, em um processo de reabsorção pelo ovário. Apresentaram-se ricos em proteínas, quando corados pelo método Azul de Bromofenol, e acidófilos, devido à forte cor rosa resultante da coloração de Alcian/ PAS.

Foram ainda identificados, como componentes não germinativos, as células foliculares, a parede da gônada, os vasos hemais e a espermateca, como segue:

Células foliculares (CF) (Fig. 3g): Encontradas livres na zona germinativa ou circundando as células da linhagem germinativa, contribuem para a sincronia de maturação das mesmas, auxiliando na formação do córion que atua na sua proteção. Variam de forma, indo desde cúbicas e agrupadas, quando ao lado das oogônias, até o formato pavimentoso, quando circundam os oócitos vitelogênicos e maduros. Apresentaram o citoplasma escasso e o núcleo fortemente basofílico, contendo nucléolos periféricos.

Parede gonadal (PG) (Fig. 3i): Os ovários são revestidos por material de natureza fibrosa, corando-se de verde pelo método do Tricrômico de Gomori. Tal revestimento é formado por uma porção mais externa, de polissacarídeos ácidos, e outra mais interna, de polissacarídeos neutros, corados em azul e magenta, respectivamente, pelo método Alcian/ PAS. Quando corado pelo azul de bromofenol, apresentou fraca reação, indicando um caráter pouco protéico.

Vasos hemais (VH) (Fig. 3h): compostos por um epitélio pavimentoso simples, contendo hemolinfa em seu interior. Estão presentes nos espaços entre as unidades formadoras dos ovários, onde se localizam as células germinativas. A hemolinfa, de aparência granular, reagiu fracamente ao Tricrômico de Gomori, indicando um caráter basófilo, enquanto que o revestimento apresentou reação mais intensa. A intensidade da coloração da hemolinfa aumenta em estágios de maturação mais avançados e nos ovários de fêmeas ovígeras.

Espermateca (ES) (Fig. 4): o lúmen deste órgão é revestido por um epitélio colunar simples, com núcleos basais e região apical do citoplasma secretora. Apresenta secreção acumulada em grande quantidade preenchendo todo o interior da espermateca. A secreção é positiva aos corantes azul de Alcian/PAS e negativa ao azul de bromofenol. Abaixo do epitélio há uma espessa camada de tecido conjuntivo frouxo com muitas células dispersas por entre as fibras. A porção mais exterior deste órgão apresenta uma faixa contínua de material Alcian/PAS positivo.

Estágios de maturação ovariana

Os ovários em um mesmo estágio de maturação apresentam a mesma coloração e textura nos lobos anterior, médio e posterior. A gônada está sempre restrita à cavidade cefalotorácica, não atingindo o abdômen em qualquer dos estágios. Microscopicamente também não foram encontradas diferenças nos tipos celulares ao longo dos lobos, podendo-se afirmar que a gônada, em todo o seu comprimento, amadurece de forma sincrônica. Entretanto, uma porção denominada de zona germinativa, na região central da gônada, em secção transversal, está presente ao longo dos lobos esquerdo e direito. A observação macroscópica e ao microscópio de luz, permitiu diferenciar os seguintes estágios:

Imaturo (Fig. 5a): equivalente ao estágio macroscópico "não desenvolvido". Cor translúcida, textura lisa e parede fina. Zona germinativa com a presença de oogônias e zona de maturação periférica com oócitos pré-vitelogênicos, em menor quantidade. Células foliculares na zona germinativa formam ninhos, enquanto que na zona de maturação, apresentam-se como um epitélio simples cúbico, circundando os oócitos pré-vitelogênicos.

Em maturação (Fig. 5b): equivalente aos estágios macroscópicos "pouco desenvolvido" e "em desenvolvimento". Textura lisa e cor variando de amarela a marrom escura. Zona de maturação com oócitos pré-vitelogênicos situados mais internamente e oócitos vitelogênicos na região mais periférica. Células foliculares na zona de maturação em grande número.

Maturo (Fig. 5c): análogo ao estágio macroscópico "desenvolvido". Textura lisa e cor marrom escura. Predominância de oócitos maduros na zona de maturação e raros oócitos pré-vitelogênicos. A zona germinativa permanece na região central proporcionalmente reduzida. Células foliculares circundando os oócitos maduros.

Em Recuperação (Fig. 5e): equivalente aos estágios macroscópicos “desenvolvido” e “em desenvolvimento”. Textura lisa de cor marrom escura ou amarela contendo resíduos marrons escuros (oócitos não eliminados). Este estágio é observado nas fêmeas portadoras de ovos (ovígeras). Estão presentes oócitos sem forma definida (atrésicos), espaços vazios e poucos oócitos maduros. Células foliculares dispersas na zona de maturação e em grande quantidade em relação às células sexuais. Nos ovários mais flácidos, poucos oócitos atrésicos ainda são evidentes, indicando que foram reabsorvidos, enquanto as células foliculares e oócitos pré-vitelogênicos começam a se reorganizar para ocupar os espaços vazios.

Em Repouso (Fig. 5f): análogo ao estágio macroscópico “não desenvolvido” ou “pouco desenvolvido”. Cor translúcida à amarela e textura lisa. Semelhante aos ovários imaturos, com a parede da gônada, porém, se apresentando mais espessa. Células foliculares se encontram em todas as regiões da gônada, formando mais de um estrato entre as células germinativas. Há um maior espaço entre as células sexuais, o qual é preenchido por células foliculares e resíduos de oócitos atrésicos.

Diâmetro do oócitos e relação núcleo-citoplasma

As células germinativas apresentaram um constante incremento no seu diâmetro, ao longo do seu processo de desenvolvimento. As oogônias são as menores células, seguidas pelos oócitos pré-vitelogênicos. Oócitos vitelogênicos e maduros não diferiram estatisticamente (Kruskal-Wallis; $p < 0,05$) devido à grande variância. As células de menor diâmetro apresentaram uma variância menor, enquanto que as maiores apresentaram ampla variância. O diâmetro dos respectivos núcleos apresentou a mesma tendência, porém com menor variação (Tabela 1).

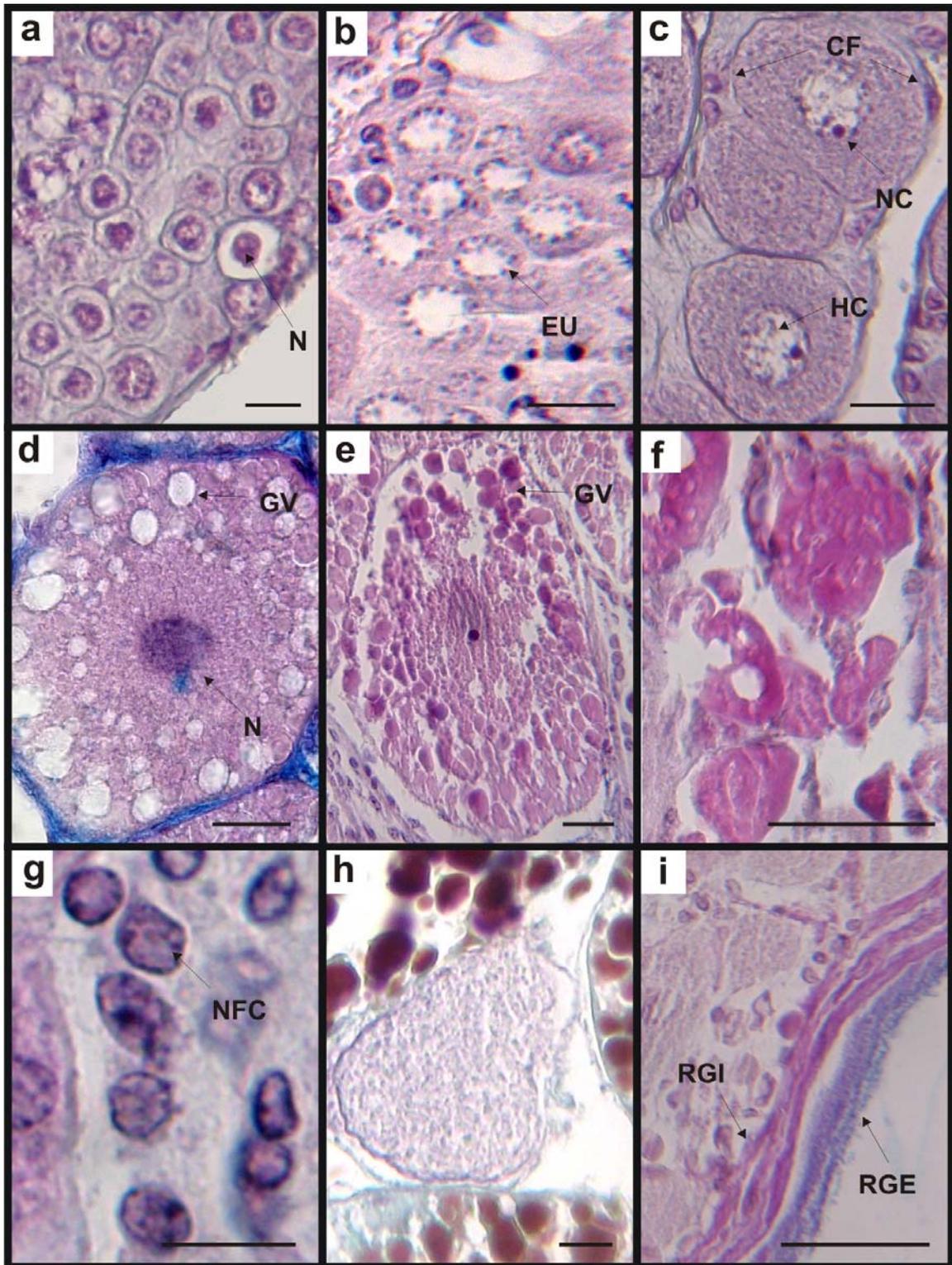


Figura 3: Fotomicrografias dos componentes germinativos e somáticos do trato reprodutivo de fêmeas do *C. guanhumí*. a, b: oogônias; c: oócitos pré-vitelogênicos; d: oócito vitelogênico; e: oócito maduro; f: oócitos atrésicos; g: células foliculares; h: vaso hemal; i: revestimento gonadal. N: núcleo; NC: nucléolo; EC: eucromatina; HC: heterocromatina; CF: célula folicular; GV: grânulos de vitelo; NFC: núcleo da célula folicular. RGI: Revestimento gonadal interno; RGE: Revestimento gonadal externo. Coloração: Tricrômico de Gomori (a, c, h) e Azul de Alcian/ PAS (b, d, e, f, g, i). Escala: (a, b, c, g, h) 10 μ m e (d, e, f, i) 50 μ m.

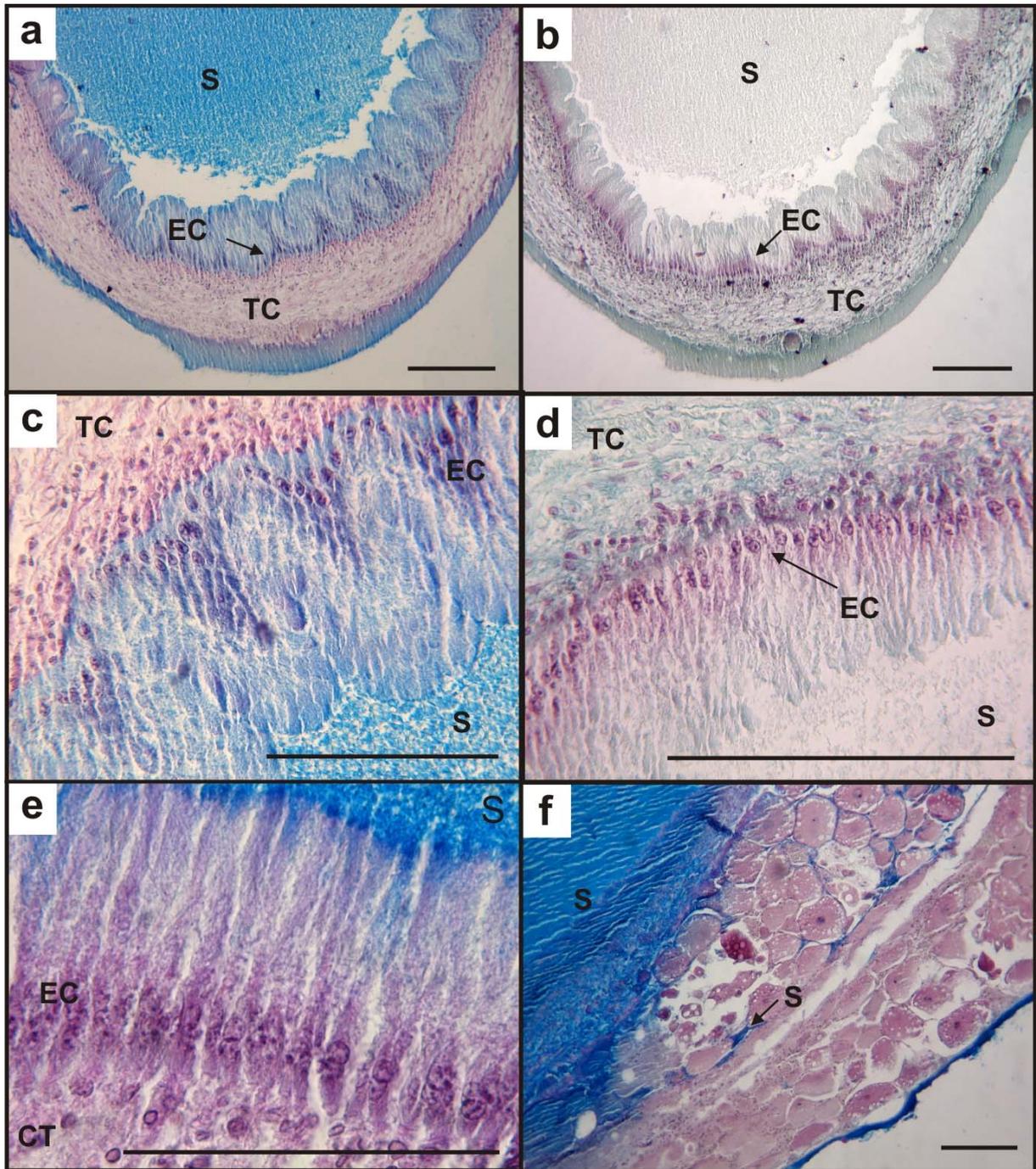


Figura 4: Fotomicrografias de secções da espermateca (a, b, c, d, e) e região de ligação entre a gônada e a espermateca (f). TC: Tecido conjuntivo; EC: epitélio colunar; S: Secreção. Coloração: Azul de Alcian/ PAS (a, c, e, f); Azul de Bromofenol (b) e Tricrômico de Gomori (d). Barra de escala: 400 μm (a, c, d, f) e 200 μm (b, e).

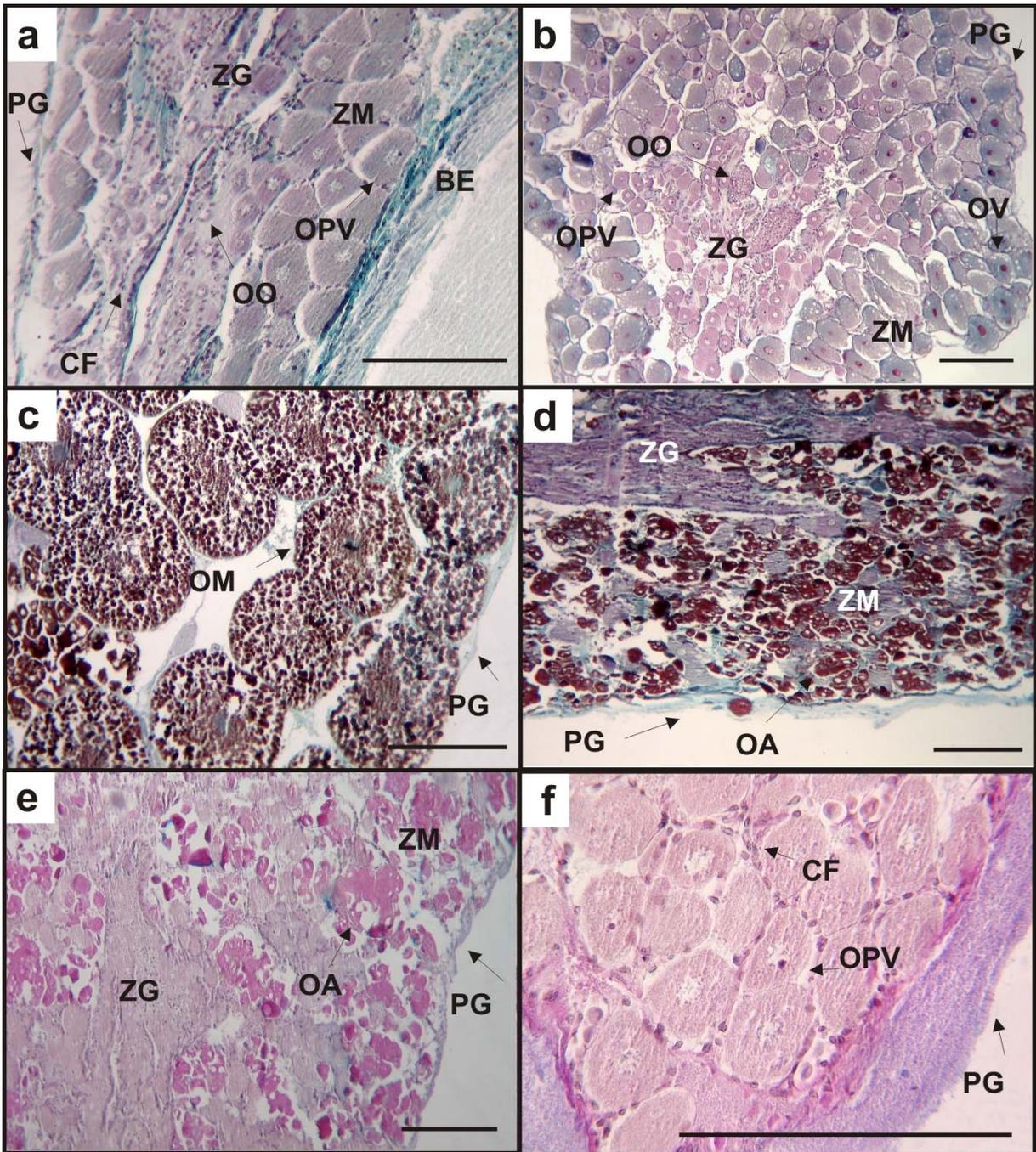


Figura 5: Fotomicrografias dos estágios gonadais de fêmeas do *C. guanhumi*. a: imaturo; b: em maturação; c: maturo; d: em recuperação (ovígera); e: em recuperação (não ovígera); f: em repouso. ZG: zona germinativa; ZM: zona de maturação; OO: oogônia; OPV: oócito pré-vitelogênico; OV: oócito vitelogênico; OM: oócito maturo; CF: célula folicular; PG: parede da gônada; BE: espermateca; OA: oócito atrésico. Coloração: (a, b, c e e) Tricrômico de Gomori e (d e f) Azul de Alcian/ PAS. Barra de escala: 200 μ m.

Quando analisada a relação núcleo-citoplasma, observou-se que as oogônias possuem o núcleo conspícuo em relação aos oócitos maduros, que apresentaram uma menor proporção na relação DN/DC (Tabela 1).

Tabela 1: Diâmetro (média \pm erro*) dos oócitos e dos núcleos, em μm , e a relação entre estas duas médias, em porcentagem, para os estágios de desenvolvimento celular encontrados para o *C. guanhum*, capturado em Aracati/CE.

	N	Diâmetro da célula	Diâmetro do núcleo	DN/ DC (%)
OO	100	14,17 \pm 2,02 ^a	7,68 \pm 1,03 ^a	55,45 \pm 4,55
OPV	100	51,02 \pm 7,39 ^b	17,82 \pm 1,48 ^b	35,03 \pm 3,32
OV	50	110,93 \pm 9,33 ^c	23,13 \pm 2,61 ^c	21,79 \pm 2,30
OM	50	237,52 \pm 22,70 ^c	35,55 \pm 5,06 ^c	15,07 \pm 4,33

* Erro padrão da média. Letras diferentes entre as médias apresentam diferenças significativas, utilizando o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). As células e os núcleos foram analisados separadamente.

Nas tabelas 2 e 3 encontram-se os resultados obtidos acerca da composição celular e cor da gônada, respectivamente, nos estágios maturativos.

Tabela 2: Composição celular dos estágios maturativos de fêmeas de *C. guanhum*.

	Estágio				
	I	II	III	IV	V
Oogônias	++	+	+	+	++
Ovócito pré-vitelogênicos	+	++	+	+	++
Ovócitos vitelogênicos	-	++	-	-	-
Ovócitos maduros	-	-	++	+	-
Ovócitos atrésicos	-	-	-	++	+

+: presente; ++ abundante; -: ausente.

Estágios: I: Imaturo; II: em maturação; III: Maduro; IV: Recuperação; V: repouso.

Tabela 3: Variação da cor das gônadas, em porcentagem, de fêmeas de *C. guanhumi* capturadas no Ceará, Brasil.

Cor da gônada	Estágio				
	I	II	III	IV	V
Translúcido (RGB = 176-170-138)	100,0	0,0	0,0	0,0	75,0
Amarelo (RGB = 148-120-47)	0,0	15,0	0,0	60,0	25,0
Laranja (RGB = 162-88-13)	0,0	10,0	0,0	0,0	0,0
Marrom claro (RGB = 85-45-28)	0,0	65,0	0,0	0,0	0,0
Marrom escuro (RGB = 41-28-20)	0,0	10,0	100,0	40,0	0,0

Estágios: I: Imaturo; II: em maturação; III: Maduro; IV: Recuperação; V: repouso.

DISCUSSÃO

A morfologia e localização das gônadas do *C. guanhumi* seguem o padrão morfológico descrito para os Brachyura *U. cordatus*, *Callinectes sapidus*, *Portunus sanguinolentus*, *Goniopsis cruentata*, entre outros (Mota Alves, 1975; Johnson, 1980; Ryan, 1967, Souza, 2006, respectivamente), tendo sido relatadas características semelhantes para os decápodes por Adiyodi e Subramonian (1983).

Quanto ao posicionamento da espermateca, Johnson (1980), ao estudar o *Callinectes sapidus*, relatou que o ovário se conecta à parte superior da espermateca. No entanto, segundo as observações realizadas no presente trabalho, diferentemente do encontrado para o *C. sapidus*, no *C. guanhumi* os oócitos que são liberados parecem se encontrar com os espermatozoides, liberados da espermateca, na porção final da gônada (Fig. 2), seguindo pelo curto oviduto e se alocando nos pleópodos.

Lee e Yamazaki (1990) descreveram detalhadamente a espermateca e, corroborando com os resultados aqui encontrados, citaram a presença de uma camada de epitélio colunar e o preenchimento do interior do órgão com substância de caráter basófilo, a qual parece servir de suporte aos espermatozoides, não possuindo, contudo, a função de nutri-los, uma vez que não apresenta natureza protéica, resultado semelhante ao encontrado por Johnson (*op. cit.*).

Ryan (1967) descreve, para *P. sanguinolentus*, que a espermateca é uma porção alargada do oviduto, externamente circundada por uma fina camada de quitina. A presença de uma cutícula quitinosa também é relatada por Johnson (1980) e Diesel (1989), para *C. sapidus* e *Inachus phalangium*, respectivamente. A reação ao Azul de Alcian/ PAS aqui encontrada para *C. guanhumí* sugere igualmente a presença de uma cutícula quitinosa. Lee e Yamazaki (1990), ao estudarem *Eriocheir sinensis*, Brandis et al. (1999), ao pesquisarem o gênero *Potamos*, e Hartnoll (1968), ao descreverem o aparelho reprodutor do *Carcinus maenas*, denominaram de oviduto a ligação entre a gônada e a espermateca. Para o *C. guanhumí*, entretanto, ficou bastante evidente que tal seção não existe, com a ligação ocorrendo diretamente entre a gônada e a espermateca, que se constitui em uma dilatação do oviduto (Fig. 4f).

Por não terem sido encontrados espermatozóides nas espermatecas, mesmo em fêmeas maduras, se acredita que as fêmeas utilizam os mesmos logo após a cópula. Hinsch (1986) cita, para *Libinia emarginata*, que a fertilização ocorre imediatamente após a cópula, enquanto que para *Ovalipes ocellatus* parece ocorrer o armazenamento dos espermatozóides por períodos variáveis. Os resultados encontrados para o *C. guanhumí* se assemelham ao encontrado para *L. emarginata*, diferindo, entretanto, dos encontrados por Taissoun (1974), segundo o qual as fêmeas do *C. guanhumí* são capazes de armazenar espermatozóides por um longo período, havendo, inclusive, a possibilidade de só copularem uma única vez na vida.

Algumas fêmeas ovígeras apresentaram a gônada ainda desenvolvida macroscopicamente, permanecendo deste modo mesmo após a liberação dos ovos. Outras apresentaram a gônada no estágio macroscópico “pouco desenvolvido”, embora contivessem raros oócitos maduros visíveis a olho nu. Esta característica sugere que um mesmo indivíduo pode maturar mais de uma vez por estação, ou seja, após liberar os ovos, a fêmea pode reorganizar o ovário, de forma a absorver oócitos atrésicos, permanecendo com os oócitos maduros que já se encontravam prontos desde a desova imediatamente anterior. Somente após a última desova

da estação, o ovário entraria, então, em estágio de recuperação e subseqüentemente em repouso até a próxima estação de desova, fechando assim o ciclo. Corroborando com esta hipótese, Gifford (1962) observou a ocorrência de mais de uma desova por estação para *C. guanhumi*, na Flórida, enquanto Mendes (2004), ao manter fêmeas ovígeras em laboratório, no Brasil, observou que um indivíduo após desovar, tornou a ficar ovígera.

Minagawa e Sano (1997), ao analisarem a oogênese e o desenvolvimento ovariano da lagosta *Panulirus japonicus*, identificaram quatro estágios de desenvolvimento celular, diferentemente do descrito no presente trabalho, onde foram apresentados cinco estágios. Entretanto, Ayub e Ahmed (2002), ao estudarem camarões do gênero *Pennaeus* spp., classificaram cinco estágios de desenvolvimento ovocitário, havendo um estágio mais avançado, denominado de “oócitos com corpos corticais”, que parece ser característico para espécies deste gênero (Peixoto et al., 2003; Ayub e Ahmed, 2002). Alguns autores não incluem na análise de estágios maturativos os estágios que ocorrem entre a desova e o reinício do ciclo, o que pode causar problemas nas possíveis estimativas de tamanho de primeira maturação gonadal, uma vez que indivíduos em repouso podem ser erroneamente classificados como imaturos. Problema semelhante pode ser enfrentado por aqueles trabalhos que se utilizam apenas da classificação macroscópica.

Souza (2006) cita que poucos trabalhos descrevem detalhadamente o conteúdo somático dos ovários. Corroborando com este autor, ressalta-se o fundamental papel que as células foliculares desempenham na maturação gonadal, sendo notoriamente as responsáveis pela maturação de forma sincrônica, garantindo a quantidade de oócitos maduros necessários para a desova.

Para o *C. guanhumi*, foram encontrados diferentes nomes dados às colorações das gônadas (Tabela 4), que parecem corresponder a tonalidades semelhantes. Para outros braquiúros, acredita-se que a cor das gônadas tenha apenas uma pequena variação, sem alterar a tendência de progredir, em escala crescente, do imaturo ao nível mais avançado de

maturação, na seguinte ordem: translúcido, amarelo-laranja, marrom e marrom escuro ou vermelho (Weitzsman, 1966; Ryan, 1967). As cores das gônadas se devem à presença de carotenóides que, associados à vitelina, são o componente mais abundante no vitelo das células germinativas (Charniaux-Cotton e Payen, 1988).

É provável que as discordâncias na coloração descrita para cada estágio se devam apenas ao nome da cor ou à sua intensidade, uma vez que, de uma forma geral, os resultados das análises das células germinativas e seus componentes são bastante semelhantes. Devido a esta dificuldade, recomenda-se que seja adotada sempre uma escala de coloração de conhecimento mundial, a qual permite padronizar essa denominação, conforme sugerido por Peixoto (2003).

Comparando-se a cor da gônada dos caranguejos com a dos camarões marinhos, percebe-se que, embora as mesmas amadureçam de forma semelhante, nas gônadas dos camarões de maturação mais avançada a coloração tende ao verde (Ayub e Ahmed, 2002; Haefner e Spaargaren, 1993; Peixoto et al., 2003, Carvalho, 1981) e não ao marrom ou vermelho, como nos caranguejos. Já em lagostas e siris, a coloração final tende ao laranja escuro e ao vermelho (Minagawa e Sano, 1997; Robertson e Kruger, 1994, respectivamente).

Tabela 4: Lista das cores da gônada em diferentes estágios de desenvolvimento gonadal para o *C. guanhumi*, por diferentes autores.

Referência	Estágio				
	I	II	III	IV	V
Presente trabalho	translúcida	amarela a marrom escuro	marrom escura	marrom escuro	translúcida/amarela
Botelho et al. (2001)	I transparente	II esbranquiçada/leitosa	I b amarela/alaranjada	III marrom escura	V pardacenta
Silva e Oshiro (2002)	I transparente	II marfim amanteigada	I b amarela alaranjada/mostarda	III marrom escuro quase negra	V transparente

I: Imaturo; II: em maturação; I**b**: maturação final; III: Maduro; IV: Recuperação; V: repouso.

O diâmetro dos oócitos parece ser característico para cada espécie, tendo sido encontrada uma ampla variação nos valores dos mesmos descritos por diversos autores.

Acredita-se que esta variação esteja diretamente relacionada ao acúmulo de vitelo, que ocorre de forma distinta para cada espécie.

A comparação entre o diâmetro da célula germinativa e do núcleo (Tabela 1) demonstra que, durante o desenvolvimento celular, o núcleo não aumenta de diâmetro na mesma proporção que o citoplasma. O núcleo é o centro de controle de todas as atividades celulares, enquanto que o citoplasma sintetiza grande quantidade de certas proteínas. Assim sendo, é possível concluir que o núcleo atinge um tamanho suficiente para controlar a célula enquanto que o citoplasma precisa aumentar de volume para nutrir o embrião. Os caracteres do trato reprodutor aqui analisados corroboram a hipótese de monofilia dos Brachyura (Schram, 1986).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adiyodi R.G.; Subramonian, T. 1983. Arthropoda-Crustacea. In: Adiyodi, K. G., Adiyodi, R. G. Reproductive biology of invertebrates, Vol. 1. Oogenesis, ovoposition and oosorption. John Wiley and Sons, Toronto, pp. 443-495.
- Ayub, Z.; Ahmed, M. A. 2002. Description of the ovarian development stages of penaeid shrimps from the coast of Pakistan. *Aquaculture Research*. 33: 767-776.
- Brandis, D.; Storch, V.; Türkay, M. 1999. Morphology and function of the copulatory system in freshwater crabs of the genus *Potamon*. *J. Morphol.*, 239 (2): 157-166.
- Botelho, E.R.O.; Santos, M.C.F.; Souza, J.R.B. 2001. Aspectos populacionais do guaiamum, *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1825, do estuário do Rio Una (Pernambuco -Brasil). *Bol. Téc. Cient. CEPENE, Tamandaré*, 9 (1): 123-146.
- Burggren W.W.; McMahon B.R. 1988. Biology of the land crabs. Cambridge University Press. United States of America. 479p.
- Carvalho, H. A. de. 1981. Morfologia do aparelho reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1936) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) Parte II: Feminino. *Trab. Oceanogr. Univ. Fed. PE. Recife*. 16: 249-264.
- Charniaux-Cotton, H.; Payen, G. 1988. Crustacean reproduction. In H. Laufer and R. G. H. Downer, *Endocrinology of selected invertebrate types*, 279–303. Alan R. Liss, New York.
- Diesel, R. 1989. Structure and function of the reproductive system of the symbiotic spider crab *Inachus phalangium* (Decapoda: Majidae): Observation on sperm transfer, sperm storage, and spawning. *J. Crust. Biol.* (9): 266-277.
- Gifford, C. A. 1962. Some observations on the general biology of the land crab *Cardisoma guanhumi* (Latreille), in South Florida. *Biol. Bull.* 123 (1): 207-223.

- Haefner, P. A.; Spaargaren, D. H. 1993. Interactions of ovary and hepatopancreas during the reproductive cycle of *Crangon crangon*. Weight and volume relationships. J. Crust. Biol. 13(3): 523-531.
- Hartnoll, R. G. 1968. Morfology of the genital ducts in female crabs. J. Linn. Soc. (Zool.), (47): 279-300.
- Hill, K. 2001. "*Cardisoma guanhumi*". Disponível em: <http://www.sms.si.edu/IRLSpec/Cardis_guanhu.htm>. Acesso em: 20 de outubro de 2007.
- Hinsch, G. W. 1986. A comparison of sperm morphology, transfer and sperm mass storage between tow species of crab, *Ovallipes ocellatus* and *Libinia marginata*. International Journal of Invertebrate Reproduction, Rehobot, (10): 79-87.
- Johnson, P. T. 1980. Histology of the blue crab *Callinectes sapidus*: a model for the decapoda. New York, praeger. 440p.
- Junqueira, L. C; Junqueira, L. M. M. S. 1983. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Livraria e Editora Santos, 123p.
- Lee, T.-H. and Yamazaki, F. 1990. Structure and function of a special tissue in the female genital ducts of the Chinese freshwater crab *Eriocheir sinensis*. Biological Bulletin (178): 94-100.
- Lloyd, R. 2001. "The Illusive Great Land Crab". Disponível em: <www.mhhe.com/biosci/pae/marinebiology/casestudies/case_01.mhtml>. Acesso em: 20 outubro de 2007.
- Melo, G. A. S. 1996. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Plêiade, FAPESP, 604p.
- Mendes, L. N. 2004. Reprodução do caranguejo guaiamum, *C. guanhumi* Latreille, 1825 (Crustácea, decapoda) capturado em manguezais do Estado do Ceará. Fortaleza/CE. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca), Universidade Federal do Ceará. 43p.
- Mendes, P.P. 1999. Estatística aplicada à Aqüicultura. Recife-PE. Ed. Bargaço, 265p.
- Minagawa, M. and Sano, M. 1997. Oogenesis and development cycle of the spiny lobster *Panulirus japonicus* (Decapoda: Palinuridae). Mar. Freshwater Res. (48): 875-887.
- Mota Alves, M. I. 1975. Sobre a reprodução do caranguejo uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) em mangues do Ceará (Brasil). Arq Ciências do Mar. 15(2): 85-91.
- Pearse, A. G. E. Histochemistry theoretical and applied, London: Jet. Churchill Ltda, V.2, 965p, 1960.
- Peixoto, S.; Cavalli, R. O.; D'Icao, F.; Milach, A. M. and Wasielesky, W. 2003. Ovarian maturation on wild *Farfatepenaeus paulinsis* in relation to histological and visual changes. Aquaculture Research. (34): 1255-1260.
- Robertson, W.D. and Kruger, A. 1994. Size at maturity, mating and spawning in the portunid crab *Scylla serrata* (Forskål) in Natal, South Africa. Estuarine, Coastal and Shelf Science (29): 533-547.

- Robinson, A., Morrison, J., & Muehrcke, P. 1995. Elements of cartography. 6. ed. [S.l.]: John Wiley & Sons. 674 p.
- Ryan, E. P. 1967. Structure and function of the reproductive system of the crab *Portunus sanguinolentus* (Herbst, 1785) (Brachyura: Portunidae). II. The female system. Proc. Symp. Crustacea Mar. Biol. Asso, India, pp. 522-544.
- Sastry A. N. 1983. Ecological Aspects of Reproduction In. T.H. Watermann. The Biology Crustacea. VII. Environmental adaptations. Acad. Press. New York, New York pp. 179-270.
- Schram, E R. 1986. Crustacea. Oxford University Press, Oxford, 606 p.
- Shaeffer-Novelli, Y. 1995. Manguezal, ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo. Caribbean Ecological Research. 64p.
- Soffiati, A. 2004. “Da mão que captura o caranguejo à globalização que captura o manguezal”. Anais do II Encontro da ANPPAS, São Paulo. 14p.
- Souza, L. P. 2006. Biologia reprodutiva do caranguejo *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustácea: Decapoda: Grapsidae) no manguezal do Rio Ceará (Caucaia-CE): Morfologia do sistema reprodutor feminino. Monografia (Ciências Biológicas)- Universidade Federal do Ceará.
- Tavares, M. 1993. Toward the history of pre-linnean carcinology in Brazil. In: Frank Truesdale. (Org.). History of Carcinology. Leiden: Balkema. (8): 7-29.
- Taissoun, N. E. 1974. El cangrejo de tierra *Cardisoma guanhumí* (Latreille) en Venezuela. Bull. Cent. Inv. Biol. Venezuela. V.10. 41p.
- Tolosa, E. M. C.; Rodrigues, C. J.; Behemer, O. A. and Freitas-Neto, A. G. 2003. Manual de técnicas histológica normal e patológica. Ed. Manole. 331p.
- Weitznam, M. C. 1966. Oogenesis in the tropical land crab, *Gecarcinus lateralis* (Fremenville). Cell and Tissue Research. v. 75, n. 1. p-109-119.
- Zar, J.H. 1984. Biostatistical Analysis. Prentice Hall. Englewood Cliffs.

4.2. Maturação gonadal de machos do caranguejo terrestre *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE).

Shinozaki-Mendes, R. A.^{1,2,3}; Silva, J. R. F.¹; Hazin, F. H. V.²

¹Universidade Federal do Ceará/ Laboratório de Histologia Animal (Av. Mister Hull, s/n Pici - Bloco 909 CEP 60455760 Fortaleza/ CE); ²Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Laboratório de Oceanografia Pesqueira (Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n Dois Irmãos - DEPAq CEP 52171900 Recife/ PE); ³E-mail: renataasm@gmail.com.

Resumo

No presente trabalho, o trato reprodutivo de machos do *C. guanhumi* foi descrito macro e microscopicamente. Os estágios de maturação gonadal foram definidos, descrevendo-se, também, o grau de desenvolvimento das células germinativas. O trato reprodutor é composto por um par de testículos, um par de vasos deferentes e um par de ductos ejaculatórios. As células germinativas foram classificadas, em ordem de maturação, como espermatogônias (diâmetro: $10,5 \pm 1,32 \mu\text{m}$), espermatócitos (diâmetro: $9,6 \pm 0,52 \mu\text{m}$), espermatídes (diâmetro: $5,6 \pm 0,41 \mu\text{m}$, fase inicial, e $4,3 \pm 0,21$, fase final) e espermatozóides (diâmetro: $3,9 \pm 0,09 \mu\text{m}$). O testículo é formado por uma zona germinativa e ductos coletores, que se dirigem ao vaso deferente anterior, composto unicamente por espermatozóides. Na região média, o vaso é mais espesso e contém espermatozóides nos espermatóforos em formação. Na região posterior do vaso há acúmulo de uma matriz glicoprotéica. O vaso deferente se une ao ducto ejaculatório que libera os espermatóforos por meio das papilas penianas. Baseado na descrição do trato reprodutor masculino sugere-se a seguinte classificação quanto ao estágio de maturação gonadal: imaturos: ausência de espermatóforos no vaso deferente posterior; ou maturos: espermatóforos presentes no vaso deferente posterior e ocasionalmente no ducto ejaculatório.

Palavras-chave: manguezal, Brachyura, espermatogênese, biologia reprodutiva.

INTRODUÇÃO

O *Cardisoma guanhumi* é um caranguejo terrestre com significantes adaptações comportamentais, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, que constrói galerias perto do mar, sempre onde a água pode ser alcançada (Melo, 1996). De hábitos noturnos, se distribui no Atlântico Oeste desde a Flórida até São Paulo, no Brasil (Melo, op cit.). A amplitude de sua distribuição é, em grande medida, determinada pela temperatura da água, sendo a sobrevivência das larvas comprometida em áreas onde a mesma é inferior a 20°C (Hill, 2001).

Possui importância comercial na Venezuela (Taissoun,1974), no Caribe e nas Bahamas (Lloyd, 2001), e em Porto Rico (Feliciano, 1962), assim como no Brasil (Botelho, et al. 2001). Como resultado da crescente pressão de consumo, pode-se notar uma captura excessiva da espécie, além da supressão direta e indireta do seu ecossistema (Soffiati, 2004), aspectos que contribuem negativamente para o equilíbrio de sua população.

Em alguns países existem medidas de controle para a captura dos crustáceos braquiúros, como no Brasil e no México, por exemplo, onde são permitidas as capturas somente de indivíduos machos (IBAMA, 2006; SAGARPA, 2006). Um grande declínio de indivíduos do mesmo sexo, no entanto, pode resultar em um desequilíbrio na proporção sexual e na limitação da variabilidade genética. Na Flórida, EUA, as capturas são restritas à coleta manual e ao limite de 20 indivíduos por dia por pessoa (FFWCC, 2002).

Para elucidar o ciclo reprodutivo de qualquer crustáceo, é necessário, inicialmente, se compreender o desenvolvimento das células da linhagem germinativa e como esse processo ocorre ao longo do trato reprodutivo.

Descrições histológicas do trato reprodutor masculino de *Brachyura* foram realizadas, pioneiramente, para *Callinectes sapidus*, por Cronin (1947) e, subsequentemente, por diversos outros autores: Uma e Subramoniam (1979), para *Scylla serrata*; Johnson (1980), para *Callinectes sapidus*; Medina e Rodriguez (1992), para *Uca tangeri*; Moriyasu e Benhalima (1998), para *Chionoecetes opilio*; Anilkumar et al. (1999), para *Metopograpsus messor*;

Gardner e Williams (2002), para *Pseudocarcinus gigas*; Garcia e Silva (2006), para *Goniopsis cruentata*; e Castilho (2006), para *Ucides cordatus*.

No presente trabalho, a dinâmica reprodutiva de machos de *C. guanhumi* foi analisada a partir da descrição macroscópica e microscópica do trato reprodutor, tendo sido caracterizados, também, os estágios de maturação gonadal e os graus de desenvolvimento das células germinativas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coletas

A coleta dos indivíduos foi realizada no estuário do Rio Jaguaribe (04°26'S a 04°32'S e 037°46'W a 037°48'W), município de Aracati, litoral leste do Estado do Ceará, Brasil, junto à localidade do Cumbe, distante cerca de duas milhas da foz (Fig. 1).

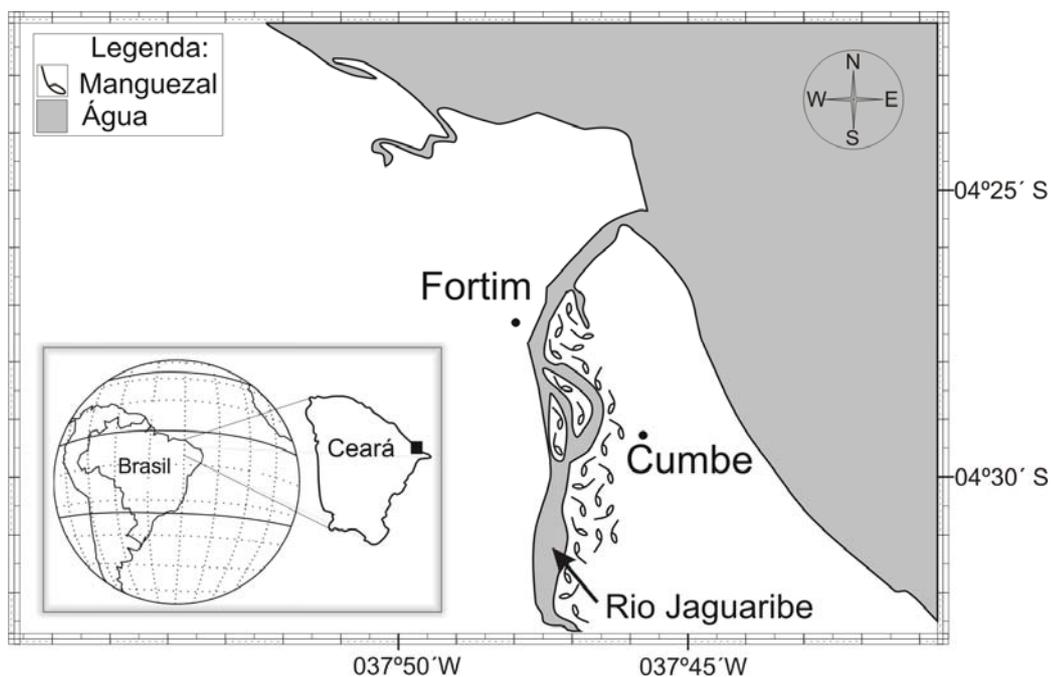


Figura 1: Localização geográfica da área de coleta do *C. guanhumi*.

Os animais foram capturados com armadilhas artesanais colocadas à noite, na abertura das suas tocas, e recolhidas no dia seguinte, pela manhã. Depois de capturados, os indivíduos foram mantidos em congelador à temperatura de -10°C, por 20 minutos ou até a sua

imobilização. Em seguida, os animais foram dissecados, seccionando-se, com esse fim, a sua carapaça lateralmente, de forma a permitir a retirada do trato reprodutivo. No período de 12 meses, entre dezembro de 2006 e novembro de 2007, foram coletados 174 indivíduos, com largura do cefalotórax variando entre 2,84 e 9,22 cm, com uma amostragem mensal média de 15 exemplares.

Processamento dos exemplares

O material coletado foi fixado em solução de Davidson, por 24h, tendo sido, em seguida, conservado em solução de álcool a 70%. Fragmentos do trato reprodutivo de diversas regiões foram, então, submetidos à desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em xilol e impregnação e inclusão em parafina a 60°C. Cada bloco contendo material biológico foi seccionado a 5µm, com as lâminas tendo sido, em seguida, coradas pelos métodos de Azul de Bromofenol (adaptado de Pearse, 1960), para detecção das proteínas totais; Azul de Alcian/ PAS (adaptado de Junqueira e Junqueira, 1983 e de Pearse, 1960), para detecção de glicoproteínas, mucopolissacarídeos ácidos e glicogênio; e Tricrômico de Gomori (adaptados de Tolosa et al. 2003), para diferenciação dos tecidos.

As células germinativas, quando presentes nas secções histológicas, foram classificadas em estágios distintos, com base na forma, na relação núcleo-citoplasma e na reação aos corantes. As células foram também mensuradas quanto ao diâmetro máximo e do núcleo, tendo sido utilizadas para este fim apenas aquelas que apresentaram o núcleo incluído na secção observada.

Para análise do material a fresco, foram coletadas secreções de duas porções do trato reprodutivo: uma proximal e outra distal ao gonópore. A secreção foi disposta sobre lâmina, diluída em água destilada e corada com Trypan Blue.

Tratamento estatístico

Foi utilizada a estatística descritiva para média e variância do diâmetro de 50 células de cada estágio de maturação. Para avaliar se os diâmetros das células e dos núcleos por estágio celular apresentaram diferenças estatisticamente significativas na variância ($p < 0,05$), foi testada a homocedasticidade (teste de Cochran). Como as variâncias se apresentaram de forma não homogênea, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Zar, 1984; Mendes, 1999).

RESULTADOS

Descrição macroscópica.

O aparelho reprodutor masculino de *C. guanhumi* é formado por um par de testículos, vasos deferentes e ductos ejaculatórios, de coloração esbranquiçada, localizados na porção mediana-posterior. Os testículos são bastante delgados, se dispendo de forma convoluta. O testículo esquerdo apresenta a forma da letra “L”, sendo simétrico ao direito (Fig. 2), com a comissura entre os dois lobos se localizando sob o coração.

O vaso deferente se inicia na região após a comissura dos testículos. A porção anterior se apresenta de forma convoluta, conectando-se à porção mediana, que aumenta de diâmetro e se dirige ao gonóporo. Sua porção final apresenta expansões em fundo cego, denominada vaso deferente posterior (VDP). As expansões dispõem-se somente em uma porção lateral do vaso deferente em virtude desta região estar próxima ao esqueleto endofragmal. Na porção posterior do VDP, observa-se o ducto ejaculatório, que apresenta um menor diâmetro, encontrando-se interno ao esqueleto endofragmal e abrindo-se na altura da base do quinto par de pereiópodos. Vistas externamente, essas aberturas, os gonóporos, apresentam uma expansão flexível, desprovida de exoesqueleto, denominada de papila peniana.

Poucas alterações morfológicas do trato reprodutor foram observadas ao longo da maturação. A cor esbranquiçada permanece ao longo de todo o processo, embora o volume tenha variado desde quase imperceptível aos olhos, classificado como não desenvolvido (Fig. 2a), até um tamanho bastante volumoso, classificado como desenvolvido (Fig. 2b).

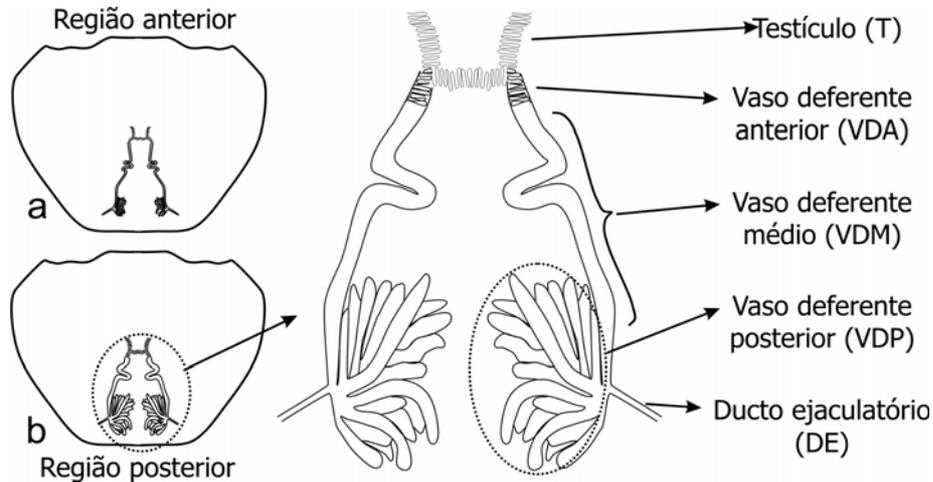


Figura 2: Desenho esquemático da localização do trato reprodutivo masculino no cefalotórax do *C. guanhumi*. Vista dorsal, excluindo-se o dorso da carapaça e demais componentes. Estágios macroscópicos: A: não desenvolvido; B: desenvolvido.

À medida que o animal cresce, o trato reprodutor também acompanha o seu desenvolvimento, embora o vaso deferente se desenvolva de forma mais acentuada do que os testículos.

Descrição microscópica

O trato reprodutor masculino pôde ser dividido em seções funcionais, cujas partes apresentam características distintas, com diferentes proporções de células germinativas (espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides) e demais componentes auxiliares da maturação. Nos machos examinados, com base nos componentes somáticos e germinativos, foi possível diferenciar as seguintes porções:

TESTÍCULO (T) (Fig. 3a):

Região revestida por uma fina camada de epitélio pavimentoso simples. No interior dos ácinos (túbulos) foram observadas células germinativas em diferentes estágios de desenvolvimento: espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides. Em alguns ácinos, observou-se apenas um estágio de desenvolvimento celular, enquanto outros apresentavam uma porção periférica contendo espermatozóides imersos em substâncias positivas ao azul de Alcian. Denominada de ducto coletor, essa seção do aparelho reprodutor masculino possui a função de transferir os espermatozóides para o vaso deferente.

Espermatogônias (EPG) (Fig. 3a): Diâmetro de $10,5 \pm 1,32 \mu\text{m}$. Encontram-se formando ninhos, na região periférica dos ácinos, exibindo núcleo central e conspícuo, em relação ao citoplasma escasso, com cromatina periférica e pouco condensada. O fato do núcleo ter sido corado pelos métodos Alcian/ PAS e Tricrômico de Gomori indica que o mesmo é bastante basófilo. Já o citoplasma exibiu uma reação mais fraca a esses corantes, apresentando um reduzido acúmulo de proteínas, uma vez que foi fracamente corado pelo azul de bromofenol, se comparado com os demais estágios de desenvolvimento.

Espermatócitos (EPC) (Fig. 3a): Diâmetro de $9,6 \pm 0,52 \mu\text{m}$. Preenchendo total ou parcialmente os ácinos, apresentam citoplasma escasso, em relação ao núcleo conspícuo, o qual, por sua vez, localiza-se na região central da célula, exibindo contornos pouco definidos. Possuem cromatina mais condensada em comparação com as espermatogônias, sendo igualmente basófilos, já que se coraram de roxo pelo Azul de Alcian/ PAS e pelo Tricrômico de Gomori, com o núcleo apresentando uma reação mais evidente que o citoplasma.

Espermátides (EPT) (Fig. 3a): Apresentaram-se em dois estágios de desenvolvimento, classificados como inicial (EPTi) e final (EPTf), com diâmetros respectivamente iguais a $5,6 \pm 0,41 \mu\text{m}$ e $4,3 \pm 0,21 \mu\text{m}$. Encontram-se nos ácinos dos testículos, preenchendo-os total ou parcialmente. Exibem uma região acidófila em um pólo, correspondendo ao acrossomo em formação, e o núcleo basófilo no pólo oposto, corando-se de rosa e roxo, respectivamente,

pelo método Azul de Alcian/ PAS. No estágio inicial (EPTi) o acrossomo exibiu um diâmetro menor do que o núcleo, enquanto que no estágio mais avançado, o núcleo apresentou-se diminuto e com o acrossomo mais desenvolvido.

Espermatozóides (EPZ) (Fig. 3): Diâmetro de $3,9 \pm 0,09 \mu\text{m}$. Podem ser encontrados livres nos ácinos testiculares e no vaso deferente anterior. No vaso deferente médio, posterior e no ducto ejaculatório são encontrados como componentes dos espermatóforos. Possuem o formato esférico, com forte acidofilia (Tricrômico de Gomori) e grande quantidade de proteínas, corando-se de azul intenso pelo Azul de Bromofenol.

VASO DEFERENTE ANTERIOR (VDA) (Fig. 3b):

Região revestida por uma espessa camada de epitélio cúbico simples, em cujo interior foram observados apenas espermatozóides que se encontravam envolvidos por uma matriz espermatófórica.

Matriz espermatófórica (ME) (Fig. 3b): substância constituinte do espermatóforo que se encontra livre no ducto coletor dos testículos e no vaso deferente anterior. No vaso deferente médio e posterior, é possível observar os espermatóforos preenchidos pela matriz. Reagem positivamente ao PAS, indicando a presença de polissacarídeos ácidos. Não apresentam caráter protéico já que não reagiram ao azul de bromofenol.

VASO DEFERENTE MÉDIO (VDM) (Fig. 3c, d, e):

Foram observados espermatóforos de diversos diâmetros que reagiram positivamente ao azul de Bromofenol e foram evidenciados pelo Trypan Blue, no exame a fresco. Dentro dos espermatóforos observaram-se espermatozóides envolvidos pela matriz espermatófórica.

Espermatóforo (ETF) (Fig. 3c, d): Cápsula elipsoidal acelular, de caráter protéico, corando-se de azul pelo método azul de bromofenol. Contém em seu interior espermatozóides e a matriz espermatófórica.

VASO DEFERENTE POSTERIOR (VDP) (Fig. 4a, b, c):

Observou-se o acúmulo de substâncias PAS-positivas, provavelmente secretadas pelo epitélio. O revestimento do VDP apresentou caráter protéico, evidenciado pela reação ao Azul de Bromofenol. Em alguns indivíduos, observou-se a presença de espermátóforos também nesta região.

DUCTO EJACULATORIO (DE) (Fig. 4d, e, f):

Apresentou-se revestido externamente por tecido muscular (Fig. 4d), de caráter protéico, corando-se (Fig. 4e) pelo método Azul de Bromofenol. Entre os indivíduos que apresentaram espermátóforos no VDP, apenas poucos exemplares também exibiram a presença dos mesmos no ducto ejaculatório (Fig. 4f).

Estágios de maturação

Baseado na descrição do trato reprodutor masculino sugere-se a seguinte escala de classificação quanto ao estágio de maturidade sexual:

- Imaturos: indivíduos que não apresentam espermátóforos no vaso deferente posterior e no ducto ejaculatório (Fig. 4a, d, e);
- Maturados: indivíduos com espermátóforos no vaso deferente posterior e ocasionalmente no ducto ejaculatório (Fig. 4b, c, f).

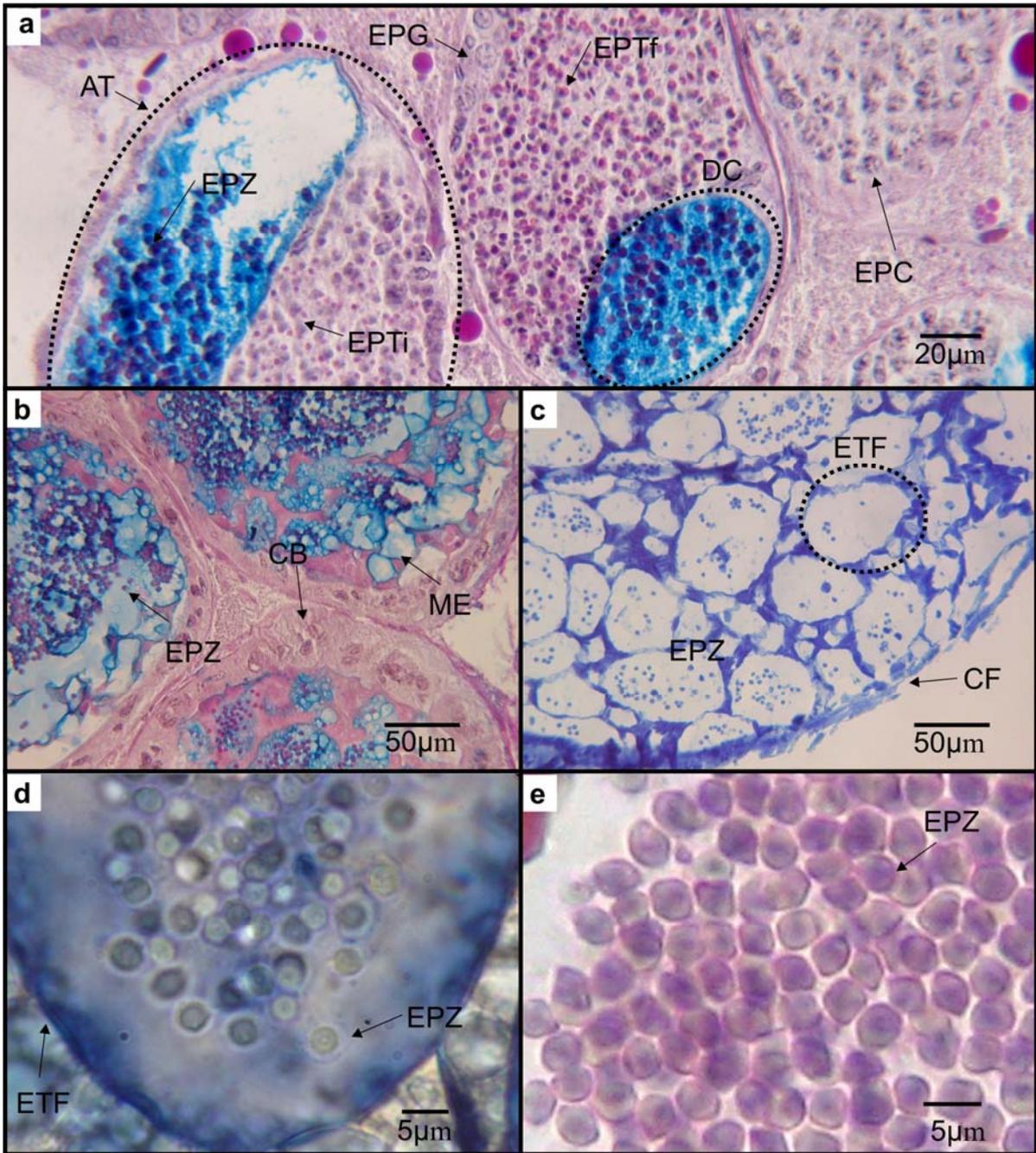


Figura 3: Fotomicrografias do trato reprodutor masculino de *C. guanhumi*. a: testículo; b: Vaso Deferente Anterior (VDA); c, d, e: Vaso Deferente Médio (VDM); EPG: espermatogônia; EPC: espermatócito; EPTi: espermátide na fase inicial; EPTf: espermátide na fase final; EPZ: espermatozóide; ETF: espermatóforo; DC: ducto coletor; CB: células basais; AT: ácino testicular; ME: matriz espermatofórica; CF: cápsula fibrosa. Coloração: (a, b) Azul de Alcian/ PAS, (c) Azul de Bromofenol, (d) Trypan Blue e (e) Tricrômico de Gomori.

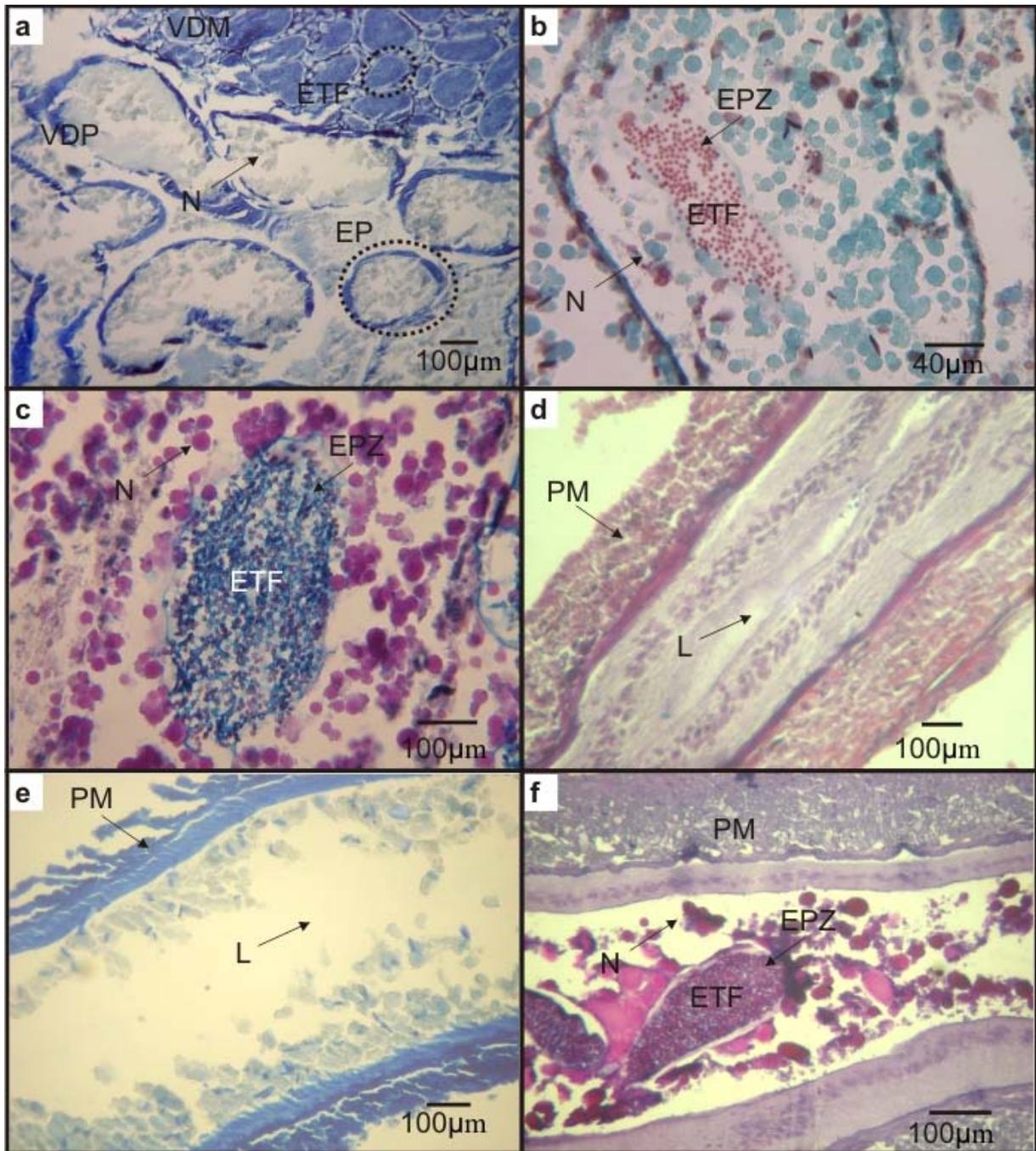


Figura 4: Fotomicrografias do trato reprodutor masculino de *C. guanhumí*. a: Vaso Deferente Médio e Posterior; b, c: Vaso Deferente Posterior (VDP); d, e, f: ducto ejaculatório; VDM: vaso deferente médio; EPZ: espermatozóide; N: Nutriente; EP: ramificação da expansão papiliforme; L: lúmen; ETF: espermatóforo; PM: parede muscular. Coloração: (a, e) Azul de Bromofenol, (b, d) Tricrômico de Gomori e (c, f) Azul de Alcian/ PAS.

Diâmetro das células germinativas

Ao longo do processo de maturação das células germinativas houve uma gradual diminuição nos diâmetros (Fig. 5), com espermatogônias e espermatócitos (semelhantes estatisticamente), característicos do estágio inicial de desenvolvimento, apresentando

dimensões bem maiores, se comparados com os demais estágios ($p < 0,05$). As espermatídes iniciais apresentaram diferenças no diâmetro em relação às demais células (Tabela 1), enquanto que as espermatídes finais e espermatozóides apresentaram menor diâmetro (Fig. 5), sendo semelhantes estatisticamente (Tabela 1). A tendência observada para o diâmetro das células foi acompanhada pelos seus respectivos núcleos, cuja diminuição do diâmetro foi igualmente observada ao longo do desenvolvimento celular.

A relação núcleo-citoplasma demonstra que as espermatogônias, além de serem maiores que as demais células da linhagem germinativa, também possuem o núcleo proporcionalmente maior, indicando que com a diminuição do tamanho celular, há uma maior porcentagem de citoplasma por célula ao longo da maturação (Tabela 1).

Tabela 1: Diâmetro (média \pm variância) das células germinativas masculinas e dos núcleos, em μm , e a relação entre estas duas médias, em porcentagem, para os estágios de desenvolvimento celular encontrados para o *C. guanhumi*, capturado em Aracati/CE.

Estágio celular	N	Diâmetro da célula	Diâmetro do núcleo	DN/ DC (%)
EPG	50	10,5 \pm 1,32 ^{a*}	6,9 \pm 0,86 ^a	65,75 \pm 0,004
EPC	50	9,6 \pm 0,52 ^a	6,4 \pm 0,57 ^a	66,25 \pm 0,003
EPTi	50	5,6 \pm 0,41 ^b	3,0 \pm 0,19 ^b	54,34 \pm 0,003
EPTf	50	4,3 \pm 0,21 ^c	2,0 \pm 0,07 ^c	46,16 \pm 0,004
EPZ	50	3,9 \pm 0,09 ^c	1,7 \pm 0,10 ^c	42,92 \pm 0,006

*: letras diferentes entre as médias apresentam diferenças significativas, utilizando o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). As células e os núcleos foram analisados separadamente.

DISCUSSÃO

A divisão do trato reprodutor em testículo e vaso deferente baseou-se nas descrições realizadas por El-Sherief (1991), segundo o qual os espermatozóides são formados no testículo, seguindo daí para o vaso deferente. Em adição, Cronin (1947) relata que o vaso deferente pode ser dividido em diferentes regiões funcionais envolvidas na síntese da matriz espermatofórica e na produção de espermatozóides. Tais descrições, no entanto, se baseiam em critérios estritamente funcionais, não tendo sido utilizados aspectos morfológicos para a sua classificação. Em contraste, Mouchet (1931) se baseia em desenhos esquemáticos e no estudo

das formas para elucidar as diferentes regiões do trato reprodutor de diversas famílias de crustáceos decápodes.

A disposição do trato reprodutor masculino de *C. guanhumi* no cefalotórax encontrado no presente trabalho é semelhante ao proposto por Kroll (1992) para os decápodes. Também corroborando com os resultados aqui reportados, Moriyasu e Benhalima (1998) descrevem para o majidae *Chionocetes opilio*, um trato reprodutor em forma de “H”, branco e bilateral, sendo formado por um par de testículos e um par de vasos deferentes. Para algumas espécies, entretanto, não se observa comissura, que conforme a letra “H”, como descrito, detalhadamente, por Mouchet (1931), para *Cancer pagurus* (Cancroidea) e *Carcinus maenas* (Portunidae). Acredita-se que a comissura entre os testículos seja uma forma de sincronizar a maturação entre as gônadas esquerda e direita, constituindo-se, possivelmente, em um caráter indicador da proximidade evolutiva.

Wielgus-Serafinska (1976), ao analisar gônadas masculinas de *Orconectes limosus*, cita que após a cópula as gônadas perdem a cor branca-leitosa, tornando-se transparentes. Já Benhalima e Moriyasu (2000) mencionam apenas uma coloração leitosa permanente para o vaso deferente anterior e posterior, semelhante ao presente trabalho.

O testículo de forma convoluta apresentando ácidos testiculares é uma característica comum aos caranguejos, tendo sido a mesma já descrita para diversos Brachyura (Cronin, 1947; Johnson, 1980; Nagao e Munehara, 2003). Corroborando com o presente trabalho, Almeida e Buckup (1999) citaram que as gônadas masculinas são formadas por parede testicular e ácidos, que contêm as células germinativas, e túbulos coletores longitudinais que conduzem os espermatozóides dos ácidos até o vaso deferente.

Pôde-se observar que em alguns ácidos testiculares encontravam-se espermatogônias, espermatozóides no ducto coletor e apenas um estágio intermediário de desenvolvimento, indicando que os mesmos possuem uma zona germinativa, onde se encontram as

espermatogônias, e uma zona de maturação, onde se observou apenas um estágio celular desenvolvido de forma sincrônica.

O desenvolvimento sincrônico das células dentro de cada ácino também foi observado por Johnson (1980) e Nagao e Munehara (2003). Embora nas secções histológicas tenha sido observado apenas um estágio, acredita-se que em outra região deste ácino, se encontram as espermatogônias, que irão dar início ao novo ciclo germinativo, após a liberação destas células pelo ducto coletor, ao ser concluído o processo de maturação. Em adição, Minagawa et al. (1994) citam que as células germinativas estão sempre presentes, mesmo após a maturação.

Diferentemente do resultado encontrado por Johnson (1980) para o *Callinectes sapidus*, cujas zonas que contêm as espermatogônias situam-se próximas ao ducto coletor, de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, para o *C. guanhumi* as mesmas se localizam em pólos opostos, no corte transversal do ácino testicular (Fig. 3a).

Medina e Rodríguez (1992), utilizando microscopia eletrônica, descreveram os espermatozoides de Brachyura como sendo células com cromatina descondensada e um largo acrossomo. Já Wielgus-Serafinska (1976) cita, para *O. limosus*, a presença de cinco a oito braços radiais, geralmente seis; enquanto que Hinsch (1973) reportou para a superfamília Oxyrhyncha, um espermatozoide com três braços radiais, embora esse número possa variar com a espécie. Da mesma forma que Medina e Rodríguez (1992), ambos os autores utilizaram microscopia eletrônica. No caso do *C. guanhumi*, contudo, examinado no presente trabalho, mesmo realizando-se o exame a fresco, os braços radiais nos espermatozoides não ficaram evidentes.

Wielgus-Serafinska (1976) reportaram uma região do citoplasma dos espermatozoides que não reagiu aos corantes Feugen e Hematoxilina, sugerindo tratar-se de um vacúolo. Entretanto, as descrições das células e os desenhos esquemáticos utilizados pelo autor, sugerem que esta porção seja similar à porção do citoplasma fortemente acidófila encontrada

no presente trabalho. Esta afirmação se baseia no fato do vacúolo ocupar uma pequena região periférica da espermatíde I, aumentando de tamanho no estágio seguinte (espermatíde II), até ocupar, nos espermatozóides, a maior parte da célula, quando vista lateralmente (excetuando-se os braços radiais). O mesmo autor relata a disposição do núcleo na periferia das espermatídes, característica que também foi descrita por Lima (1995), para a lagosta *Panulirus laevicauda*.

O espermatóforo é uma cápsula formada por uma parede acelular (Moriyasu e Benhalima, 1998) imersa numa secreção heterogênea, PAS positiva, contendo áreas alcian-positivas (Johnson, 1980). Esta substância, citada por Johnson (*op cit.*) e encontrada no *Callinectes sapidus*, se assemelha à substância encontrada no vaso deferente posterior do *C. guanhumi*. Sainte-Marie e Sainte-Marie (1999) citam, ainda, que a parede do espermatóforo atua na proteção dos espermatozóides ali contidos, contra substâncias presentes na espermateca da fêmea.

A formação dos espermatóforos de *C. guanhumi* se inicia no VDA, se assemelhando, microscopicamente, à de *Chionoectes opilio* capturado no Canadá (Benhalima e Moriyasu, 2000), uma vez que a formação da matriz espermatofórica, na referida espécie, parece se iniciar também nessa seção do trato reprodutivo.

A determinação do estágio maturacional com base na presença/ ausência de espermatóforos no vaso deferente se fundamenta no fato dos espermatozóides serem invariavelmente armazenados em espermatóforos antes de serem transferidos para a fêmea no acasalamento, sendo tal princípio utilizado na maioria dos estudos realizados com crustáceos (Anilkumar et al. 1999; Hartnoll, 1969; Goshima et al. 2000; Gardner e Williams, 2002).

Nagao e Munehara (2003) classificaram os indivíduos, quanto à maturidade, em seis estágios, baseando-se na porcentagem de lóbulos contendo células em cada estágio de maturação. É provável que este método seja eficaz para analisar a variação sazonal da

maturidade, não sendo capaz, entretanto, de identificar aqueles indivíduos fisiologicamente aptos à reprodução, ou seja, que já possuem espermátóforos no VDP.

Ainda quanto aos estágios de maturação, alguns indivíduos apresentaram reduzida quantidade de espermatozóides no vaso deferente médio (Fig. 3c), podendo indicar um estágio inicial de maturação, no qual os espermatozóides estariam sendo ainda formados.

O diâmetro das células e de seus respectivos núcleos para diferentes espécies entre os Reptantia (Tabela 2) tem sido mensurado por diversos autores: Mota-Alves e Tomé (1966), para *Panulirus laevicauda*; Wielgus-Serafinska (1976), para *O. limosus*; Johnson (1980), para *C. sapidus*; Medina e Rodríguez (1992), para *Uca tangeri*; Nagao e Munehara (2003), para *Telmessus cheiragonus*; Castilho (2006), para *Ucides cordatus*; e Rodrigues (2007), para *P. argus*. Apesar dos diâmetros das células da linhagem germinativa apresentarem ampla variação, os valores obtidos seguem sempre uma tendência de redução ao longo do processo maturacional, exceto para *Orconectes limosus*, conforme relatado por Wielgus-Serafinska (1976), que descreveram um incremento do diâmetro na fase inicial do espermatócito, tornando a diminuir nos estágios subseqüentes.

Os caracteres do trato reprodutor aqui analisados, como morfologia e desenvolvimento de células da linhagem germinativa, corroboram a hipótese de monofilia dos Brachyura (Schram, 1986).

Tabela 2: Diâmetro médio das células e núcleos de espermatogônias (EPG), espermatócitos (EPC), espermatídes (EPT) e espermatozóides (EPZ), citados por diversos autores.

	Diâmetro da célula (μm)	Diâmetro do núcleo (μm)	Família	Autor
EPG	8 e 8,5	6,8	Astacidae	Wielgus-Serafinska (1976)
		10 a 13	Portunidae	Johnson (1980)
		$9,9 \pm 1,3$	Cheiragonidae	Nagao e Munehara (2003)
	8		Ocypodidae	Castilho (2006)
	14	10	Palinuridae	Rodrigues (2007)
	$10,5 \pm 1,32$	$6,9 \pm 0,86$	Gecarcinidae	Presente trabalho
EPC	(I) 17,6 (II) 8,5 a 9	(I) 14 a 16 (II) 7 a 7,5	Astacidae	Wielgus-Serafinska (1976)
		$9,4 \pm 1,1$	Cheiragonidae	Nagao e Munehara (2003)
	7		Ocypodidae	Castilho (2006)
	7	5	Palinuridae	Rodrigues (2007)
	$9,6 \pm 0,52$	$6,4 \pm 0,57$	Gecarcinidae	Presente trabalho
EPT	6,1	2	Palinuridae	Mota e Tomé (1966)
		5 a 7	Astacidae	Wielgus-Serafinska (1976)
	6		Ocypodidae	Medina e Rodríguez (1992)
		$4,2 \pm 0,6$	Cheiragonidae	Nagao e Munehara (2003)
	5		Ocypodidae	Castilho (2006)
		3	Palinuridae	Rodrigues (2007)
	(I) $5,6 \pm 0,41$ (II) $4,3 \pm 0,21$	(I) $3,0 \pm 0,19$ (II) $2,0 \pm 0,07$	Gecarcinidae	Presente trabalho
EPZ	3		Ocypodidae	Castilho (2006)
		2	Palinuridae	Rodrigues (2007)
	$3,9 \pm 0,09$	$1,7 \pm 0,10$	Gecarcinidae	Presente trabalho

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, A. O.; Buckup, L. 1999. Caracteres sexuais primários e secundários do lagostim *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea: Parastacidae). Nauplius, Rio Grande. 7. 113-126.
- Anilkumar, G; Sudha, K; Subramoniam, T. 1999. Spermatophore transfer and sperm structure in the brachyuran crab *Metopograpsus messor* (Decapoda: Grapsidae) Journal of Crustacean Biology, 19(2). 361 – 370.
- Benhalima, K. Moryatsu, M. 2000. Structure and function of the posterior vas deferens of the snow crab *Chionoecetes opilio* (Brachyura, majidae). Invertebrate Reproduction and development, v. 37, n. 1, p. 11-23.
- Botelho, E.R.O.; Santos, M.C.F.; Souza, J.R.B. 2001. Aspectos populacionais do guaíamum, *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1825, do estuário do Rio Una (Pernambuco - Brasil). Bol. Téc. Cient. CEPENE, Tamandaré, v. 9, n. 1, p. 123-146.
- Castilho, G. G. 2006. Aspectos reprodutivos do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L.) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), na Baía de Antonina, Paraná, Brasil. 119p. Dissertação. Universidade Federal do Paraná.
- Cronin, L. E. 1947. Anatomy and histology of the male reproductive system of the *Callinectes sapidus*, Rathbun. J. Morphol., 81: (2), 209-239.
- El-Sherief, S. S. 1991. Fine structure of the sperm and spermatophores of *Portunus pelagicus* (L.) (Decapoda, Brachyura). Crustaceana, 61 (3), 171- 179.
- FFWCC. 2002. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission.
- Feliciano, C. 1962. Notes on the biology and economic importance of the land crab *Cardisoma guanhumi* Latreille of Puerto Rico. Porto Rico: University of Puerto Rico, 1962. (Spec.Contr. Inst. of Marine Biol.) University of Puerto Rico.
- Garcia, T. M. And Silva, J. R. F. 2006. Testis and Vas Deferens Morphology of the Red-clawed Mangrove Tree Crab (*Goniopsis cruentata*) (Latreille, 1803) Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol.49 (2). 339-345.
- Gardner, C. E Williams, H. 2002. Maturation in the giant crab, *Pseudocarcinus gigas*, and the potential for sperm limitation in the Tasmania fishery. Mar. freshwater Res. n 53, p 661-667.
- Goshima, S.; Kanazawa, M.; Yoshino, K.; Wada, S. 2000. Maturity in male stone crab *Hapalogaster dentate* (Anomura: Lithodidae) and its application for fishery management. Journal of crustacean biology. 20 (4): 641-646.
- Hartnoll, R.G. 1969. Mating in Brachyura. Crustaceana, v. 16, p. 161-181.
- Hill, K. "*Cardisoma guanhumi*". 2001. Disponível em: <http://www.sms.si.edu/IRLSpec/Cardis_guanhu.htm>. Acesso em: 20 de outubro de 2007.
- Hinsch, G. W. 1973. Sperm structure of Oxyrhyncha. Can J. Zool. 51: 421-426.
- IBAMA. 2006. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais. Instrução Normativa nº 90, de 02 de fevereiro de 2006.

- Johnson, P. T. 1980. Histology of the blue crab *Callinectes sapidus*: a model for the decapoda. New York, praeger.
- Junqueira, L. C; Junqueira, L. M. M. S. 1983. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Livraria e Editora Santos, 123p.
- Kroll, R. M.; Hawkins, W. E. And Overstreet, R. M. 1992. Reproductive Components. In: Harrison, F. W. and Humes, A. G. Microscopic Anatomy of Invertebrates. v. 10: Decapod Crustacea. Wiley-Liss, Inc.
- Lima. A. V. P. 1995. Estudo do Sistema Reprodutivo de machos da Lagosta verde *Panulirus laevicauda* (LATREILLE, 1817) (DECAPODA: PALINURIDAE). 200 ff. Dissertação, Universidade Federal da Paraíba, Brasil.
- Lloyd, R. "The Illusive Great Land Crab". 2001. Disponível em: <www.mhhe.com/biosci/pae/marinebiology/casestudies/case_01.mhtml>. Acesso em: 20 outubro de 2007.
- Medina, A., And A. Rodriguez. 1992. Spermiogenesis and sperm structure in the crab *Uca tangeri* (Crustacea, Brachyura), with special reference to the acrosome differentiation. Zoomorphology 111. 161-165.
- Melo, G. A. S. 1996. Família Gecarcinidea. In: Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Ed. Plêiade. P-480 a 481.
- Mendes, P.P. 1999. Estatística aplicada à Aqüicultura. Recife-PE. Ed. Bargaço, 265p.: il.
- Minagawa, M.; Chiu, J. R.; Kudo, M.; Takashima, F. 1994. male reproductive biology of the red frog crab, *Ranina ranina*, off Hachijyojima, Izu Island, japan. Mar. Biol. 118: 393-401.
- Moriyasu, M. e K. Benhalima, 1998. Snow crab, *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius, 1788) (Crustacea: Majidae) have two types of spermatophore: hypotheses on the mechanism of fertilization and population reproductive dynamics in the southern Gulf of St. Lawrence, Canada. Journal of natural History. 32, 1651-1665.
- Mota-Alves, M. I., Tomé, G. S. 1966. Observações sobre a origem e desenvolvimento da massa espermatofórica de *Panulirus laevicauda* (Latr.). Arquivo da estação de Biologia marinha, v.6, n.1, p.99-102.
- Mouchet, S. 1931. Spermatophores des Crustacés Décapodes Anomoures et Brachyours et castration parasitaire chez quelques Pagures. Theses – Faculté des Sciences de Paris.
- Nagao, J. Munehara, H. 2003. Annual cycle of testicular maturation in the helmet crab. *Telmessus cheiragonus*. Fisheries Science. 69. 1200-1208.
- Pearse, A. G. E. 1960. Histochemistry theoretical and applied, London: Jet. Churchill Ltda, V.2, 965p.
- Rodrigues, F. C. L. 2007. Morfologia do sistema reprodutor masculino da lagosta espinhos A *Panulirus argus* (Latreille, 1804) (Crustacea: Decapoda: Palinuridae) do litoral do Estado do Ceará. 87p. Dissertação. Universidade Federal do Ceará.
- SAGARPA. 2006. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Diário Oficial.

- Sainte-Marie, G. And Sainte-Marie, B. 1999. Reproductive products in the adult snow crab (*Chionoecetes opilio*). I. Observations on spermatogenesis and spermatophore formation in the vas deferens. *Can. J. Zool.*, 77, 440-450.
- Schram, E R. 1986. *Crustacea*. Oxford University Press, Oxford, 606 p.
- Soffiati, A. 2004. “Da mão que captura o caranguejo à globalização que captura o manguezal”. *Anais do II Encontro da ANPPAS*, São Paulo.
- Taissoun, N. E. 1974. El cangrejo de tierra *Cardisoma guanhumii* (Latreille) en Venezuela. *Bull. Cent. Inv. Biol. No. 10 Venezuela*. 41p.
- Tolosa, E. M. C.; Rodrigues, C. J.; Behemer, O. A.; Freitas-Neto, A. G. 2003. Manual de técnicas histológica normal e patológica. 331p,
- Uma, K. And Subramoniam, T. 1979. Histochemical characteristics of spermatophore layers of *Scylla serrata* (Forsk.) (Decapoda: Portunidae). *Int. J. Invert. Reprod.*, 1, 31-40.
- Wielgus-Serafinska, E. 1976. Morfological and histological changes in the male gonad of the american crayfish *Orconectes limosus* (Rafinesque) in annual cycle. *Acta biologica Crancoviensa, Zoologia*. V. 19, p.87-105.
- Zar, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. Englewood Cliffs.

4.3. Ciclo reprodutivo do caranguejo terrestre *Cardisoma guanhumí* Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE) no Ceará, Brasil.

Shinozaki-Mendes, R. A.^{1,2,3}; Silva, J. R. F.¹; Santander-Neto, J.¹; Hazin, F. H. V.²

¹Universidade Federal do Ceará/ Laboratório de Histologia Animal (Av. Mister Hull, s/n Pici- Bloco 909 CEP 60455760 Fortaleza/ CE); ²Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Laboratório de Oceanografia Pesqueira (Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n Dois Irmãos - DEPAq CEP 52171900 Recife/ PE); ³E-mail: renataasm@gmail.com.

Resumo

O ciclo reprodutivo de *C. guanhumí* foi descrito a partir da análise da variação sazonal dos estágios de maturação gonadal, determinando-se as medidas morfométricas de primeira maturação fisiológica e morfológica para ambos os sexos, assim como o tamanho em que ocorre a muda puberal, além de alguns aspectos do dimorfismo sexual para a população estudada. Foram analisados 353 indivíduos, no período entre dezembro de 2006 e novembro de 2007, capturados na área de manguezal do estuário do Rio Jaguaribe, Ceará, Brasil. A proporção sexual média foi de 1:1,02 (machos:fêmeas), não havendo diferença estatística entre o número de machos e fêmeas ($p \geq 0,05$) ao longo dos meses. A largura do cefalotórax das fêmeas variou de 4,34 a 8,56 cm e dos machos entre 2,84 e 9,22 cm. As regressões lineares entre a largura e o comprimento do cefalotórax (LC x CC) de machos e fêmeas, não apresentaram diferenças estatísticas significantes ($p \geq 0,05$), tendo se obtido, por conseguinte, a equação $CC = 0,829LC - 0,106$ ($R^2 = 0,9446$) para os sexos agrupados. O período reprodutivo das fêmeas se estendeu de agosto a fevereiro, com maior frequência em novembro e dezembro. Fêmeas ovíferas foram observadas de novembro a fevereiro. Entre os machos, 37,5% eram imaturos e 62,5% eram maduros, não se constatando uma sazonalidade nesta proporção. A largura do cefalotórax de primeira maturação sexual para as fêmeas foi igual a: $L_{50\text{-morfométrico}} = 6,12$ cm; $L_{50\text{-fisiológico}} = 5,87$ cm, enquanto que para os machos, esses valores foram iguais a 6,91 cm e 6,22, respectivamente. O tamanho da muda puberal, por sua vez, foi igual a 6,20 cm e 7,10 cm para fêmeas e machos, respectivamente.

Palavras-chaves: ciclo reprodutivo, sazonalidade, maturação, muda puberal.

INTRODUÇÃO

O *Cardisoma guanhumi*, caranguejo terrestre conhecido vulgarmente como guaiamum ou goiamum, possui hábitos noturnos (Melo, 1996), apresentando distribuição circumequatorial. No Atlântico Oeste ocorre em todos os estuários do Caribe, América Central e América do Sul (Burggren & McMahon, 1988), enquanto que nos Estados Unidos, a sua distribuição está limitada ao Golfo do México e à Flórida (Hill, 2001). A amplitude de sua distribuição é determinada pela temperatura, uma vez que a sobrevivência das larvas é comprometida em áreas onde a temperatura é inferior a 20°C (Hill, *op. cit.*).

Bastante consumido em diversos países, entre os quais o Brasil, o *C. guanhumi* apresenta um elevado valor comercial, constituindo-se em um recurso pesqueiro de grande relevância sócio-econômica. Um importante parâmetro para se assegurar a sustentabilidade de exploração de qualquer estoque pesqueiro é o tamanho de primeira maturação sexual, L_{50} , no qual 50% da população se encontra apta à reprodução. Com base no mesmo, é comum se estabelecer, como medida de ordenamento, o tamanho mínimo de captura, no intuito de se assegurar a reprodução e o conseqüente recrutamento. Uma outra medida muito utilizada no caso dos caranguejos terrestres é a restrição das capturas aos indivíduos do sexo masculino, uma vez que um único macho é capaz de copular e fecundar diversas fêmeas.

Alguns países possuem legislações direcionadas para esta espécie. No Brasil, a legislação vigente para o *C. guanhumi* determina o tamanho mínimo de captura para diversos Estados, além de determinar períodos de defeso e restrição das capturas aos machos (IBAMA, 2003; 2006). Na Flórida, EUA, as capturas são limitadas a 20 indivíduos por dia por pessoa (FFWCC, 2002). No México, além da determinação de um período de defeso e limitação das capturas aos indivíduos machos da população, recomenda-se o fomento aos estudos acerca da espécie, de forma a melhor fundamentar as medidas de ordenamento pesqueiro (SAGARPA, 2006).

Apesar de sua grande relevância ecológica e sócio-econômica, no Brasil, poucos estudos foram desenvolvidos acerca da reprodução do guaiamum. Na região sudeste, Silva e Oshiro (2002) avaliaram aspectos da reprodução do *C. guanhum* baseado na análise macroscópica das gônadas femininas; enquanto na região Nordeste, Botelho et al. (2001) analisaram aspectos populacionais; e Abrunhosa *et al.* (2000) desenvolveram o cultivo do ovo ao juvenil.

Em outros países, destacam-se os trabalhos sobre a biologia geral de *C. guanhum*, desenvolvidos por Gifford (1962), na Flórida, Estados Unidos; e sobre aspectos gerais da espécie, na Venezuela, por Taissoun (1974). Giménez e Acevedo (1991) estudaram as relações morfométricas e tamanho de primeira maturação, em Cuba, enquanto Rivera (2005) realizou análises do ponto de vista da espécie como um recurso pesqueiro, no México.

O estudo de maturação gonadal, embasado na análise histológica das gônadas é um importante método de determinação de maturidade, uma vez que, a proporção de células germinativas encontradas em cada ovário ou testículo, além dos componentes somáticos, determinam os estágios de desenvolvimento do órgão, proporcionando a compreensão do ciclo reprodutivo da espécie.

Estudos sobre a maturidade de espécies que sofrem impactos antrópicos, tanto pela excessiva captura de exemplares, quanto pela destruição do seu ecossistema, se tornam relevantes uma vez que os resultados obtidos podem ser utilizados na proteção da população, no intuito de assegurar a sustentabilidade de sua exploração.

No presente trabalho, o ciclo reprodutivo do guaiamum, *C. guanhum*, foi descrito a partir da análise da variação sazonal dos estágios de maturação gonadal, determinando-se o tamanho de primeira maturação fisiológica e morfológica para ambos os sexos, assim como alguns aspectos do dimorfismo sexual para a população estudada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta

A coleta dos indivíduos foi realizada na área de manguezal do estuário do Rio Jaguaribe ($04^{\circ}26'S$ a $04^{\circ}32'S$ e $037^{\circ}46'W$ a $037^{\circ}48'W$), município de Aracati, litoral leste do Estado do Ceará, situando-se próximo à localidade do Cumbe (Fig. 1).

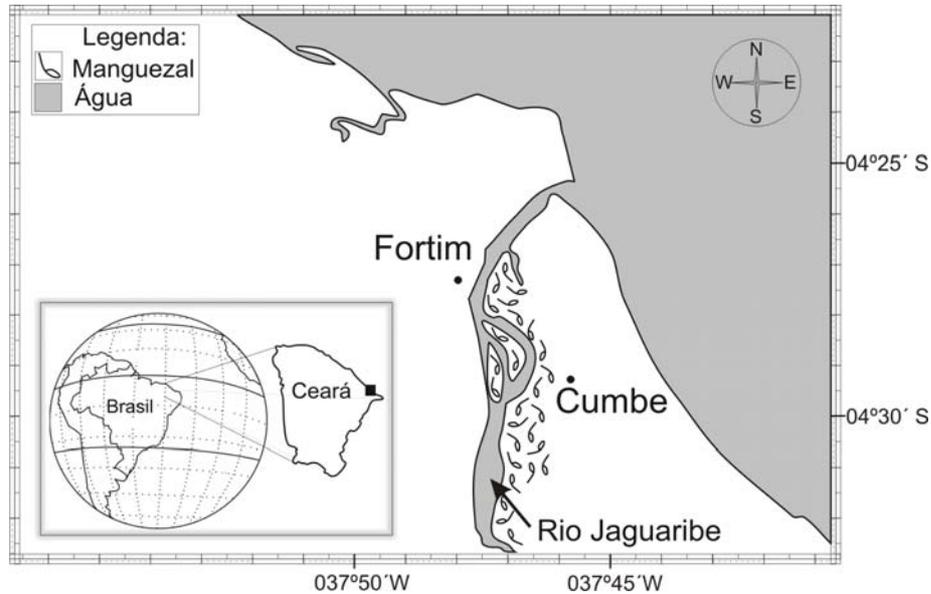


Figura 1: Localização geográfica da área de coleta do *C. guanhumi*.

No período entre dezembro de 2006 e novembro de 2007, foram coletados 353 indivíduos, totalizando uma amostragem mensal média de 30 exemplares. Todos os animais foram capturados com armadilhas artesanais, confeccionadas pelos catadores, denominadas “ratoeiras”. Os espécimes de *C. guanhumi* constroem galerias individuais, denominadas tocas, onde habitam. A escolha das tocas em que foram deixadas as armadilhas se deu de forma inteiramente casualizada, não havendo preferência por tocas de maior ou menor diâmetro. Antes da dissecação dos exemplares coletados, os indivíduos foram mantidos em refrigerador à temperatura de $-10^{\circ}C$ por 20 minutos, ou até a imobilização dos mesmos.

2.2. Morfometria

Os indivíduos foram mensurados com paquímetro (precisão: 0,01 cm) quanto ao comprimento (CC) e largura (LC) do cefalotórax, comprimento (CQ) e largura (LQ) da maior

quela (do primeiro pereiópodo direito ou esquerdo) e largura do 5º (L₅) e 4º (L₄) segmentos abdominais.

Para determinação da maturidade morfométrica, machos e fêmeas foram classificados como segue:

- Fêmea imatura: o abdômen não recobre todos os esternitos torácicos;
- Fêmea madura: abdômen recobre todos os esternitos torácicos (atingindo a base da coxa);
- Macho imaturo: o comprimento do quelípodo é inferior à largura do cefalotórax;
- Macho maduro: o comprimento do quelípodo ultrapassa a largura do cefalotórax;

2.3. Histologia

Os animais foram dissecados, seccionando-se a carapaça lateralmente, de forma a permitir a retirada do trato reprodutivo. O material coletado foi fixado em solução de Davidson, por 24h, tendo sido, em seguida, conservado em solução de álcool a 70%. Fragmentos do trato reprodutivo de diversas regiões foram, então, submetidos à desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em xilol e impregnação e inclusão em parafina a 60°C. Cada bloco contendo material biológico foi seccionado a 5µm, com as lâminas tendo sido, em seguida, coradas pelos métodos de Azul de Bromofenol (adaptado de Pearse, 1960), para detecção das proteínas totais; Azul de Alcian/ PAS (adaptado de Junqueira & Junqueira, 1983, e de Pearse, 1960), para detecção de glicoproteínas, mucopolissacarídeos ácidos e glicogênio; e Tricrômico de Gomori (adaptados de Tolosa et al. 2003), para diferenciação dos tecidos.

As fêmeas, a partir das análises microscópicas das secções das gônadas, foram classificadas como: Imaturas, em maturação, madura, em recuperação ou em repouso, baseado na escala de maturação gonadal de fêmeas de *C. guanhumí* proposta por Shinozaki-Mendes et al. (2008a, in review). Os machos foram classificados como imaturos ou maduros, com base

na escala de maturação gonadal de machos de *C. guanhumí* proposta por Shinozaki-Mendes et al. (2008b, in review).

2.4. Análise estatística

Para avaliar se machos e fêmeas apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nas relações LC x CC foi realizado o teste “t de student” de comparação de retas (Zar, 1984; Mendes, 1999). Para correlacionar essas duas variáveis, foram testados os modelos linear ($Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon_i$), potencial ($Y = \phi X^\theta + \varepsilon_i$) ou exponencial ($Y = \phi e^{\theta x} + \varepsilon_i$), escolhendo-se aquele que apresentou a melhor aderência aos dados (maior R^2).

Para analisar se a proporção entre machos e fêmeas apresentou diferenças estatísticas, foi utilizado o teste de qui-quadrado ($p < 0,05$), para o período de 12 meses consecutivos.

Para determinação do tamanho de primeira maturação funcional e gonadal, tamanho no qual 50% dos indivíduos encontram-se aptos à reprodução, foi utilizada a frequência relativa de indivíduos que já iniciaram o ciclo reprodutivo em cada classe de largura de carapaça (LC), através do modelo complementar Log-Log: $Mf = \frac{1}{1 + e^{(\beta_0 + \beta_1 LC)}}$ (Mendes,

1999), onde Mf é a fração dos indivíduos aptos à reprodução.

Foi ainda determinado o tamanho em que ocorre a muda puberal através da determinação do ponto de inflexão da curva na relação LC x L_4 para as fêmeas, e LC x CQ, para os machos.

2.5. Pluviometria

Para correlacionar possíveis influências dos fatores abióticos na época de reprodução, foram obtidos dados de pluviometria, da Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME, 2008), para o período entre Dez./06 e Nov./07 no posto de Aracati.

3. RESULTADOS

Foram analisados 179 exemplares fêmeas e 174 machos. A proporção sexual mensal variou de 1: 0,55 a 1: 1,75 (machos:fêmeas) (Tabela 1), com uma proporção média de 1:1,02. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o número de machos e fêmeas ($p \geq 0,05$) ao longo dos meses, indicando não haver sazonalidade na proporção de indivíduos de diferentes sexos.

Tabela 1: Número de indivíduos coletados mensalmente no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

Mês/ano	Nº. de indivíduos		Proporção
	♂	♀	
Dez./06	12	14	1 : 1,17
Jan./07	14	16	1 : 1,14
Fev./07	10	9	1 : 0,90
Mar/07	20	11	1 : 0,55
Abr./07	19	12	1 : 0,63
Mai./07	11	19	1 : 1,73
Jun./07	8	14	1 : 1,75
Jul./07	17	15	1 : 0,88
Ago./07	16	13	1 : 0,81
Set/07	11	11	1 : 1,00
Out./07	13	22	1 : 1,69
Nov./07	23	23	1 : 1,00
Total	174	179	1 : 1,02

A largura do cefalotórax das fêmeas variou de 4,34 a 8,56 cm, com uma moda no intervalo de classe entre 5,0 e 7,0 cm (Fig. 2). Os machos apresentaram uma maior amplitude, variando de 2,84 a 9,22 cm, com uma moda, entre 5,0 e 6,5 cm.

As regressões entre LC e CC de machos e fêmeas não apresentaram diferenças estatísticas ($p \geq 0,05$), tendo sido construída, por conseguinte, a equação $CC = 0,829LC - 0,109$ ($R^2 = 0,9434$), para os sexos agrupados.

A relação entre a largura do cefalotórax e o comprimento da quela (CQ), por sua vez, apresentou diferença estatística para os sexos ($p < 0,05$), tendo sido geradas as seguintes equações para fêmeas e machos, respectivamente: $CQ = 0,6178e^{1,1787LC}$ ($R^2 = 0,9326$) e $CQ = 0,4002e^{1,4776LC}$ ($R^2 = 0,9555$). Ambos os sexos apresentaram alometria positiva ($\theta > 1$), embora os machos tenham apresentado um maior incremento do tamanho da quela em relação ao cefalotórax.

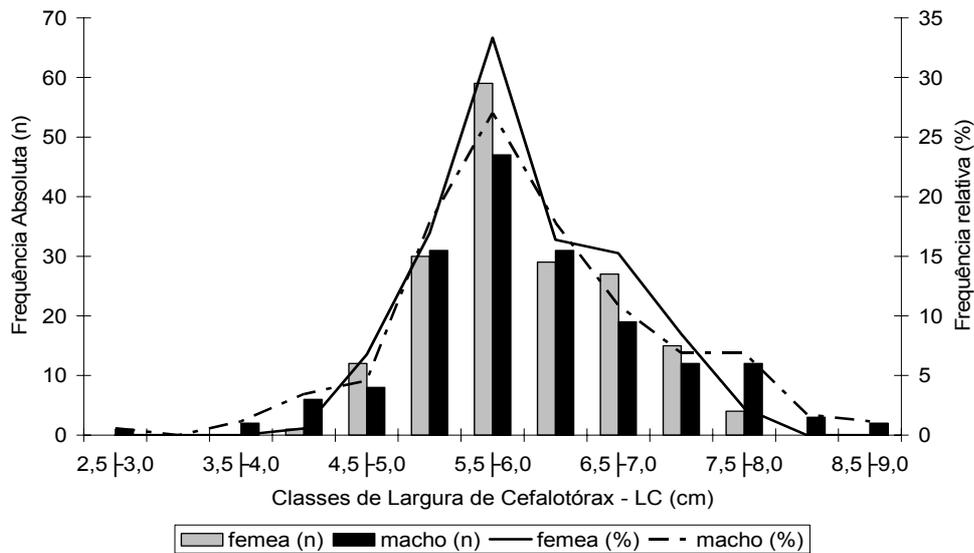


Figura 2: Distribuição de frequência absoluta e relativa de largura do cefalotórax (LC), para machos e fêmeas de *C. guanhumí* capturados entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

A relação entre LC e a largura do 4º segmento abdominal apresentou diferença estatística para os sexos ($p < 0,05$), tendo sido construídas as seguintes equações, para fêmeas e machos, respectivamente: $L_4 = 0,5448LC - 0,4776$ ($R^2 = 0,8493$) e $L_4 = 0,2746LC + 0,117$ ($R^2 = 0,9303$),

A relação entre a diferença da largura do abdômen no quarto e no quinto segmento e a largura do cefalotórax (Fig. 3) apresentou para as fêmeas um coeficiente de Pearson negativo ($R = -0,651$) e para os machos, um coeficiente positivo ($R = 0,746$). O ponto de interseção das retas se localiza na largura do cefalotórax igual a 1,94 cm, ou seja, para indivíduos com LC menor que este valor, não é possível a diferenciação sexual baseada no formato do abdômen.

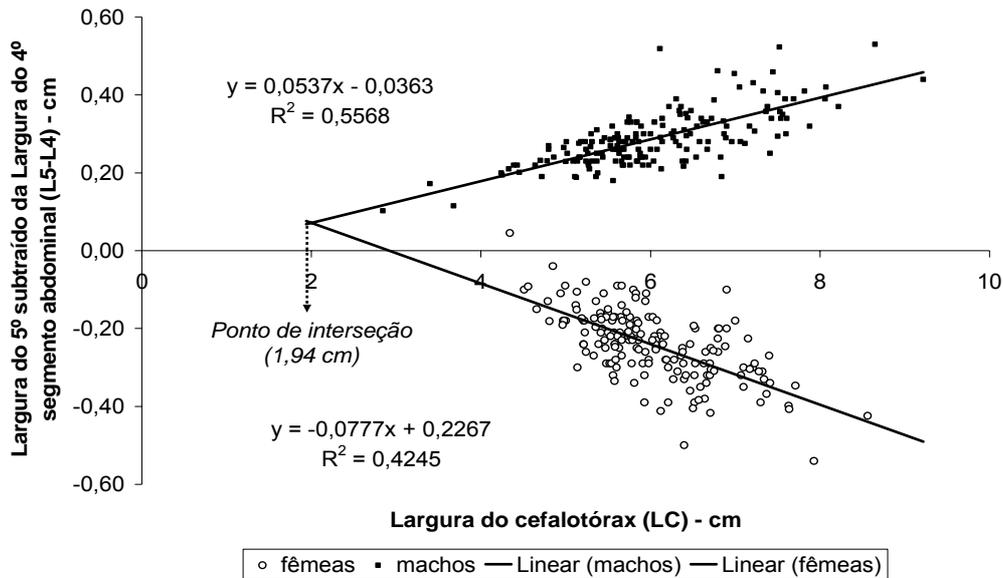


Figura 3: Relação (L_5-L_4) x LC para sexos separados de *C. guanhum* capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

Das 179 fêmeas analisadas histologicamente, 25,5% eram imaturas; 19,4% se encontravam em maturação; 20,6% estavam maduras; 9,7% em recuperação e 24,8% em repouso. A distribuição dos estágios maturativos ao longo do ano (Fig. 4) indica que o período reprodutivo se estende de agosto a fevereiro, com uma maior frequência de fêmeas maduras nos meses de novembro e dezembro. Foram encontradas fêmeas ovígeras de novembro a fevereiro. Entre os machos, 37,5% eram imaturos e 62,5% eram maduros, não tendo sido observada nenhuma variação sazonal nesta proporção.

Se analisada a pluviometria na área de coleta (Tabela 2), observa-se que as chuvas se iniciam em dezembro (42 mm) e cessam em junho (80 mm), sendo o período entre julho e novembro sem a ocorrência de chuvas. No mês de fevereiro, onde se observa uma intensificação das chuvas, ocorre o término do período reprodutivo, enquanto que após o mês de junho, onde se encerra o período chuvoso, começam a surgir fêmeas no estágio de maturação.

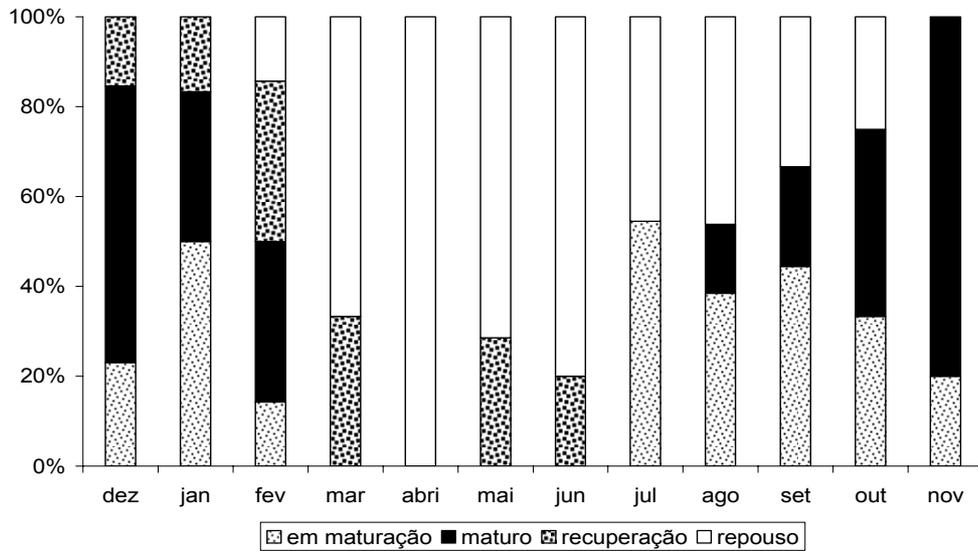


Figura 4: Ciclo reprodutivo de fêmeas de *C. guanhumí* capturadas entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

Tabela 2: Pluviometria na região de Aracati, no período entre Dez./06 e Nov./07. Fonte: FUNCEME.

Mês/ano	Pluviometria (mm)
Dez./06	42
Jan./07	42,6
Fev./07	284,6
Mar/07	113
Abr./07	422,2
Mai./07	145,2
Jun./07	80
Jul./07	0
Ago./07	0
Set/07	0
Out./07	0
Nov./07	0

As estimativas da largura do cefalotórax de maturidade gonadal, para fêmeas e machos, respectivamente, baseadas no desenvolvimento das células germinativas, utilizando-se um modelo complementar Log-Log (Tab. 2), foram iguais a: $L_{50} = 5,87$ cm e $L_{50} = 6,22$ cm (Fig. 5 e 6).

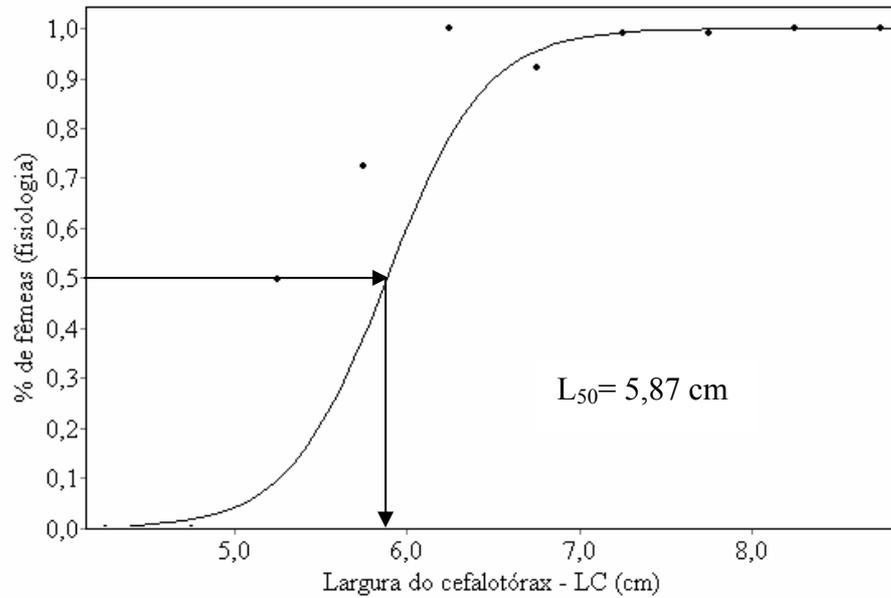


Figura 5: Frequência de fêmeas de *C. guanhumí* aptas à reprodução (fisiologicamente) por classes de largura do cefalotórax, capturadas no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

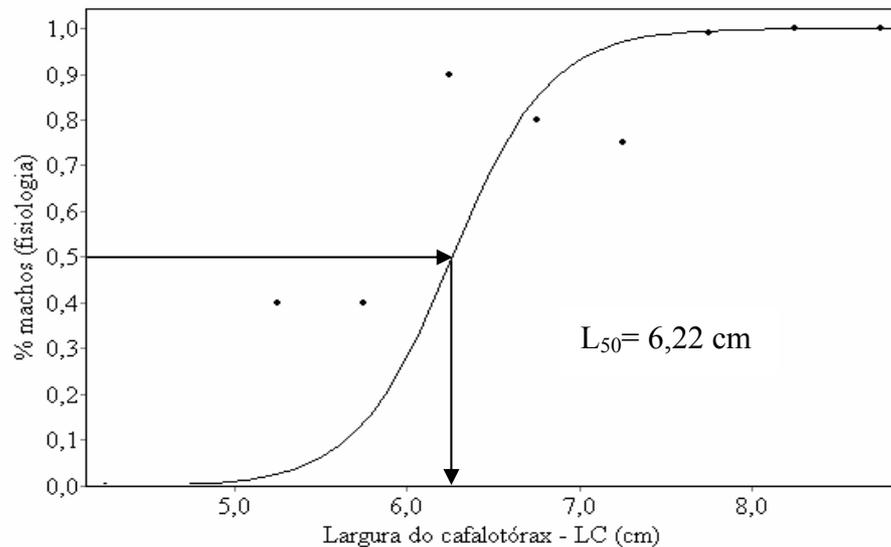


Figura 6: Frequência de machos de *C. guanhumí* aptos à reprodução (fisiologicamente) por classes de largura do cefalotórax, capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

A largura do cefalotórax de primeira maturação morfométrica (L_{50}), baseado na largura do abdômen das fêmeas e comprimento das quelas dos machos, caracteres secundários, foi determinada com base na função complementar Log-Log (Tab. 2), tendo sido igual, respectivamente, a 6,12 cm (Fig. 7) e 6,91 cm (Fig. 8).

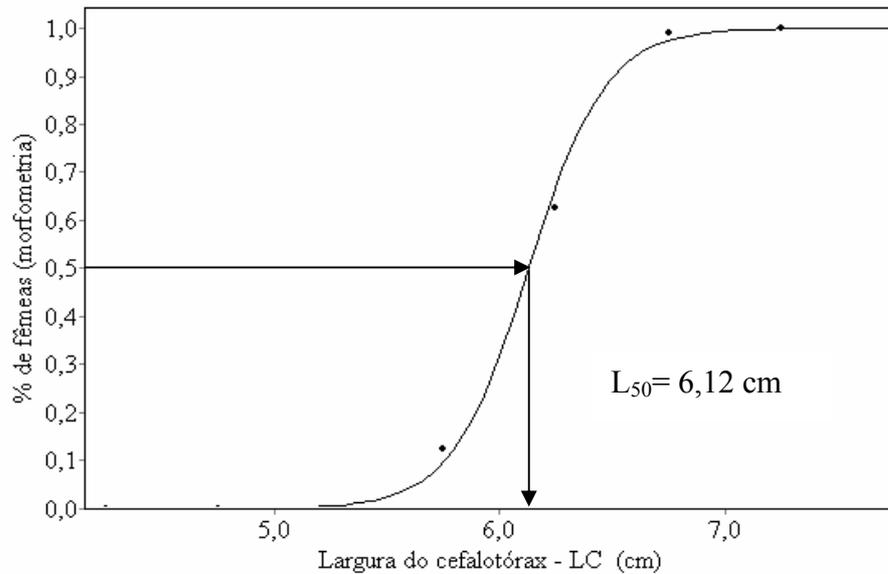


Figura 7: Frequência de fêmeas de *C. guanhumi* aptas à reprodução (morfometricamente) por classes de largura do cefalotórax, capturadas no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

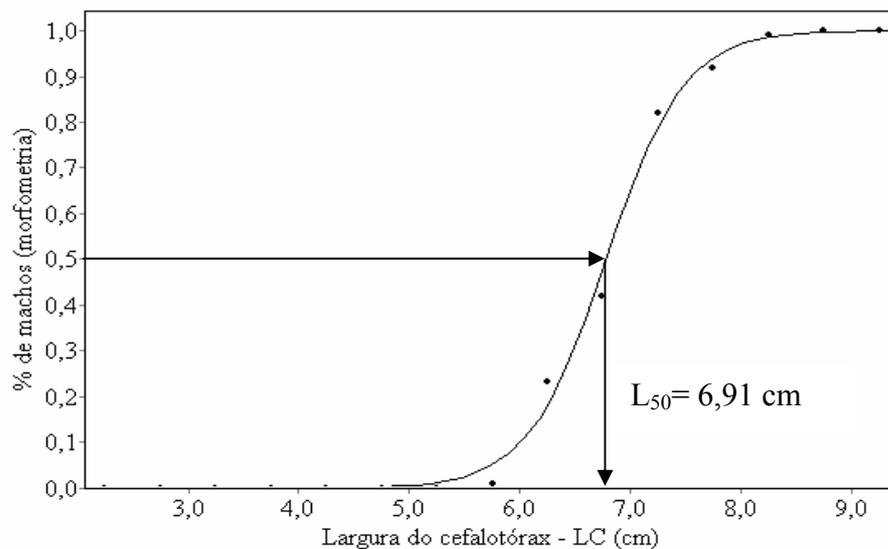


Figura 8: Frequência de machos de *C. guanhumi* aptos à reprodução (morfometricamente) por classes de largura do cefalotórax, capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

O ponto de inflexão da curva na relação LC x L_4 , para as fêmeas (Fig. 9), e na relação LC x CQ para os machos (Fig. 10), ocorreu, respectivamente, em 6,20 e 7,10 cm, indicando, assim, esses valores como os de largura média de cefalotórax em que ocorre a muda puberal. As curvas de regressão que indicam a tendência dos valores, para os estágios imaturo e maturo de ambos os sexos, apresentaram uma equação potencial (Tabela 3).

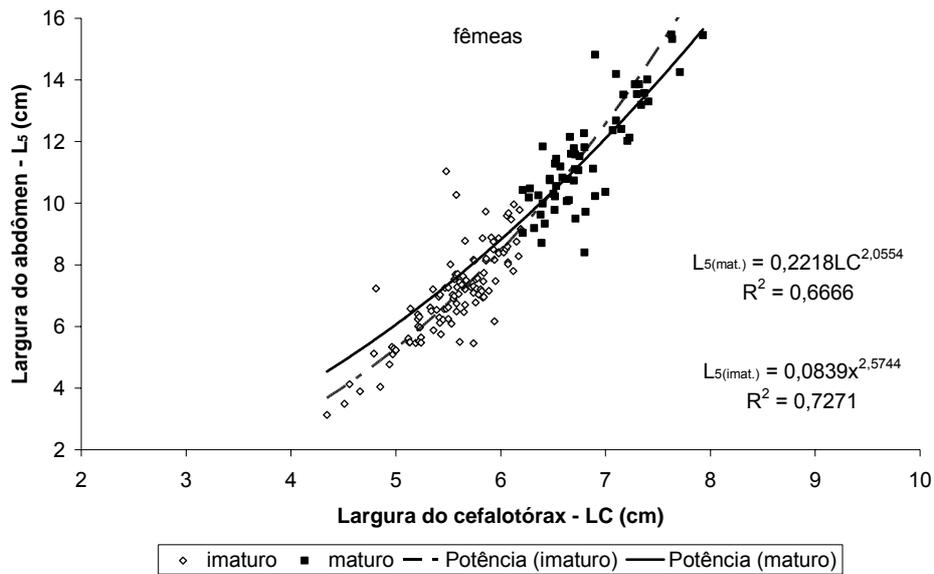


Figura 9: Relação entre Largura do cefalotórax (cm) e largura do quarto segmento abdominal, de fêmeas de *C. guanhumí*, capturadas no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

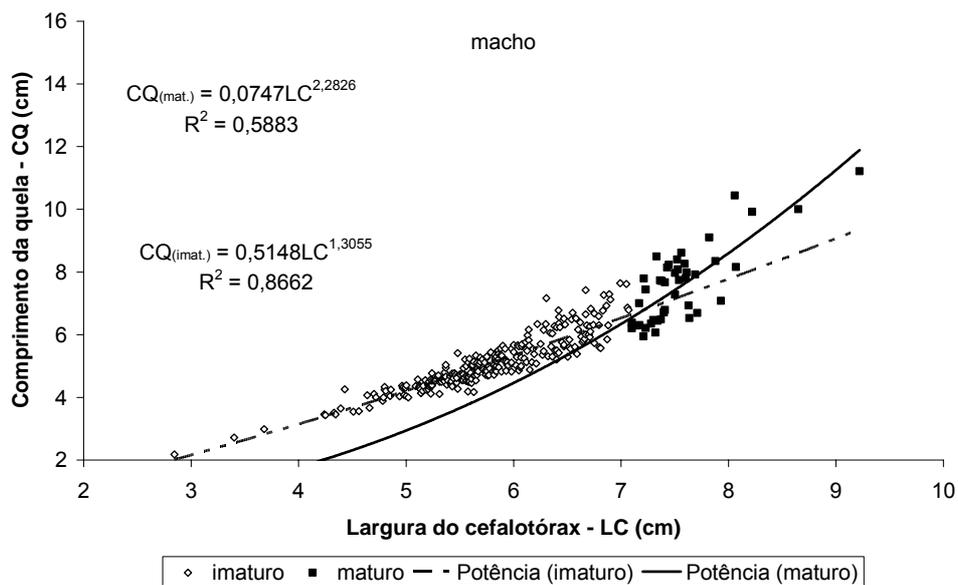


Figura 10: Relação entre Largura do cefalotórax (cm) e comprimento da quela, de machos de *C. guanhumí*, capturados no período entre Dez./06 e Nov./07, em Aracati/CE.

Ainda com base nas funções sigmóides encontradas na determinação de primeira maturação, foi possível se estimar o tamanho máximo (L_{99}) de maturação (Tabela 4). Do total de fêmeas amostradas, 62% eram menores que o tamanho de primeira maturação morfométrica (6,12 cm) enquanto que entre os machos esse percentual foi igual a 82%.

Tabela 3: Tamanho de primeira maturação para machos e fêmeas de *C. guanhumi*, baseados em três análises distintas: ponto de inflexão da curva, caractere relevante e análise histológica.

Item determinante	Fêmea (cm)		Macho (cm)	
	Equações	TM	Equações	TM
Ponto de inflexão da curva (muda puberal)	Imat.: $L_5 = 0,0839LC^{2,5744}$ $R^2 = 0,7271$ Mat.: $L_5 = 0,2218LC^{2,0554}$ $R^2 = 0,6666$	6,20*	Imat.: $CQ = 0,5148LC^{1,3055}$ $R^2 = 0,8662$ Mat.: $CQ = 0,0747LC^{2,2826}$ $R^2 = 0,5883$	7,10*
Caractere relevante (L ₅₀ -morfométrico)	$Mf = \frac{1}{1 + e^{35,9692 + (-5,8688LC)}}$ $R^2 = 0,9762$	6,12 ⁺	$Mf = \frac{1}{1 + e^{19,2055 + (-2,8339LC)}}$ $R^2 = 0,9157$	6,91 ⁺
Histologia (L ₅₀ -fisiológico)	$Mf = \frac{1}{1 + e^{20,6329 + (-3,5099LC)}}$ $R^2 = 0,7230$	5,87 ⁺	$Mf = \frac{1}{1 + e^{22,0951 + (-3,5295LC)}}$ $R^2 = 0,8943$	6,22 ⁺

TM: tamanho de primeira maturação (largura do cefalotórax) em cm. *: ponto em que separa a curva de indivíduos imaturos e maduros. ⁺ tamanho em que 50% dos indivíduos estão maduros.

Tabela 4: Tamanho máximo de maturação para machos e fêmeas de *C. guanhumi* baseados em duas análises distintas: morfometria e fisiologia.

	Fêmea	Macho
Caractere relevante (morfométrico)	L ₉₉ = 6,91 cm	L ₉₉ = 8,39 cm
Histologia (fisiológico)	L ₉₉ = 7,18 cm	L ₉₉ = 7,56 cm

4. DISCUSSÃO

Uma população com proporção sexual equilibrada (próximo de 1:1) é um bom indicativo de equilíbrio natural ao longo do ano, não havendo uma segregação sazonal. Esta proporção também foi encontrada para *C. guanhumi* no México (Bozada e Chávez, 1986) e no sudeste do Brasil (Silva e Oshiro, 2002). Massunari e Dissenha (2005), por sua vez, citam que esta proporção também é observada para espécies do gênero *Uca*.

Embora a relação LC x CC de machos e fêmeas não tenha diferido estatisticamente (isto é, possuem uma mesma proporcionalidade destes parâmetros no crescimento), a distribuição de frequência da largura da carapaça indica que as fêmeas são mais numerosas na classe modal mais abundante (5,5 a 6,0 cm), não se fazendo presentes nas classes periféricas,

enquanto que os machos ocuparam todas as classes de comprimento em que há fêmeas. Classes periféricas representadas por apenas um sexo pode indicar diferentes taxas ou tamanhos de recrutamento e de mortalidade.

Machos de *C. guanhumi* com maior amplitude de tamanho em relação às fêmeas também foi encontrada por Rivera (2005), em Cuba (6,5 a 10,5 cm para machos e 7,0 a 9,0 cm para fêmeas); por Bozada e Chávez (1986), no México (2,7 a 10,5 cm para machos e 4,2 a 7,9 cm para fêmeas); e por Silva e Oshiro (2002), no Brasil (2,7 a 8,5 cm para machos e 3,1 a 8,3 para fêmeas). Tais resultados sugerem que esta seja uma característica intrínseca das populações de *C. guanhumi*, independentemente da localidade. Embora machos e fêmeas não tenham diferido quanto ao tamanho do corpo, os machos possuem, estatisticamente, o quelípodo mais desenvolvido que as fêmeas. Um crescimento mais acelerado do quelípodo em indivíduos maduros está associado à defesa e competição entre os machos pelas fêmeas, o que ocorre para a maioria dos decápodes (Hartnol, 1978).

A largura do abdômen parece ser um bom parâmetro no estudo da biometria devido à grande confiabilidade dos valores. O formato do abdômen é o único parâmetro de dimorfismo sexual que pode ser detectado no animal vivo, uma vez que o comprimento da quela não possui um limite determinado de diferenciação sexual, e os pleópodos não são visíveis externamente. A diferenciação entre os sexos a partir de 1,94 cm de largura do cefalotórax pode estar relacionada a uma muda juvenil, em que se iniciam algumas diferenciações morfométricas. Em adição, Teissier (1960) cita que a transição entre as fases do crescimento do crustáceo ocorre através de mudas críticas.

Sob circunstâncias normais, os machos, após amadurecerem, possuem sempre reservas de espermatozoides (Duffy e Thiel, 2007), razão pela qual a descrição do ciclo reprodutivo baseia-se sempre no desenvolvimento gonadal feminino, uma vez que a maturidade dos machos está relacionada apenas ao seu tamanho, independentemente da época do ano.

O período reprodutivo de *C. guanhumi* sugerido por diversos autores ocorre sempre no verão e primavera e ocasionalmente em parte do outono (Tabela 5). O término das atividades reprodutivas no mês em que se intensificam as chuvas, na área estudada, sugere que a reprodução ocorre principalmente no período seco, sendo o início das chuvas um fator determinante para o término da estação reprodutiva.

Tabela 5: Período reprodutivo e tamanho de primeira maturação de *C. guanhumi* encontrado por diversos autores e nas legislações vigentes em diversos países.

País/Estado	Período reprodutivo		Hemisfério - Estação.	1ª maturação Cm	autor
	Início	Final			
* Brasil/ ES, RJ, SP	Outubro	Março	Sul – P/ V	8,00 - ♂	IBAMA (2003)
Brasil/ RJ	Março	Maio	Sul – V/ O	5,3 - ♀ 5,1 - ♂	Silva e Oshiro (2002)
* Brasil/ CE, RN, PB, PE, AL, SE	Dezembro	Março	Sul – P/ V	6,00 - ♂	IBAMA (2006)
Brasil/ CE	Novembro	Fevereiro	Sul – P/ V	6,12 - ♀ 6,91 - ♂	Presente trabalho
* Brasil/ BA	Dezembro	Março	Sul – P/ V	7,00 - ♂	IBAMA (2006)
Brasil/ PE	Dezembro	Fevereiro	Sul – P/ V	3,55 - ♀	Botelho (2001)
Venezuela	Setembro	Janeiro	Sul – I/ P/ V	7,00 - ♀	Taissoun (1974)
Venezuela	Julho	Novembro	Sul – V/ O		Hill (2001)
* México	Julho	Setembro	Norte – V		SAGARPA (2006)
México/ Quintana Rôo	Agosto		Norte – V		Rivera (2005)
México	Junho	Julho	Norte – P/ V		Bozada e Chávez (1986)
Cuba				5,00 - ♀	Giménez e Acevedo (1982)
Bahamas	Julho	Setembro	Norte – V		Hill (2001)
EUA/ Flórida	Julho	Dezembro	Norte – V/ O		Hill (2001)
EUA/ Flórida	Junho	Dezembro	Norte – P/ V	(40 g) ♀	Gifford (1962)
* EUA/Flórida	Junho	Outubro	Norte – P/ V/ O		FFWCC (2002)

CE: Ceará; RN: Rio Grande do Norte; PB: Paraíba; PE: Pernambuco; SE: Sergipe; AL: Alagoas; RJ: ES: Espírito Santo; Rio de Janeiro; SP: São Paulo; AS = ambos os sexos; ♀ = Fêmeas; ♂ = Machos; P: primavera; V: verão; O: Outono; * = valor referente na legislação (não é um trabalho de pesquisa).

O tamanho de primeira maturação pode variar de acordo com a distribuição geográfica da população (Burggren & McMahon, 1988). De uma maneira geral, os maiores valores de primeira maturação são reportados para os países situados próximos aos trópicos, com esse valor diminuindo em direção ao Equador. Este resultado é esperado para diversos grupos de animais, uma vez que a região equatorial possui condições favoráveis ao crescimento.

Se comparados os períodos de defeso estabelecidos pela legislação e os períodos reprodutivos citados por diversos autores, notam-se algumas discrepâncias. No Sudeste do Brasil, por exemplo, o mês em que se encerra o defeso, coincide com o início do período reprodutivo sugerido por Silva e Oshiro (2002). No Nordeste do Brasil, o período sugerido por Botelho et al. (2001) está inserido no período determinado na legislação, embora, no mês de março haja a proibição de captura sem que, aparentemente, haja atividade reprodutiva, conforme resultado também encontrado pelo presente trabalho. No México, Rivera (2005) julgou que o período reprodutivo se encontrava inserido no sugerido pela legislação, enquanto que apenas metade do período é coincidente no trabalho desenvolvido por Chávez e Bozada (1986). Na Flórida, Hill (2001) e Gifford (2002) incluem os meses de Novembro e Dezembro no período reprodutivo, porém, a legislação encerra o defeso em outubro. Tais resultados indicam uma clara falta de sincronia entre as medidas de ordenamento adotadas e as informações científicas disponíveis sobre a espécie.

A maturidade nos crustáceos decápodes pode variar dentro de uma mesma espécie em função de diferentes fatores ambientais como salinidade, temperatura e luminosidade (Hines, 1989). Hartnoll (1982) relata que embora a muda puberal possa não coincidir com a maturação das gônadas, ela indica invariavelmente a entrada para o *instar* (tamanho obtido após determinado número de mudas) no qual a atividade sexual terá início.

Em *C. guanhumi* a maturação das gônadas parece ocorrer primeiro, para, somente depois, acontecer a muda puberal, que está refletida na medida morfométrica. Do total de fêmeas amostradas, apenas 25% possuíam a gônada imatura, enquanto 62% encontravam-se

menor que o tamanho de primeira maturação morfométrica. Por esta razão, o tamanho de primeira maturação a ser considerado deve ser aquele no qual o animal se encontre completamente apto à reprodução, ou seja, quando ocorre a maturação morfométrica.

O pequeno número de fêmeas ovígeras obtido durante as coletas ($n = 6$, menos de 4% das fêmeas coletadas) pode estar associado ao fato de fêmeas ovígeras pouco saírem das tocas com a finalidade de poupar energia e evitar os predadores (Kennelly e Watkins, 1994), embora não tenha sido observada nenhuma diminuição na proporção entre machos e fêmeas nos meses de reprodução. Em adição, Rivera (2005), ao estudar a mesma espécie em Quintana Roo, observou uma segregação da população, com as fêmeas ovígeras posicionando-se em uma diferente região do manguezal. Este autor também cita uma menor densidade de fêmeas ovígeras (5,6 ind./ 100 m² versus 45,8 ind./ 100 m²). Na região estudada, acredita-se que não há segregação espacial uma vez que foram observados machos e fêmeas nos diversos estágios de maturação, em todos os locais amostrados.

4.1 Sugestões para a preservação da espécie.

A principal importância de desenvolver trabalhos acerca da dinâmica populacional, com ênfase na biologia reprodutiva de uma espécie, está em subsidiar os órgãos competentes a fomentarem leis e normas de ordenamento pesqueiro no intuito de assegurar o uso sustentável dos recursos naturais.

A legislação vigente no nordeste do Brasil, Instrução Normativa nº. 90 de 02/02/06, determina que o tamanho mínimo de captura para machos nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e Sergipe é de 6,00 cm de largura de cefalotórax, embora o tamanho de primeira maturação sexual encontrado para machos da população de Aracati/CE, analisada no presente estudo, tenha sido igual a 6,91 cm.

Elevadas capturas de indivíduos juvenis, menores que o tamanho de primeira maturação, podem resultar em sobrepesca de crescimento, o que pode trazer graves danos para este importante estoque pesqueiro, comprometendo a sua sustentabilidade.

Observou-se, também, uma grande diferença entre o período no qual ocorrem atividades reprodutivas (de agosto a fevereiro, com desovas entre novembro e fevereiro) e o período de defeso determinado na IN nº. 90, de 02/02/06 (de dezembro a março). Embora a duração de 4 meses estipulada na legislação pareça adequada, pelo menos para o Estado do Ceará, foram observadas atividades de desova no mês de novembro, enquanto que em março nenhum exemplar em atividade reprodutiva foi encontrado, indicando, assim, que a atual legislação está protegendo apenas 75% do período reprodutivo.

Com base no exposto, e visto que os crustáceos Brachyura possuem o crescimento lento e maturação sexual tardia, sugere-se o ajuste do tamanho de captura para o Estado do Ceará de 6,00 (atual) para 7,00 cm de largura de carapaça (cefalotórax) ou 6,00 cm de comprimento de carapaça. Sugere-se, ainda, a modificação do artigo nº2 da IN nº. 90 de 02/02/06, alterando-se o período de defeso de dezembro a março para novembro a fevereiro.

Outra informação que deve ser repassada aos catadores é que são imaturos os indivíduos:

- Machos que possuem a quela menor que a largura do cefalotórax;
- Fêmeas que não possuem o abdômen recobrimdo todos os esternitos torácicos.

Com estas informações, o catador será capaz de identificar os indivíduos imaturos no momento da cata e devolvê-los ao manguezal. Destaca-se, nesse sentido, a importância de trabalhos de educação ambiental e de informação dos pescadores das normas e leis vigentes, além do aprofundamento do conhecimento da biologia da espécie. Apesar de não ser o foco do presente trabalho, notou-se um desconhecimento por parte dos pescadores de qualquer legislação vigente para esta espécie.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrunhosa, F. A.; Mendes, L. N.; Lima, T.B.; Yamamoto, S. O.; Ogawa, M. Cultivo do caranguejo terrestre *Cardisoma guanhumi* (Latreille, 1825) do ovo ao estágio juvenil. Revista científica de produção animal, Fortaleza, v. 2, p. 190-197, 2000.
- Botelho, E. R. O.; Santos, M. C. F. & Souza, J. R. B. 2001. Aspectos populacionais do Guaiamum, *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1825, do estuário do Rio Una (Pernambuco Brasil). Boletim Técnico Científico, CEPENE 9(1):123-146.
- Bozada, L e Chávez, Z. La fauna acuatica de la laguna del ostion. Centro de Ecodesarrollo. México. 1986.
- Burggren W.W.; McMahon B.R. Biology of the land crabs. Cambridge University Press. United States of America. 479p, 1988.
- Duffy J. E. And Thiel, M. 2007. Evolutionary Ecology of Social and Sexual Systems – Crustaceans as Model Organisms. Oxford University Press. 502p.
- FFWCC. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission. 2002.
- FUNCEME. Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. Boletim de chuvas. Disponível em: <<http://www.funceme.br>>. Acesso em: 13 de outubro de 2008.
- Gifford, C. A. 1962. Some observations on the general biology of the land crab, *Cardisoma guanhumi* (Latreille) in South Florida. Biol.Bull., v. 123, p. 207-223.
- Giménez, E.; Acevedo, M. Relaciones morfométricas y talla de primeira maduración del cangrejo de tierra *Cardisoma guanhumi* Latreille em la cienaga de zapata. Revista cubana de investigaciones pesqueras, havana. V.7, n.3, p.18-37, 1991.
- Hartnoll, R.G. 1978. The determination of relative growth in Crustacea. Crustaceana, Leiden, 34 (3): 281-293.
- Hartnoll R. G., 1982. Growth. In The biology of Crustacea, D. E. Bliss ed., vol. 2; Embryology, morphology and genetics, L. G. Abele ed., Academic Press, New-York. 2 (3): 111-196.
- Hill, K. "*Cardisoma guanhumi*" 2001. Disponível em: <http://www.sms.si.edu/IRLSpec/Cardis_guanhu.htm>. Acesso em: 20 de outubro de 2007.
- Hines, A. H., 1989. Geographic variation in size at maturity in brachyurans crabs. Bulletin of marine science, Miami 45 (2). P 356-368.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais. Portaria nº50 de 30 de setembro de 2003. 2003.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais. Instrução Normativa nº 90, de 02 de fevereiro de 2006. 2006.
- Junqueira, L. C; Junqueira, L. M. M. S. 1983. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Livraria e Editora Santos, 123p.

- Kennelly, S.J. And Watkins, D., 1994. Fecundity and reproductive period, and their relationship to catch rates of spanner crabs, *Ranina ranina* off the east coast of Australia. *Journal of Crustacean Biology* 14, 146–150.
- Massunari, S.; Dissenha, N. & Falcão, R.C. 2005. Crescimento relativo e destreza dos quelípodos de *Uca maracoani* (Latreille) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) no Baixo Mirim, Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22 (4): 974-983.
- Melo, G. A. S. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Plêiade, FAPESP, 604p, 1996.
- Mendes, P.P. 1999. Estatística aplicada à Aqüicultura. Recife-PE. Ed. Bargaço, 265p.: il.
- Pearse, A. G. E. 1960. Histochemistry theoretical and applied, London: Jet. Churchill Ltda, V.2, 965p.
- Rivera, J. J. El cangrejo terrestre *Cardisoma guanhumi* ¿Un recurso pesquero?. *Ecofronteras*. No25. 2005.
- SAGARPA. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. *Diário Oficial*. 2006.
- Shinozaki-Mendes, R. A.; Silva, J. R. F.; Sousa, L. P.; Hazin, F. H. V. Oogenesis and ovarian maturation of the blue land crab *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE). *Acta Zoologica (Stockholm)*. 2008a (In review).
- Shinozaki-Mendes, R. A.; Silva, J. R. F.; Hazin, F. H. V. Gonad maturation of the male blue land crab *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1828 (DECAPODA: GECARCINIDAE). *Acta Zoologica (Stockholm)*. 2008b (In review).
- Silva, R. Da & Oshiro, L. M. Y. Aspectos reprodutivos do caranguejo Guaiamum, *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1828 (Crustacea, Decapoda, Brachyura) da Baía de Sepetiba, RJ. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba/PR. 2002.
- Taissoun, E. El cangrejo de tierra *Cardisoma guanhumi* (Latreille) en Venezuela. *Boletín del centro de investigaciones biológicas, maracaibo*. N. 10, p. 9-41, 1974.
- Teissier G. 1960 Relative growth, in: *The physiology of Crustacea*. Vol. I. Metabolism and Growth. (Ed. Waterman T.H.). pp. 537-560. Academic Press, New York.
- Tolosa, E. M. C.; Rodrigues, C. J.; Behemer, O. A.; Freitas-Neto, A. G. 2003. Manual de técnicas histológica normal e patológica. 331p,
- Zar, J.H. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. Englewood Cliffs, 1984.

5. COMENTÁRIOS CONCLUSIVOS

Machos e fêmeas de *C. guanhumi*, no estuário do Rio Jaguaribe, apresentam células germinativas e formação distinta das gônadas, sendo possível identificar os estágios maturativos em cada sexo.

Os ovários apresentam uma variação de tamanho e cor ao longo dos estágios maturativos, apesar de alguns estágios não poderem ser distinguidos macroscopicamente, sendo indispensável a análise microscópica para a identificação correta dos estágios, bem como para a determinação do tamanho de primeira maturação gonadal.

A análise histoquímica das gônadas se mostrou como uma importante ferramenta, principalmente na identificação das células masculinas, devido ao reduzido tamanho das mesmas. O contraste das reações histoquímicas das células aos diversos corantes permitiu a determinação dos estágios com precisão e acurácia.

A escala de classificação dos estágios de maturação gonadal proposta, baseada na dinâmica de maturação das gônadas, parece ser aplicável a quaisquer Brachyura, uma vez que as características reprodutivas possuem grande semelhança. Já a maturação morfométrica baseada na largura do abdômen e tamanho da quela em relação à largura do cefalotórax parece ser aplicável a um número restrito de espécies.

Os machos, a partir da maturação, parecem estar sempre prontos à reprodução, enquanto que as fêmeas apresentam uma variação sazonal, sendo o período de maior atividade reprodutiva entre novembro e fevereiro. A maturação gonadal parece também preceder a muda puberal e, conseqüentemente, a maturação morfométrica, para ambos os sexos.

Com os resultados obtidos no presente trabalho, acredita-se ter elucidado uma importante etapa no ciclo reprodutivo do *C. guanhumi*. Entretanto, novos estudos são indispensáveis para um completo entendimento da dinâmica reprodutiva da espécie, como trabalhos de distribuição larval, assentamento dos juvenis, migrações reprodutivas, cultivo, entre outros.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRUNHOSA, F. A.; MENDES, L. N.; LIMA, T.B.; YAMAMOTO, S. O.; OGAWA, M. Cultivo do caranguejo terrestre *Cardisoma guanhumi* (Latreille, 1825) do ovo ao estágio juvenil. Revista científica de produção animal, Fortaleza, v. 2, p. 190-197, 2000.
- ALMEIDA, A. O.; BUCKUP, L. 1999. Caracteres sexuais primários e secundários do lagostim *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea: Parastacidae). Nauplius, Rio Grande. 7. 113-126
- ANILKUMAR, G; SUDHA, K; SUBRAMONIAM, T. 1999. Spermatophore transfer and sperm structure in the brachyuran crab *Metopograpsus messor* (Decapoda: Grapsidae) Journal of Crustacean Biology, 19(2). 361 – 370.
- AYUB, Z.; AHMED, M. A. 2002. Description of the ovarian development stages of penaeid shrimps from the coast of Pakistan. Aquaculture Research. 33: 767-776.
- BENHALIMA, K. MORYATSU, M. 2000. Structure and function of the posterior vas deferens of the snow crab *Chionoecetes opilio* (Brachyura, majidae). Invertebrate Reproduction and development, v. 37, n. 1, p. 11-23.
- BOTELHO, E.R.O.; SANTOS, M.C.F.; SOUZA, J.R.B. 2001. Aspectos populacionais do guaiamum, *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1825, do estuário do Rio Una (Pernambuco - Brasil). Bol. Téc. Cient. CEPENE, Tamandaré, 9 (1): 123-146.
- BOZADA, L.; CHÁVEZ, Z. La fauna acuática de la laguna del ostion. Centro de Ecodesarrollo. México. 1986.
- BURGGREN W.W.; MCMAHON B.R. Biology of the land crabs. Cambridge University Press. United States of America. 1988. 479p.
- CARVALHO, H. A. DE. 1981. Morfologia do aparelho reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1936) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) Parte II: Feminino. Trab. Oceanogr. Univ. Fed. PE. Recife. 16: 249-264.
- CHARNIAUX-COTTON, H.; PAYEN, G. 1988. Crustacean reproduction. In H. Laufer and R. G. H. Downer (eds.), Endocrinology of selected invertebrate types, pp. 279–303. Alan R. Liss, New York.
- COELHO, P. A., BATISTA-LEITE, L. M. A., SANTOS, M. A. C., TORRES, M. F. A. O manguezal. In: Eskinazi-Leça, E., Neumann-Leitão, S., Costa, M. F. da. Oceanografia: um cenário tropical, 2004, v. único, p. 641-688.
- COSTA, T. M. NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. Fecundidade de *Callinectes danae* SMITH, 1869 (CRUSTACEA, DECAPODA, PORTUNIDAE) na região de Ubatuba (SP), Brasil. Arquivo Biológico e tecnológico. São Paulo, v.39, n.2, p.393-400, jun.1996.
- CRONIN, L. E. 1947. Anatomy and histology of the male reproductive system of the *Callinectes sapidus*, Rathbun. J. Morphol., 81 : (2), 209-239.
- DIESEL, R. 1989. Structure and function of the reproductive system of the symbiotic spider crab *Inachus phalangium* (Decapoda: Majidae): Observation on sperm transfer, sperm storage, and spawning. J. Crust. Biol. (9): 266-277.

- EL-SHERIEF, S. S. 1991. Fine structure of the sperm and spermatophores of *Portunus pelagicus* (L.) (Decapoda, Brachyura). *Crustaceana*, 61 (3), 171- 179.
- FELICIANO, C. 1962. Notes on the biology and economic importance of the land crab *Cardisoma guanhumi* Latreille of Puerto Rico. Porto Rico: University of Puerto Rico, 1962. (Spec.Contr. Inst. of Marine Biol.) University of Puerto Rico
- GARDNER, C.; WILLIAMS, H. 2002. Maturation in the giant crab, *Pseudocarcinus gigas*, and the potential for sperm limitation in the Tasmania fishery. *Mar. freshwater Res.* n 53, p 661-667.
- GIFFORD, C. A., 1962. Some observations on the general biology of the land crab *Cardisoma guanhumi* (Latreille) in south Florida. *Biol. Bull., Woods Hole*, 97: 207-223.
- GIMÉNEZ, E; ACEVEDO, M. Relaciones morfométricas y talla de primeira maduración del cangrejo de tierra *Cardisoma guanhumi* Latreille en la cienaga de zapata. *Revista cubana de investigaciones pesqueras*, Havana, v. 7, n. 3, p. 18-37, 1991.
- GOSHIMA, S.; KANAZAWA, M.; YOSHINO, K.; WADA, S. 2000. Maturity in male stone crab *Hapalogaster dentate* (Anomura: Lithodidae) and its application for fishery management. *Journal of crustacean biology*. 20 (4): 641-646.
- HAEFNER, P. A.; SPAARGAREN, D. H. 1993. Interactions of ovary and hepatopâncreas during the reproductive cycle of Crangon crangon. Weight and volume relationships. *Journal of Crustacean Biology* 13(3): 523-531.
- HARTNOLL, R.G. 1969. Mating in Brachyura. *Crustaceana*, v. 16,p. 161-181.
- HICKS, J. W. 1985. The breeding behavior and migrations of the terrestrial crab *Gecarcoidea natalis* (Decapoda: Brachyura). *Australian Journ. Zool.*, 33: 127-142.
- HILL, K. "*Cardisoma guanhumi*" 2001. Disponível em: <http://www.sms.si.edu/IRLSpec/Cardis_guanhu.htm>. Acesso em: 20 de outubro de 2007.
- HINSCH, G. W. 1973. Sperm structure of Oxyrhyncha. *Can J. Zool.* 51: 421-426.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais. Instrução Normativa n° 90, de 02 de fevereiro de 2006. 2006.
- JOHNSON, P. T. 1980. Histology of the blue crab *Callinectes sapidus*: a model for the decapoda. New York, praeger. 440p.
- KLAASSEN, F., 1975. Ökologische und ethologische Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie von *Gecarcinus lateralis* (Decapoda, Brachyura). *Forma Funct.*, 8: 101-174.
- LEE, T. H.; YAMAZAKI, F. 1990. Structure and function of a special tissue in the female genital ducts of the Chinese freshwater crab *Eriocheir sinensis*. *Biological Bulletin* (178): 94-100.
- LIU, H. C.; M.-S. Jeng, 2005. Reproduction of *Epigrapsus notatus* (Brachyura: Gecarcinidae) in Taiwan. *Journ. crust. Biol.*, 25: 135-140.

- LLOYD, R. 2001. "The Illusive Great Land Crab" [On-line]. Acesso em 29 de janeiro de 2007 em www.mhhe.com/biosci/pae/marinebiology/casestudies/case_01.mhtml.
- MEDINA, A.; A. RODRIGUEZ. 1992. Spermiogenesis and sperm structure in the crab *Uca tangeri* (Crustacea, Brachyura), with special reference to the acrosome differentiation. *Zoomorphology* 111. 161-165.
- MELO, G. A. S. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Plêiade, FAPESP, 1996, 604p.
- MINAGAWA, M. AND SANO, M. 1997. Oogênese and development cycle of the spiny lobster *Panulirus japonicus* (Decapoda: Palinuridae). *Mar. Freshwater Res.* (48): 875-887.
- MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M.; Kjerfve, B. Princípios de Oceanografia física dos estuários. São Paulo: Editora da USP. 2002.
- MORIYASU, M.; K. BENHALIMA, 1998. Snow crab, *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius, 1788) (Crustacea: Majidae) have two types of spermatophore: hypotheses on the mechanism of fertilization and population reproductive dynamics in the southern Gulf of St. Lawrence, Canada. *Journal of natural History.* 32, 1651-1665.
- MOTA ALVES, M. I. 1975. Sobre a reprodução do caranguejo uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) em mangues do Ceará (Brasil). *Arq Ciências do Mar.* 15(2): 85-91.
- MOUCHET, S. 1931. Spermatophores des Crustacés Décapodes Anomoures et Brachyours et castration parasitaire chez quelques Pagures. Theses – Faculté des Sciences de Paris.
- NAGAO, J. MUNEHARA, H. 2003. Annual cycle of testicular maturation in the helmet crab. *Telmessus cheiragonus*. *Fisheries Science.* 69. 1200-1208.
- PEIXOTO, S.; CAVALLI, R. O.; D'ICAO, F.; Milach, A. M. and Wasielesky, W. 2003. Ovarian maturation on wild *Farfatepenaeus paulinsis* in relation to histological and visual changes. *Aquaculture Research.* (34): 1255-1260.
- REBELO, F. C., MEDEIROS, T. C. C. Cartilha do Mangue. UFMA/CORSUP. São Luis, 1998.
- RIVERA, J. J. El cangrejo terrestre *Cardisoma guanhumi* ¿Un recurso pesquero?. *Ecofronteras.* N°25. 2005.
- ROBERTSON, W.D.; KRUGER, A. 1994. Size at maturity, mating and spawning in the portunid crab *Scylla serrata* (Forskål) in Natal, South Africa. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* (29): 533-547.
- RUPPERT, E. e BARNES, R. D. Zoologia dos invertebrados. Ed. Roca, 7ª ed., 1168p. 2005.
- RYAN, E. P. 1967. Structure and function of the reproductive system of the crab *Portunus sanguinolentus* (Herbst, 1785) (Brachyura: Portunidae). II. The female system. *Proc. Symp. Crustacea Mar. Biol. Asso, India*, pp. 522-544.
- SAINTE-MARIE, G.; SAINTE-MARIE, B. 1999. Reproductive products in the adult snow crab (*Chionoecetes opilio*). I. Observations on spermatogenesis and spermatophore formation in the vas deferens. *Can. J. Zool.*, 77, 440-450.

- SHAEFFER-NOVELLI, Y. Manguezal, ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo. Caribbean Ecological Research. 64p. 1995.
- SILVA, R. da; OSHIRO, L. M. Y. Aspectos reprodutivos do caranguejo Guaiamum, *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1828 (Crustacea, Decapoda, Brachyura) da Baía de Sepetiba, RJ. Revista Brasileira de Zoologia, Curitiba/PR. 2002.
- SOFFIATI, A. “Da mão que captura o caranguejo à globalização que captura o manguezal”. Anais do II Encontro da ANPPAS, São Paulo. 2004.
- SOUZA, L. P. Biologia reprodutiva do caranguejo *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1083) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) no manguezal do Rio Ceará (Caucaia-CE): morfologia do sistema reprodutor feminino. Monografia de graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Ceará. 2006.
- TAISSOUN, E. El cangrejo de tierra *Cardisoma guanhumi* (Latreille) en Venezuela. Boletín del centro de investigaciones biológicas, maracaibo. N. 10, p. 9-41, 1974.
- WEITZMAN, M. C. 1966. Oogenesis in the tropical land crab, *Gecarcinus lateralis* (Fremenville). Cell and Tissue Research. v. 75, n. 1. p-109-119.
- WIELGUS-SERAFINSKA, E. 1976. Morfological and histological changes in the male gonad of the american crayfish *Orconectes limosus* (Rafinesque) in annual cycle. Acta biological Crancoviensa, Zoologia. V. 19, p.87-105

ANEXOS

Revista Acta Zoológica

Site: www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0001-7272

ISSN: 1463-6395/ **Fator de impacto:** 0.937

Normas

Manuscripts should be in English and written in a concise, straightforward style. Authors not fluent in English are advised to have their manuscript checked by a colleague with a good command of the language. The manuscript should present scientific findings which are essentially new and which have not been published or submitted for publication elsewhere. Review papers are also welcomed.

Papers of up to 24 printed pages (including illustrations, tables, references, etc.) are printed without page charge. Authors who wish to submit larger papers are advised to contact the editor in advance. All correspondence will normally be through the Editorial Office.

The manuscript should be typed double-spaced on one side of white A4 paper, with wide margins. All pages should be numbered. Original illustrations should not be sent until the manuscript has been accepted for publication. The form and content should be checked carefully to exclude the need for corrections in proof. Changes in the proof other than typographical errors will be charged to the authors.

Format Title Page

Title, name(s) of author(s), institution(s), full address(es), e-mail address(es) and a condensed title of up to 45 characters to be used as the running head.

Headings

Four grades of headings may be used:

A new line, full out left, initial capital letter main words, bold type; following text on new line not indented; [example **Format**]

B new line, full out left, initial capital letter first word only, italic; following text on new line not indented; [example *Headings*]

C new line, full out left, initial capital letter first word only, italic; text follows on same line after full point; [example *Principal (A) headings*]

D new line, indented, initial capital letter first word only, italic; text follows on same line after full point; [example *Abstract*]

Please indicate the grade of headings clearly in the left margin of the manuscript. B, C and D headings should be underlined to indicate italics.

Abstract. This should be an informative, condensed version of the important results and discussions and should not exceed 200 words. The abstract should be preceded by bibliographic details and followed by the name and full postal address of the author to whom correspondence should be addressed.

**Introduction./ Materials and Methods./ Results./ Discussion/Conclusion./
[Acknowledgement(s).]**

References.

References in Articles

We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting.

EndNote reference styles can be searched for here:

<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager reference styles can be searched for here:

<http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

A list of all the publications cited in the paper (and no others). The style of the references can be seen from the following examples.

Hatschek, B. 1877. Embryonalentwicklung und Knospung der *Pedicellina echinata*. - *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie* **29**: 502-549, pls 28-30.

Clark, R. B. 1980. Natur und Entstehung der metameren Segmentierung. - *Zoologische Jahrbücher, Anatomie* **103**: 169-195.

Cloney, R. A. 1978. Ascidian metamorphosis: review and analysis. In F.-S. Chia and M. E. Rice (Eds): *Settlement and Metamorphosis of Marine Invertebrate Larvae*, pp. 255-282. Elsevier, New York.

Ruppert, E. E. 1997. Cephalochordata (Acrania). In Harrison, F. W. (Ed.): *Microscopic Anatomy of Invertebrates*, vol. 11, pp. 349-504. Wiley-Liss, New York.

Salvini-Plawen, L. V. and Mayr, E. 1977. On the evolution of photoreceptors and eyes. - *Evolutionary Biology* **10**: 207-263.

Text

Files should be formatted double-spaced with no hyphenation and automatic word wrap (no hard returns within paragraphs). Please type your text consistently, e.g. take care to distinguish between 'l' (one) and l (Lower case L) and '0' (zero) and 'O' (capital O), etc.

Latin names of genera and species should be in italics or underlined to indicate italics. All other indications for the printer will be inserted by the editor.

Literature references in the text should have the following form:

'Hatschek (1877) described...' or 'The statement by Hatschek (1877, p. 506) "Die Furchungselemente ... grösser" has been...' or 'As described earlier (Hatschek 1877; Reed and Cloney 1983a, b; Strathmann et al. 1972, fig. 2)...'

Footnotes should generally be avoided.

Reference to figures and tables in the manuscript should have the following form: 'As shown in Fig. 3 and Table 1...' or 'The cells have many cilia (Fig. 3)'.

Journal of Crustacean Biology**ISSN: 1937-240X/ Fator de impacto: 0.807****Normas**

The printed manuscript must be typed double-spaced leaving margins of at least 2.54 cm (one inch) all around. Use triple spacing above primary headings. Number pages consecutively in the upper right corner.

Sequence of material should be as follows: Running head, including author name and brief title; Title; Author(s) name(s); Mailing and e-mail address(es) of author(s) (see journal for format); Abstract; Key words; Article body; Acknowledgements; References; Appendix; Tables; Figure captions; Figures (each numbered and identified).

The title page should give the running head; the title of the paper, typed in all capital letters; and the author name(s), followed by affiliation(s) including e-mail address(es). In the case of multiple authorship, list all authors' names first, then each author's initials should be enclosed in parentheses before the appropriate mailing address; the e-mail address should be within parentheses immediately following the mailing address. The running head should contain the first author's surname, a colon, and an abbreviated title in the case of a single author. When there are two authors, include both authors' surnames before the colon. In the case of three or more authors, use only the first author's surname followed by - et al. The running head should not exceed about 52 characters.

The abstract should not exceed one double-spaced page. It should contain a summary of significant findings and note the implication of those findings. The section title "ABSTRACT" should be in all capital letters and centered within the margins.

In the text, the *Journal of Crustacean Biology* follows the style of the most recent of the journal. When in doubt, consult the editor. JCB allows both American and British spelling, but spelling format should be consistent within an article. Metric units of measurement prevail.

Tables and figures should be self-explanatory, not requiring reference to the text. Each table should start on a separate page and must be double-spaced throughout, even if it extends onto multiple pages. Headings and format must be consistent with the style used in *Journal of Crustacean Biology*; see previous issues for format. Vertical rules and excessive horizontal rules should not be used. For treatment of large tables of gene sequences, see below.

Figures must be proportioned to fit nicely within the journal's margins when reduced. Figures will be reduced to either 176 mm width (full page) or 84 mm width (column width) and a maximum height of 237 mm (including the space for caption beneath). For figures with multiple parts (A, B, C, etc.), all of the parts must be together on one figure, not spread over multiple separate photographs. For electronic submission of figures, see below.

All papers referred to in the text should be listed in the "References" section alphabetically by the authors' surnames, then chronologically for multiple papers by the same author(s), e.g., Smith, 1999, followed by Smith and Brown, 1998, followed by Smith and Jones, 1996, followed by Smith and Jones, 1997. Use only the authors' surnames and initials in the References; place a space between an author's initials. Names of periodicals should be written out in full and should not be italicized. Do not use issue numbers of continuously paginated volumes. Use a hanging indent for multiple lines within one citation (see below for more about hanging indents). All citations in the article must be in the References, INCLUDING the authors of taxonomic names.

A sample citation of an article by a single author in a serial journal follows:

Smith, J. Q. 1981. The distribution of swimming crabs. *Journal of Crustacean Biology* 1: 105-119.

A sample citation of an article by two authors follows:

Martin, G., and P. Juchault. 1999. Androgenic hormone specificity in ten species of lobsters. *Journal of Crustacean Biology* 19: 684-689.

A sample citation of an article in an edited work follows:

Garth, J. S. 1991. Taxonomy, distribution, and ecology of Galapagos Brachyura, pp. 123-125. In, M. J. James (ed.), *Galapagos Marine Invertebrates*. Plenum Publishing Company, New York.