

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Controle ambiental da muda da puberdade e da regressão  
abdominal no caranguejo do entre-marés *Pachygrapsus*  
*transversus* Gibbes, 1850

Mariana Velloso Capparelli

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto  
da USP, como parte das exigências para a  
obtenção do título de Mestre em Ciências,  
Área: Biologia Comparada

RIBEIRÃO PRETO -SP

2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Controle ambiental da muda da puberdade e da regressão  
abdominal no caranguejo do entre-marés *Pachygrapsus*  
*transversus* Gibbes, 1850

Mariana Velloso Capparelli

Orientador: Prof. Dr. Augusto Alberto Valero Flores

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto  
da USP, como parte das exigências para a  
obtenção do título de Mestre em Ciências,  
Área: Biologia Comparada

RIBEIRÃO PRETO -SP

2010

Capparelli, Mariana Velloso

Controle ambiental da muda da puberdade e da regressão abdominal no caranguejo do entre-marés *Pachygrapsus transversus* Gibbes, 1850. Ribeirão Preto, 2010.

56 p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP.

Área de concentração: Biologia Comparada.

Orientador: Flores, Augusto Alberto Valero.

1. Controle ambiental.
2. Muda da puberdade.
3. Regressão abdominal.
4. Seleção sexual.
5. Cópula.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Mariana Velloso Capparelli

Controle ambiental da muda da puberdade e da regressão abdominal no caranguejo do entre-marés *Pachygrapsus transversus* Gibbes, 1850

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: Biologia Comparada

Aprovado em:

### Banca examinadora

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

*À meu pai Pedro, por seu apoio incondicional e pela compreensão, principalmente nos momentos de ausência. Em memória de minha mãe Ana Maria, por ter me ensinado a nunca desistir e pelo exemplo de força e fé.*

## Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos ao Prof. Dr. Augusto Alberto Valero Flores pela orientação competente, pela compreensão em muitos momentos e paciência com as análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. John Campbell McNamara, por me aceitar como orientanda até o credenciamento do Prof. Augusto e por todas as dicas e sugestões durante a realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de Mestrado concedida.

Aos funcionários e docentes da FFCLRP e CEBIMar pelo auxílio durante esses dois anos. Agradeço especialmente aos técnicos de laboratório: Zéilto, Joseph, Edu e “Seu” Elso, por toda ajuda na realização de coletas e experimentos.

Agradeço à Marília Bueno e Larisse Perez por terem me abrigado em suas casas enquanto escrevia o projeto de mestrado, e ao Ronaldo por todo exemplo de profissionalismo, ajuda na elaboração do trabalho e sugestões em sua finalização.

Aos amigos do Laboratório de Bioecologia e Sistemática de Crustáceos da FFCLRP-USP, pela ajuda inicial que indiretamente colaborou para realização deste trabalho.

Aos muitos que ajudaram na realização das coletas e durante os experimentos, especialmente aos companheiros de laboratório: Andréia, Paula, Ludmila, Carol e Rafael. Gostaria também de agradecer à Laura pelas inúmeras vezes que cuidou com muito carinho dos meus experimentos para que eu pudesse voltar para casa. Ao Rafael pela ajuda com as análises estatísticas.

Em especial, gostaria de agradecer às grandes amigas e companheiras de república: Laura, Andréia e Paula. Meu eterno agradecimento por toda ajuda, companheirismo e exemplo de amizade.

Às minhas queridas amigas de Araraquara, que indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, obrigada pela amizade e compreensão em todos os momentos, principalmente os de ausência.

Ao Samuel, pela atenção, paciência e apoio na finalização deste trabalho.

E, finalmente, às pessoas mais importantes da minha vida: meus pais. Ao meu pai Pedro Luiz, agradeço todo o apoio, incentivo, amor e dedicação, e em memória de minha mãe Ana Maria, pelo exemplo de vida a ser seguido. Sem eles eu não chegaria até aqui.

## Resumo

O grapsídeo *Pachygrapsus transversus* apresenta uma estratégia reprodutiva alternativa entre os braquiúros. A espécie atinge a maturidade sexual muito cedo, poucos meses após recrutar no entre-marés, e as fêmeas podem sofrer uma muda, após o principal período de reprodução, para um estágio no qual a morfologia do abdômen e seus apêndices difere claramente tanto da característica adulta como da juvenil. Nessa condição não ocorre atividade reprodutiva. Devido ao fato dessa dinâmica responder a um ciclo sazonal, foi testado o efeito da temperatura, do fotoperíodo e da interação de ambos na incidência da muda da puberdade, na manutenção da atividade reprodutiva e na muda para o estágio de inatividade. Para tal, foram mantidos lotes de animais em cativeiro em quatro diferentes combinações de fotoperíodo e temperatura durante dois períodos. Os resultados do primeiro período demonstram que o crescimento, a alometria abdominal e a proporção de indivíduos que realizaram a muda da puberdade foram mais elevados em condições de temperatura condizentes ao inverno. No segundo período, fêmeas adultas apresentaram crescimento superior sob condições de fotoperíodo e temperatura de inverno, enquanto que a proporção de fêmeas em repouso sexual foi elevada, porém indistinta, em todas as condições experimentais. Não foram verificadas diferenças de crescimento entre fêmeas em atividade sexual e indivíduos em repouso reprodutivo. Posteriormente, foi realizado um experimento para analisar a dinâmica da alteração morfotípica na presença de conspecíficos (fêmea sozinha, fêmea na presença de macho e fêmea na presença de outra fêmea) em diferentes níveis de interação (química, visual, táctil). Nesse experimento não foi registrada regressão abdominal para nenhuma das fêmeas, não havendo quaisquer diferenças entre crescimento e alometria abdominal entre os tratamentos. Por fim, foi analisado o comportamento de machos



frente a fêmeas de diferentes morfótipos. Os resultados demonstraram que machos conseguem discriminar fêmeas em repouso daquelas aptas à reprodução, passando mais tempo em atividades de contato físico, incluindo cópula, com as últimas. Os resultados obtidos mostram que o crescimento é influenciado por variáveis físicas (temperatura e fotoperíodo), e que a manutenção da atividade reprodutiva, limitada pela ocorrência de mudas para estágios de repouso reprodutivo, parece estar relacionada à presença de conspecíficos. Essa estratégia permitiria uma segregação temporal eficiente de atividades de reprodução e crescimento (em longo prazo), crucial para esta espécie que apresenta maturidade sexual precoce.

## Abstract

The grapsid crab *Pachygrapsus transversus* undergoes an alternative reproductive strategy compared to other brachyurans. This species reaches maturity early in its ontogeny, few months after recruiting to the rocky intertidal. After the main breeding period, females may molt to a stage, marked by a regression of the abdomen and its appendages, which are easily distinguished from both the juvenile and adult form. In this condition, there is no reproductive activity. Because the frequency of different adult morphotypes changes in a seasonal basis, the effect of temperature, photoperiod and their interaction on the incidence of the puberty molt (for juveniles), the maintenance of reproductive activity and the proportion of females molting to a resting stage (adults) was tested. With this purpose, different female groups were kept in captivity under four different combinations of photoperiod and temperature, during two experimental trials. The results of the first experiment show that growth, abdominal allometry and the proportion of females molting to maturity were all higher under winter temperature. In the second experiment, adult females exhibited higher growth rate under winter conditions of photoperiod and temperature, while the proportion of females molting to a resting stage was generally high, with no significant differences among treatments. Growth did not differ between females exhibiting abdominal regression and females holding the adult breeding condition. A third experiment was conducted to examine the dynamics of morphotypic shift under the presence of conspecifics (isolated females, females held with another female, and females held with a male) in different interaction levels (chemical, visual, tactile). In this experiment, no females undergone abdominal regression, and no differences were observed in growth rate and abdominal allometry among treatments. In a final experiment, the behavioral

response of males facing resting and active females was compared. Results demonstrated that males can discriminate these morphotypes. Physical contact, including copula, took longer when males were confronted with the reproductive morphotype. It is concluded that growth is mostly influenced by physical variables (temperature and photoperiod), while holding or not reproductive activity, dictated by the incidence of females molting to a resting stage, is apparently related to the presence of conspecifics. This strategy would allow an efficient temporal segregation between reproduction and growth (in the long run), which might be crucial for a species undergoing precocious sexual maturity.

## Sumário

<b>1. Introdução .....</b>	<b>13</b>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>22</b>
<b>3. Materiais e Métodos .....</b>	<b>24</b>
3.1 Coleta dos animais.....	24
3.2 <i>Experimentos 1 e 2</i> : Controle ambiental da muda da puberdade e regressão de caracteres sexuais secundários .....	25
3.3 <i>Experimento 3</i> : Dinâmica da alteração morfotípica na presença de conspecíficos .....	28
3.4 <i>Experimento 4</i> : Comportamento de machos frente aos diferentes morfotipos femininos .....	31
<b>4. Resultados.....</b>	<b>34</b>
4.1 <i>Experimento I</i> : Controle ambiental da muda da puberdade .....	34
4.2 <i>Experimento 2</i> : Controle ambiental da regressão de caracteres sexuais secundários .....	35
4.3 <i>Experimento3</i> : Dinâmica da alteração morfotípica na presença de conspecíficos .....	37
4.4 <i>Experimento 4</i> : Comportamento de machos frente aos diferentes morfotipos femininos .....	38
<b>5. Discussão.....</b>	<b>40</b>
<b>6. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>49</b>

*Introdução*

## 1. Introdução

Em crustáceos decápodes o crescimento somático e a reprodução são funções integradas que demandam um elevado custo energético (Adiyodi, 1970), sendo a partilha de recursos influenciada por inúmeros fatores abióticos, dentre eles o fotoperíodo e a temperatura (Hartnoll e Rice, 1985). Um elevado gasto energético pelas fêmeas ocorre durante o período de desenvolvimento das gônadas, tanto na alocação de reservas energéticas na produção de vitelo nos ovários (Sastry 1983; Haefner e Spaargaren, 1993), quanto na ventilação e limpeza da massa de ovos de fêmeas que os incubam (Baeza e Fernández, 2002). Os custos do processo reprodutivo podem restringir o crescimento somático dos indivíduos, sendo freqüente nas fêmeas a segregação temporal entre esses dois processos (Hartnoll, 1982; Hartnoll e Gould, 1988).

Mecanismos que promovem a separação dessas atividades ocorrem em diferentes escalas temporais, e seus efeitos podem ser verificados em escala sazonal. No caranguejo do entre-marés *Pachygrapsus marmoratus*, que habita as costas temperadas quentes do Atlântico Oriental, o crescimento é reduzido e a reprodução interrompida durante a maior parte do inverno (Flores e Paula, 2002). Ao final dessa estação e durante o começo da primavera, o crescimento é máximo e grande parte da população juvenil passa a integrar o efetivo reprodutivo. Durante os meses de verão a taxa de crescimento decresce e a intensidade reprodutiva é máxima.

Inúmeros fatores abióticos oscilam sazonalmente, dos quais fotoperíodo e temperatura têm sido identificados como parâmetros chave. Alguns estudos sugerem que alterações na duração do dia influenciam a gametogênese de invertebrados marinhos (Segal, 1970; Pearse e Eernisse, 1982; Brewin *et al.*, 2000), podendo acelerar

o ciclo de desenvolvimento ovariano em dias longos e retardá-lo em dias curtos, como observado na lagosta *Orconectes virulus* (Stephens, 1952). No ambiente marinho, as variações de temperatura da água parecem atuar diretamente na sincronização dos processos reprodutivos (Giese e Pearse, 1974), como na determinação do período de descanso reprodutivo em anfípodos nos meses mais frios do ano (Morritt e Stevenson, 1993). Janelas temporais de reprodução relativamente curtas são observadas em espécies de regiões temperadas, com picos freqüentemente associados aos meses mais quentes (Giese, 1959). A menor variação de temperatura e fotoperíodo ao longo do ano em regiões tropicais e subtropicais permite a reprodução contínua de invertebrados marinhos em geral. A variação temporal na produtividade planctônica mostra-se também muito importante na determinação de padrões sazonais, sendo os períodos de reprodução e desova vinculados àqueles com maior disponibilidade de alimento (Stephenson, 1934; Gunter, 1957).

O gasto energético da reprodução é distribuído ao longo do ano em espécies de regiões tropicais e subtropicais, com freqüentes adaptações que permitem conciliar tais gastos com outras atividades metabólicas. Entretanto, animais de regiões temperadas investem energia em crescimento somático em um período do ano, tornando-se aptos à reprodução durante a estação favorável (Sastry, 1983; Hartnoll, 2001). Os padrões temporais reprodutivos de muitas espécies dependem ainda de fatores ambientais favoráveis, o que restringe a reprodução a determinadas épocas do ano e favorece a sobrevivência da prole (Ims, 1990). Sastry (1983) observou que a maioria das espécies de caranguejos tropicais tem estações reprodutivas prolongadas, sendo freqüente a reprodução contínua.

Muitas dessas estratégias reprodutivas podem refletir em distintos comportamentos relacionados à cópula (Seiple e Salmon, 1982; Salmon, 1983; Abele *et al.*, 1986). Em caranguejos Grapsidae e Varunidae, o comportamento de cópula depende

ainda da receptividade da fêmea, sendo restrita aos dias do ano em que o opérculo dos gonóporos se apresenta descalcificado (Brockhoff e McLay, 2005a). Nas espécies dessas famílias ocorre frequentemente a guarda das fêmeas pelos machos até que ocorra a oviposição. A proporção de machos é significativamente maior e o controle do tempo de receptividade pelas fêmeas indica uma elevada capacidade de seleção sexual (Brockhoff e McLay, 2005b). Não há registro de processo semelhante em grapsídeos tropicais, embora outros mecanismos de segregação temporal das atividades reprodutivas sejam possíveis.

O início da receptividade das fêmeas depende de fatores fisiológicos e/ou ambientais (ciclo lunar e temperatura), com duração influenciada pelas razão sexual da população e intensidade da competição entre machos pela mesma fêmea. Estudos demonstram que a ausência de machos pode estender o período de receptividade, o que aumenta a probabilidade de encontrar um parceiro para cópula (Fukui, 1993; Brockhoff e McLay, 2004). Pouco se sabe a respeito dos critérios usados na seleção do companheiro por espécies de decápodes, porém, como na maior parte dos invertebrados, as fêmeas de crustáceos investem mais na prole que os machos, o que justificaria a existência de mecanismos de seleção sexual que potencializam o rendimento reprodutivo (Seiple e Salmon, 1982)

As pistas químicas, como os feromônios, podem ser detectadas por conspecíficos e induzir o comportamento de cópula. Substâncias emitidas na urina de fêmeas têm sido documentadas em decápodes de modo geral (Dunham 1978; 1988), mas principalmente em *Brachyura* (Ryan, 1966; Seifert, 1982; Hardege *et al.*, 2002; Kamio *et al.*, 2002; Bamber e Naylor, 1997), e *Astacidae* (Ameyaw-Akumfi e Hazlett, 1975; Atema, 1984; Tierney *et al.*, 1984; Stebbing *et al.*, 2003). A atração em decápodes aquáticos ocorre por meio de feromônios solúveis na água e pelo contato tátil



entre conspecíficos (Majidae, Cancridae e Portunidae), enquanto em espécies semi-terrestres (Grapsidae, Ocypodidae) ocorre por meio de contato visual, acústico e tátil (Hartnoll, 1969; Salmon, 1983; Schöne, 1968). A liberação de feromônios sexuais restrita a períodos de receptividade permite que os machos deixem de consumir energia, destinadas à corte e cópula, fora dessas ocasiões (Hartnoll, 1969).

Os caranguejos do gênero *Pachygrapsus* são os mais abundantes do entre-marés de costas rochosas de zonas temperadas quentes, subtropicais e tropicais. A biologia reprodutiva e populacional de *Pachygrapsus transversus* (Abele *et al.*, 1986; Flores e Negreiros-Fransozo, 1998, 1999), *P. marmoratus* (Flores e Paula, 2002) e *P. crassipes* (Hiatt, 1948) é relativamente bem conhecida. Uma das características comuns a essas três espécies é a maturidade sexual atingida bem cedo, com menos de um ano, medindo de um quarto a um terço do tamanho máximo que podem alcançar. A cópula pode ocorrer durante todo o período de intermuda, não sendo registradas quaisquer restrições quanto à receptividade das fêmeas nesse período. Um raro processo de regressão de caracteres sexuais secundários foi constatado primeiramente por Vernet-Cornubert (1958) para fêmeas de *P. marmoratus*, e posteriormente por Flores e Negreiros-Fransozo (1999b) para o congênera *P. transversus*. As alterações morfológicas incluem a mudança do formato no abdômen, de subcircular para ogival (figura 1) e a redução da densidade e comprimento das cerdas na margem do abdômen dos pleópodos, sendo essas alterações mais visíveis em fêmeas de menor porte. Fêmeas que apresentam morfologia abdominal, indicativa de atividade reprodutiva, são referidas como indivíduos mII (morfótipo II), e fêmeas apresentando formato ogival serão referidas como indivíduos mI (morfótipo I). Estas últimas incluem, principalmente, indivíduos em repouso sexual, mas dependendo do tamanho, fêmeas mI podem também corresponder a estágios juvenis avançados.

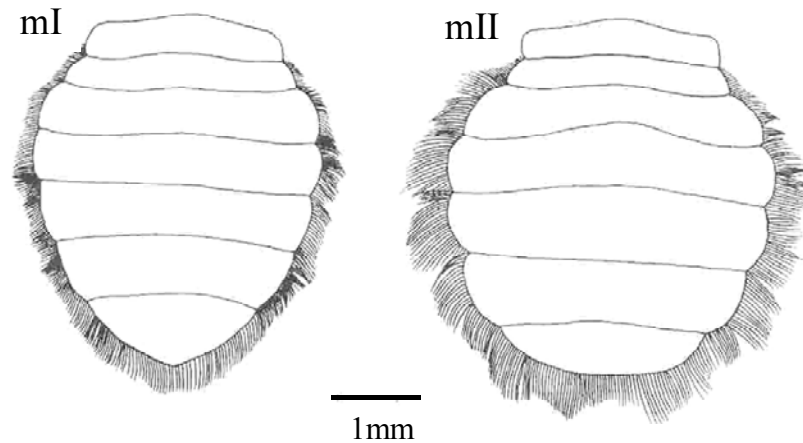


Figura 1. *Pachygrapsus transversus*. Morfologia abdominal de diferentes morfótipos de fêmeas adultas. mI, morfótipo I; mII, morfótipo II (Adaptado de Flores e Negreiros-Fransozo, 1999b).

Flores e Negreiros-Fransozo (1999a) observaram ainda uma variação sazonal na frequência relativa de animais com morfologia regressiva (mI), a qual perfaz um menor percentual da população adulta durante o verão, quando ocorre a época de maior intensidade reprodutiva. Animais nessa condição nunca foram encontrados portando ovos, o que indica incapacidade de reprodução. É possível a existência de uma alternância morfotípica sazonal, de tal modo que fêmeas adultas (mII) sofram uma muda ao final do período favorável à reprodução, permaneçam em repouso reprodutivo por determinado período (mI), e voltem a mudar para um estágio ativo assim que vantajoso, ingressando ao efetivo reprodutivo. Assim, as técnicas padrão para inferir o tamanho da maturidade sexual, baseadas na morfologia do abdômen, podem ser inadequadas para *P. transversus*, uma vez que fêmeas com morfologia mI poderiam ser tanto juvenis quanto adultas que tenham sofrido regressão abdominal, evidenciando uma sobreposição morfotípica, apresentada na Figura 2.

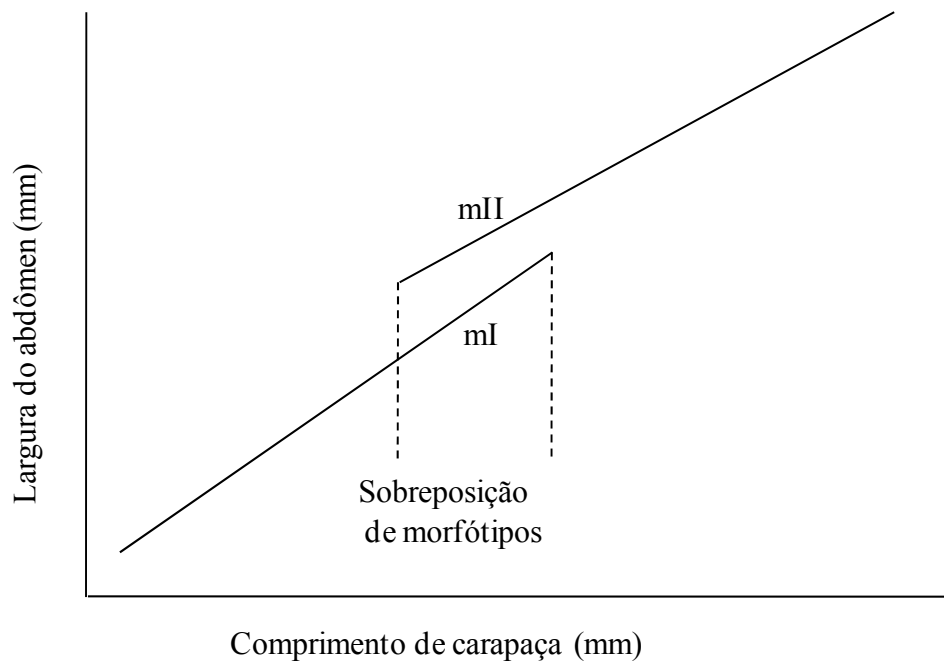


Figura 2. Relação alométrica entre a largura do abdômen e o comprimento da carapaça de fêmeas de *Pachygrapsus transversus* (Adaptado de Flores e Negreiros-Fransozo, 1999b).

A muda para um morfótipo de repouso sexual, caracterizada por alterações morfológicas, é um processo raro e pouco documentado. Um dos poucos casos registrados refere-se à presença de diferentes morfótipos em machos adultos do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (Kuris *et al.*, 1987). Para essa espécie foram descritas três formas adultas: machos ‘pequenos’, com estratégia reprodutiva oportunista e baixa taxa de crescimento; machos com quelas cor de laranja, que apresentam elevadas taxas de crescimento e pouco investimento reprodutivo; e machos com quelas azuis, cujo crescimento praticamente cessa e a maior parte da energia é canalizada na reprodução (Sagi e Ra’anan, 1988; Ra’anan *et al.*, 1991). A presença de diferentes morfótipos adultos em machos foi também registrada para outras espécies, como o lagostim de água doce *Procambarus clarki*, que apresenta dois morfótipos adultos que diferem quanto a seu potencial reprodutivo (Laufer *et al.*, 2005).

A variabilidade morfológica e o reconhecimento de diferentes morfótipos parecem ter implicações comportamentais, como, por exemplo, as variações na

morfologia do rostrum de machos do camarão *Aristeus antennatus*, relacionadas ao comportamento de corte (Kapiris e Legaki-Thessalou 2001). Tal variabilidade morfológica também pode corresponder à formação de castas, como observado em decápodes carídeos do gênero *Synalpheus*, considerados animais sociais onde há divisão do trabalho (Duffy *et al.*, 2000), ou ser reflexo da segregação e adaptação de grupos a diferentes condições ambientais, como, por exemplo, o polimorfismo cromático em camarões do gênero *Hippolyte* relacionado à camuflagem (Chassard, 1956; Bauer R. 1981; 1982).

A muda de um morfótipo para outro é mediada pelo hormônio juvenil metil-farnesoato, que favorece a manutenção ou a muda para a forma não reprodutiva (Laufer *et al.*, 2005). A existência de morfótipos adultos em fêmeas é menos documentada, existindo apenas evidências indiretas de sua ocorrência. Um estudo no camarão *Palaemon longirostris* sobre o crescimento alométrico da pleura do segundo somito abdominal, um caráter dimórfico para camarões carídeos, indica uma sobreposição em tamanho muito extensa entre formas supostamente adultas e juvenil, como possível consequência da regressão da pleura (Cartaxana, 2003). Um estudo realizado com o krill *Euphausia superba* de águas frias da Antártica documenta uma modificação na morfologia de um caráter sexual secundário, o télico, relacionada com a interrupção no desenvolvimento do ovário e acompanhada por um decréscimo no comprimento do corpo. O autor sugere que essa espécie de krill tenha uma fase de “rejuvenescimento” durante o inverno, com posterior rematuração nos meses de verão (Makarov, 1976; McWhinnie *et al.*, 1979; McWhinnie e Denys, 1980; Denys *et al.*, 1981; Thomas e Ikeda, 1987).

Estágios de repouso sexual são relacionados à características reprodutivas específicas, sendo ocasionados por determinados mecanismos fisiológicos. Em alguns

casos não há alteração morfológica relacionada ao estágio de repouso, como a interrupção no desenvolvimento ovariano em espécies de anfípodos (Steele, V.J. 1981; Steele, V.J e Steele, D.H. 1986), enquanto em outros existe uma modificação morfológica diferencial entre adultos, aptos ou não à reprodução, apesar desta não ser a causadora da interrupção. Como no exemplo citado anteriormente para o camarão de água doce *M. rosenbergii*, o crescimento e a capacidade reprodutiva diferencial entre os morfótipos são controlados pela atividade da glândula androgênica (Kuris *et al.*, 1987). Desse modo, a modificação morfológica pode estar diretamente relacionada ao repouso sexual, como no krill, que apresenta uma modificação na morfologia do órgão copulatório feminino que impedindo a cópula, concomitante à interrupção no desenvolvimento ovariano. Deste modo, as diferenças morfológicas entre indivíduos ativos e aqueles em repouso sexual podem ser necessárias para a interrupção das atividades reprodutivas. Muitas vezes, porém, parecem ser características secundárias, reflexo provavelmente da ação hormonal responsável por essas alterações.

A existência de diferentes morfótipos adultos em crustáceos decápodes pode resultar na partilha mais eficiente de recursos entre a reprodução e crescimento (Hartnoll, 1982). A maturidade atingida bem cedo em caranguejos grapsídeos, seguida de uma alternância entre estágios de atividade e repouso reprodutivo, parece configurar uma estratégia que concilie de modo mais eficiente crescimento e reprodução nestes animais. Dessa maneira, os indivíduos podem reproduzir já durante a primeira estação e depois investir eficientemente no crescimento, tornando-se mais fecundos no ano seguinte (Hartnoll e Gould, 1988).

*Objetivos*

## 2. Objetivos

O primeiro objetivo deste trabalho foi testar a influência da temperatura e do fotoperíodo, assim como sua interação, na incidência da muda da puberdade em fêmeas juvenis, na regressão abdominal e na manutenção da atividade reprodutiva de fêmeas adultas da espécie *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1950). Também foi examinada a variação no fator de crescimento, de acordo com esses mesmos fatores, para fêmeas juvenis e para fêmeas adultas, nestas últimas distinguindo aquelas que mantiveram um morfótipo reprodutivo daquelas que apresentaram regressão abdominal. A análise conjunta desses resultados permitiu entender melhor como a espécie segrega atividades de reprodução e crescimento, numa estratégia caracterizada pela maturidade sexual precoce e um potencial de crescimento indeterminado após a muda da puberdade.

O segundo objetivo foi avaliar a dinâmica da alteração morfotípica de fêmeas adultas como resposta à exposição de diferentes níveis de interação (química, visual ou tátil) com conspecíficos (machos e fêmeas), e avaliar o comportamento de machos frente a fêmeas que mantiveram a tipologia reprodutiva e fêmeas que apresentaram regressão abdominal. Uma vez que a espécie apresenta hábitos sociais (Abele, *et al.* 1986), esses experimentos foram delineados para tentar verificar se a presença de conspecíficos pode também modular a resposta fisiológica das fêmeas, e se os machos conseguem detectar diferentes morfótipos, evitando gastos desnecessários em atividades de corte e cópula com fêmeas não aptas à reprodução.

*Materiais e Métodos*



### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1 Coleta dos animais

Os caranguejos foram capturados manualmente em quatro etapas distintas, precedendo cada um dos experimentos realizados, no costão oeste da Praia de Barequeçaba (23°49'39''S; 45°26'29''O), São Sebastião, SP. Os animais alvo do presente estudo foram principalmente fêmeas nos últimos estágios juvenis entre 5.5 a 6.5 de largura da carapaça (LC) (Experimento 1) e primeiros adultos (Experimentos 2-4), entre 5.5 e 10.0 mm de LC. A observação da morfologia abdominal foi utilizada para discriminar entre indivíduos adultos e juvenis. No primeiro experimento, houve o risco de incluir adultos em estágio de repouso reprodutivo (Flores e Negreiros-Fransozo, 1999b), mas tal possibilidade é muito pequena na época do ano em que os animais foram coletados (ver abaixo). Nos experimentos 3 e 4 foram ainda capturados machos nessa mesma amplitude de tamanho, em quantidade suficiente para poder concluir esses experimentos. Animais dessas dimensões tendem a se concentrar em interstícios de biótopos biogênicos, como aqueles formados por colônias de poliquetas sabelariídeos e zonas de cobertura de bivalves mitilídeos (Flores e Negreiros-Fransozo, 1999b). No local de coleta, estes caranguejos foram predominantemente encontrados entre bivalves da espécie *Isognomon bicolor* (C. B. Adams, 1845), ou em espaços criados após a morte de certos invertebrados, principalmente entre as valvas de mitilídeos da espécie *Brachidontes solisianus* (d'Orbigny, 1846), ou no interior de cracas da espécie *Tetraclita stalactifera* (Lamarck, 1818)

### **3.2 Experimentos 1 e 2: Controle ambiental da muda da puberdade e regressão de caracteres sexuais secundários**

*Análises de laboratório* – Os experimentos 1 e 2 foram idênticos, à exceção que no primeiro, decorrido entre outubro de 2007 e janeiro de 2008, foram mantidas em cativeiro fêmeas juvenis (com morfologia correspondente ao morfótipo I), com tamanho suficiente para sofrer a muda da puberdade, enquanto que no segundo experimento, entre março e julho de 2008, foram mantidas fêmeas adultas (identificadas como morfótipo II), para estudar o controle ambiental da regressão abdominal e, portanto, da muda para um estágio de repouso reprodutivo.

Em ambos os casos foram utilizadas quatro câmaras de germinação, mantidas em combinações específicas de fotoperíodo e temperatura, com base em valores desses parâmetros obtidos na região de estudo. Condições contrastantes de fotoperíodo (fp) são encontradas durante os solstícios de inverno e verão, respectivamente 10.7 (fp1) e 13.5h (fp2). Os valores de temperatura (t) foram estabelecidos de acordo com registros históricos na superfície do mar, variando de 21 (t1) a 26°C (t2). As combinações utilizadas foram, portanto, fp1/t1, fp1/t2, fp2/t1 e fp2/t2, referidas daqui em diante como ‘tratamentos’. Para evitar um efeito indesejado provocado por características próprias de cada câmara (eventuais diferenças entre a produção de ruídos, resíduos voláteis devido ao desgaste de peças, etc.), procedeu-se a um rodízio dos tratamentos, reprogramando cada câmara a cada quatro dias.

Em cada experimento, 160 animais foram individualizados em recipientes de acrílico de 120 ml e sorteados entre os quatro tratamentos, perfazendo 40 caranguejos por tratamento. Uma vez alocados em sua câmara, o fundo dos recipientes foi coberto com água e pequenas pedras, adicionadas como substrato. Os animais foram

alimentados diariamente com fragmentos de camarão congelado. As trocas de água foram também diárias e todos os recipientes foram inspecionados duas vezes ao dia para verificar a ocorrência de muda. Sempre que detectada, procedeu-se à remoção do exoesqueleto antigo e sua fixação em solução de álcool a 98% e glicerina em partes iguais. Cada caranguejo foi mantido em cativeiro até ter sofrido a muda ao menos uma vez. A preservação do espécime foi realizada somente após um período de cinco a sete dias após a muda, para permitir que o exoesqueleto enrijecesse e fosse assim possível realizar mensurações precisas. Os espécimes que sofreram muda antes de uma semana após o início desses experimentos foram descartados, padronizando, dessa maneira, um tempo mínimo de manutenção sob condições experimentais.

A LC e a largura do abdômen (LA), registrada entre o quarto e quinto somito abdominal, foram medidas com precisão de 0.1 mm tanto para os espécimes fixados em vida como para as exúvias, utilizando para esse fim um estereomicroscópio (Olympus SZX 16) provido de uma ocular micrométrica. O abdômen de todos os espécimes foi ainda dissecado e fotografado com a utilização de uma câmera fotográfica digital (Nikon Coolpix 4500), acoplada a um estereomicroscópio (Zeiss Stemi SV11 APO), para obter medidas de sua área e para a identificação de morfótipos, conforme descrito por Flores e Negreiros-Franssozo (1999b). As imagens resultantes foram digitalizadas e a área abdominal mensurada por meio da utilização do programa ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, U.S.National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2009.)

**Análises numéricas e estatísticas dos dados - As variáveis-resposta utilizadas nos experimentos foram o fator de crescimento (FC),**

$$FC = \frac{(LC_2 - LC_1)}{LC_1} \times 100$$

onde *LC* é a largura da carapaça e os sub-índices 1 e 2 representam estágios sucessivos, o fator de crescimento abdominal (*AA*),

$$FCA = \frac{(AA_2 - AA_1)}{AA_1} \times 100$$

onde *AA* é a largura abdominal, e o índice de desenvolvimento (*ID*),

$$ID = FCA - FC$$

*ID*>0 indica alometria positiva, o que pode ocorrer em todas as fases de desenvolvimento, sendo acentuada na fase juvenil, máxima na ocasião da muda da puberdade e moderada durante a fase adulta (Flores e Negreiros-Fransozo, 1999b). *ID*=0 indica isometria e *ID*<0 indica alometria negativa, esperada em animais sujeitos a uma alometria negativa ou enantiometria, no caso a regressão abdominal.

A comparação do índice de desenvolvimento e do fator de crescimento entre os tratamentos foi realizada por meio de uma análise de variância de duas vias, na qual o fotoperíodo e a temperatura são fatores ortogonais e cada um conta com dois níveis. Em várias ocasiões os animais recém-mudados danificaram a respectiva exúvia, impossibilitando sua análise. Para poder ainda contar com um delineamento balanceado, procedeu-se à exclusão aleatória de dados para que todos os tratamentos contassem com um mesmo número de replicados. A homogeneidade de variâncias foi testada utilizando o procedimento de Cochran. Em todos os casos em que foi observada heterocedasticidade, a transformação dos dados (arco-seno) não foi suficiente para cumprir a premissa de igualdade de variâncias. Uma vez que os experimentos foram realizados com um elevado número de replicados ( $25 < n < 32$ ), a heterogeneidade de

variâncias não compromete a interpretação da análise Underwood (1997). Por esse motivo, o procedimento foi conduzido conforme o delineamento experimental descrito acima, utilizando os dados não transformados. Sendo que os fatores principais foram testados somente em dois níveis não houve necessidade de aplicar testes a posteriori na constatação de sua significância. Em um caso foi verificada a significância da interação desses dois fatores, procedendo-se então ao teste de Student-Newman-Keuls para identificar quais diferenças têm suporte estatístico.

A frequência de animais que mudaram para a puberdade (Experimento 1) ou que sofreram alteração morfotípica implicando em regressão abdominal (Experimento 2), de acordo com a variação de temperatura e fotoperíodo, foi analisada utilizando modelos log-lineares, equivalentes a modelos ortogonais de análise de variância. O procedimento consistiu na construção de tabelas de contingência de três dimensões, e em testes separados para (i) a interação entre os dois fatores ( $\chi^2_{mft}$ ,  $m$  designando ‘morfótipo’,  $f$  fotoperíodo e  $t$  temperatura), (ii) fotoperíodo ( $\chi^2_{mf}$ ) e (iii) temperatura ( $\chi^2_{mt}$ ), seguindo o protocolo de Bishop *et al.* (1975).

### **3.3 Experimento 3: Dinâmica da alteração morfotípica na presença de conspecíficos**

*Análises de laboratório* - O experimento foi realizado entre setembro de 2009 a novembro de 2009 em uma sala com aproximadamente 3X3 metros, a qual foi mantida a temperatura constante de 25°C. Foram utilizadas nove condições experimentais com 10 réplicas cada, totalizando 90 compartimentos de acrílico. Cada tratamento foi mantido a uma distância de aproximadamente um metro. Para este experimento foram capturados 120 fêmeas adultas e 90 machos no mesmo intervalo de tamanho. Os

caranguejos foram mantidos em recipientes de acrílico, devidamente montados para que houvesse interação entre os conspecíficos mediante diferentes estímulos (Figura 3). A alimentação dos animais e fixação das exúvias foi realizada da mesma forma que nos dois experimentos anteriores.



Figura 3- Caixa de acrílico utilizada no Experimento 3 para examinar a dinâmica da alteração morfológica em função da percepção diferencial de conspecíficos

Dentre os 90 compartimentos, 30 foram montados com divisórias transparentes, impedindo a circulação livre da água, mas possibilitando o contato visual entre os indivíduos (figura 4; caixas 2, 5, 8). Outras 30 caixas foram deixadas abertas, não havendo qualquer divisória que isolasse os caranguejos (figura 4; caixas 3, 6 e 9), sendo portanto possível o contato entre os indivíduos, permitindo a interação tátil, química e visual. Nas 30 restantes, foi colocada uma divisória transparente perfurada, permitindo que houvesse passagem de água entre os compartimentos (figura 4; caixas 1, 4 e 7). Nestas últimas, ocorreu a detecção visual e a percepção química entre os animais. Em todos os compartimentos foi colocada uma fêmea adulta (morfótipo mII), aleatoriamente a um dos lados no caso das caixas com divisória. Para cada nível de interação (divisória completa, divisória livre e sem divisória), o outro lado do

compartimento ora foi mantido desocupado, ocupado por outra fêmea de iguais características, ou ocupado por um macho. Dessa maneira foram estabelecidos nove tratamentos. Os registros foram válidos quando o tempo de permanência das condições experimentais foi, no mínimo, de cinco dias. As variáveis-resposta analisadas foram as mesmas descritas anteriormente. Todos os espécimes foram ainda classificados de acordo com sua condição morfológica.

*Análises numéricas e estatísticas* - O experimento teve um delineamento completamente ortogonal, com dois fatores, cada um com três diferentes níveis; 'interação' (visual; visual e química; visual, química e tátil) e 'conspecíficos' (ausente; fêmea; macho). Foram utilizados 10 replicados para cada combinação de níveis desses fatores. Testes à homogeneidade de variâncias e comparações múltiplas *a posteriori* foram conduzidos conforme explicado acima.

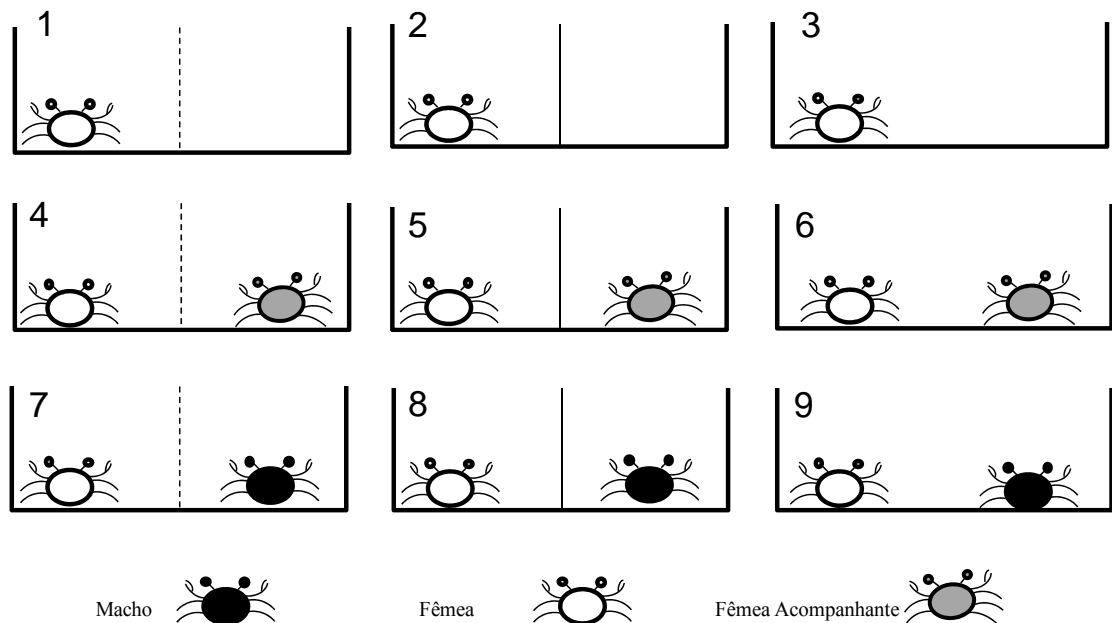


Figura 4- Esquema do delineamento do Experimento 3: Dinâmica da alteração morfológica na presença de conspecíficos.

### **3.4 Experimento 4: Comportamento de machos frente aos diferentes morfótipos femininos**

*Análises de laboratório* – O experimento foi realizado durante o mês de novembro de 2009. Neste caso, somente fêmeas pertencentes ao morfótipo II foram utilizadas, as quais foram inicialmente mantidas em uma câmara de germinação sob condições constantes de fotoperíodo e temperatura, semelhantes às condições ambientais do período de verão, conforme descrito acima. Os caranguejos permaneceram na câmara até sofrerem muda e enrijecerem seu exoesqueleto. Nessas condições de fotoperíodo e temperatura foi possível obter números suficientes de indivíduos pertencentes a ambos morfótipos e, dessa maneira, efetuar as comparações pretendidas. Os machos utilizados não foram mantidos na mesma câmara de germinação em que permaneceram as fêmeas, para minimizar o risco de contaminação por pistas químicas, ou mesmo para evitar a visualização entre os conspecíficos antes de ser realizado o experimento. Estes foram mantidos em uma sala com condições constantes de fotoperíodo e temperatura (12 horas claro; 25°C) e alimentados diariamente da mesma forma que as fêmeas mantidas na câmara de germinação.

O comportamento dos machos frente aos diferentes morfótipos femininos foi observado por meio de filmagens realizadas com uma câmara digital (Olympus Stylus tough-8000). Para a realização do experimento, foi utilizado um recipiente de acrílico compartimentalizado (figura 5). O repertório comportamental de cada macho foi registrado em três tempos. No primeiro (T1 = 5 minutos), foi filmado o comportamento do macho, mantido sem nenhum contato com fêmeas a um dos compartimentos da caixa, escolhido aleatoriamente. No segundo (T2 = 5 minutos), uma fêmea foi colocada no outro compartimento, porém ainda separados pela divisória, permitindo somente que os caranguejos pudessem entrar em contato visual, e que a água circulasse entre os



compartimentos. No terceiro momento (T3 = 10 minutos) a divisória foi retirada, permitindo que os indivíduos interagissem livremente (Figura 3).

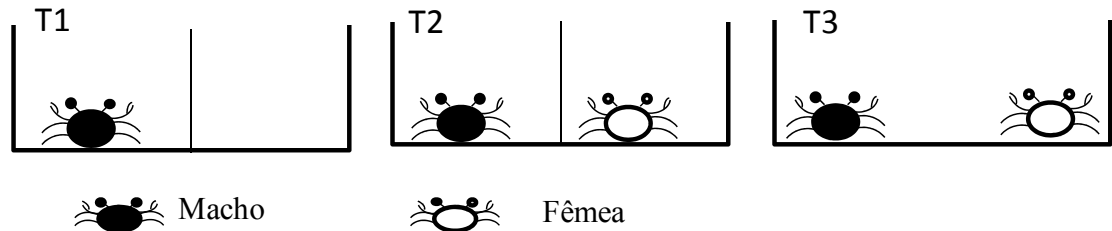


Figura 5- Esquema do delineamento do Experimento 4: Comportamento de machos frente aos diferentes morfótipos femininos.

As filmagens foram analisadas em um micro-computador. Três comportamentos foram identificados; busca/exploração (BE, registrados em T1-T3), contato entre apêndices locomotores (CAL) (descrito como “*leg touch*” por Abele *et al.* 1986) e cópula (estes últimos apenas em T3). Para cada comportamento observado foi mensurada a latência (tempo em inatividade antes do início do comportamento) e a duração. Ambas variáveis foram registradas como a fração do tempo gasto em cada atividade no total do tempo do experimento. Somente o comportamento dos machos foi analisado.

O experimento foi realizado sem prévia discriminação do morfótipo da fêmea, evitando quaisquer vieses do observador. Após o término das filmagens, as fêmeas foram sacrificadas e fixadas. O morfótipo de cada indivíduo foi categorizado conforme explicado acima.

*Análises numéricas e estatísticas* – A proporção de machos que exibiram BE, CAL ou que copularam foi comparada entre fêmeas mI e mII através de um teste Z. Comparações entre esses morfótipos para a latência e a duração do comportamento foram realizadas através de um teste *t*, corrigido para o não balanceamento e heterocedasticidade quando necessário. Uma vez que se partiu da hipótese alternativa que esses comportamentos seriam mais frequentes em resposta a fêmeas mII, ambos os testes foram mono-caudais.

*Resultados*

## 4. Resultados

### 4.1 *Experimento I: Controle ambiental da muda da puberdade*

Foram detectadas diferenças significativas no índice de desenvolvimento somente com relação à temperatura (Tabela I). O desenvolvimento abdominal foi maior em temperaturas reduzidas (Figura 7A).

A maior proporção de animais que efetuaram a muda da puberdade (mudança da morfologia juvenil para a adulta) foi observada na temperatura baixa ( $\chi_{mt}^2 = 4.59$ ; gl= 1;  $p=0.03$ ), independentemente da condição de fotoperíodo ( $\chi_{mft}^2 = 5.39$ ; gl= 4;  $p=0.25$ ). Não houve efeito do fotoperíodo ( $\chi_{mf}^2 = 0.15$ ; gl= 1;  $p=0.70$ ). Sob temperatura representativa de condições de inverno 39.2% das fêmeas efetuaram a muda da puberdade, enquanto somente 19.6% o fizeram em condições de verão.

Tabela I. Experimento I: Controle ambiental do muda da puberdade. Resultado da análise de variância para testar o efeito do fotoperíodo e da temperatura no índice de desenvolvimento e no fator de crescimento. *C* indica o valor da estatística de Cochran.

Fv	índice de desenvolvimento			fator de crescimento		
	gl	F	P	gl	F	P
Fotoperíodo (Ft)	1	0.05	0.815	1	0.12	0.727
Temperatura (T)	1	6.31	0.014	1	6.39	0.013
Ft x T	1	0.07	0.798	1	2.19	0.141
Resíduo	96			120		
	<i>C</i> = 0.4383 $p < 0.05$			<i>C</i> = 0.3280 <i>ns</i>		

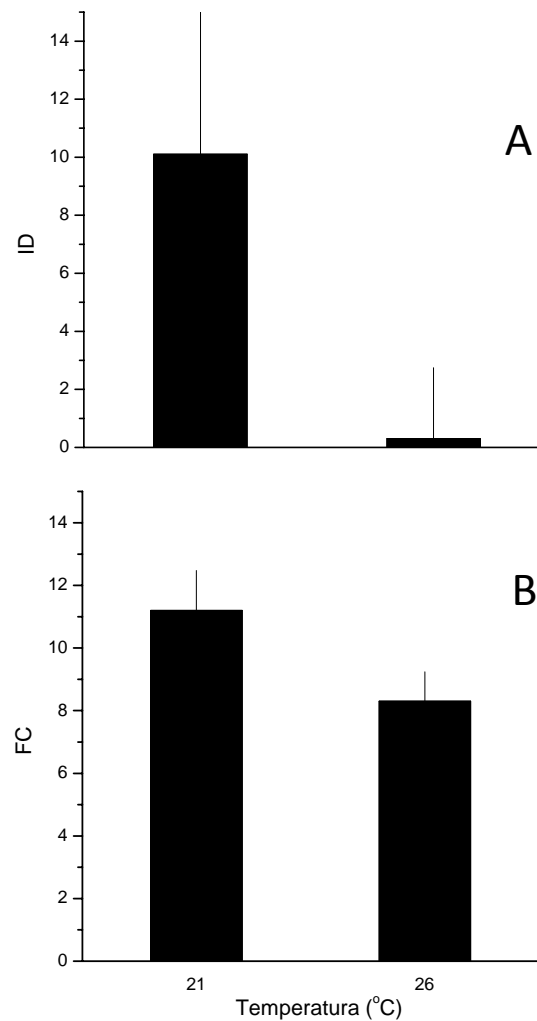


Figura 7– Índice de desenvolvimento (A) e Fator de crescimento (B) observados a temperaturas de e inverno (21°) verão (26°). As barras indicam respectivos erros-padrão.

Com relação ao fator de crescimento, foi encontrada diferença significativa somente para temperatura (Tabela I), indicando um maior crescimento das fêmeas mantidas sob condições de temperatura condizentes ao inverno (Figura 7B).

#### 4.2 Experimento 2: Controle ambiental da regressão de caracteres sexuais secundários

Para o índice de desenvolvimento não foram verificados resultados significativos para o fotoperíodo, a temperatura, nem para a interação entre esses fatores (Tabela II). Conforme é mostrado na figura 8, o valor médio desse parâmetro é inferior

a zero, independentemente do tratamento, o que mostra que fêmeas adultas em cativeiro, sem outros estímulos, não conseguem manter sua tipologia reprodutiva sendo freqüente a regressão abdominal. Não foi verificado um efeito do fotoperíodo ( $x^2_{mf}=1.29$ ;  $gl=1$ ;  $p=0.26$ ), da temperatura ( $x^2_{mt}=0.14$ ;  $gl=1$ ;  $p=0.71$ ) ou da interação entre esses fatores na incidência da regressão abdominal ( $x^2_{mf}=3.04$ ;  $gl=4$ ;  $p=0.55$ ).

Tabela II- Experimento 2: controle ambiental da regressão de caracteres sexuais secundários. Resultado da análise de variância para testar o efeito do fotoperíodo e da temperatura no índice de desenvolvimento e no fator de crescimento. *C* indica o valor da estatística de Cochran.

Fv	índice de desenvolvimento			fator de crescimento		
	gl	F	P	gl	F	P
Fotoperíodo (Ft)	1	0.01	0.927	1	2.52	0.0115
Temperatura (T)	1	0.04	0.845	1	1.39	0.2420
Ft x T	1	1.46	0.230	1	5.54	0.0200
Resíduo	112			124		
	<i>C</i> = 0.5309 $p < 0.05$			<i>C</i> = 0.2910 $p < 0.05$		

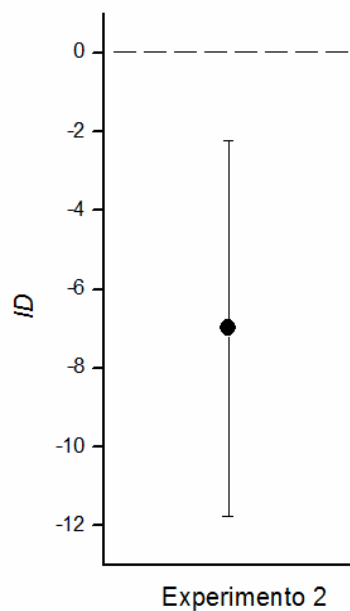


Figura 8– Experimento 2. Índice de desenvolvimento (*ID*) das fêmeas adultas em cativeiro. As barras de erro indicam o intervalo de confiança a 95%.

O fator de crescimento apresentou resultado significativo para a interação entre fotoperíodo e temperatura (Tabela II).

Quando submetidas ao fotoperíodo de inverno, o crescimento foi maior em temperaturas baixas (Figura 9). Não houve diferenças entre grupos mantidos sob fotoperíodo de verão

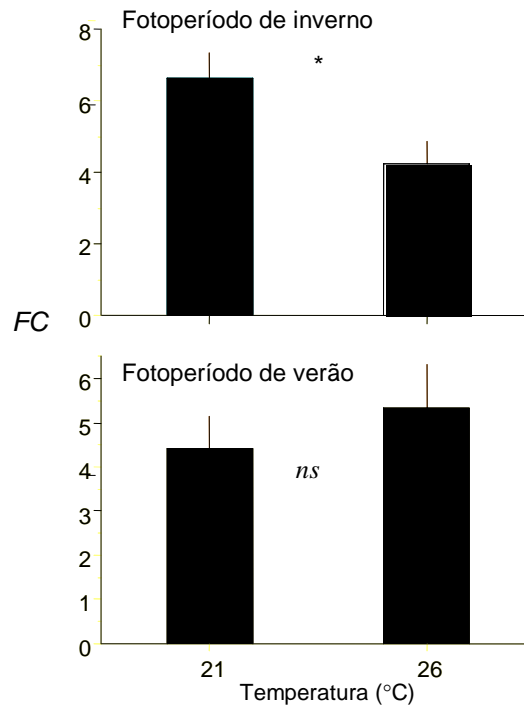


Figura 9- Experimento 2. Fator de crescimento observado a diferentes condições de fotoperíodo e temperatura. As barras indicam erros-padrão.\* $p < 0,05$ ; ns: não significativo

A comparação do fator de crescimento das fêmeas de diferentes morfótipos (MI e MII), não apresentou resultados significativos ( $t_s = 1,38$ ;  $g.l. = 22$ ;  $p > 0,05$ ).

#### 4.3 Experimento 3: Dinâmica da alteração morfotípica na presença de conspecíficos

Nenhuma das fêmeas mantidas neste experimento sofreu regressão abdominal.

Não foram verificadas diferenças significativas no índice de desenvolvimento entre os diferentes níveis de “presença de conspecíficos” (fêmea sozinha, fêmea na presença de macho e fêmea na presença de outra fêmea), nem entre os tipos de interação a que foram submetidos (química, visual, tátil) (tabela V).

Tabela V- Experimento 3: Dinâmica da alteração morfológica na presença de conspecíficos. Resultado da análise de variância para testar a influência da presença de conspecíficos e do tipo de interação entre eles no índice de desenvolvimento e fator de crescimento. *C* indica o valor da estatística de Cochran.

Fv	índice de desenvolvimento			fator de crescimento		
	gl	F	P	gl	F	P
Conspecíficos (Co)	2	1.83	0.167	1	0.24	0.7880
Interação (In)	2	0.84	0.437	1	0.19	0.8280
Co x In	4	1.69	0.159	1	2.54	0.0460
Resíduo	81			124		
	<i>c</i> = 0.2121	<i>ns</i>		<i>c</i> = 0.1672	<i>p</i> < 0.05	

O fator de crescimento apresentou resultado significativo para a relação entre a presença de conspecíficos versus o tipo de interação entre eles (tabela V). Porém, nenhuma das comparações *a posteriori*, entre os grupos rendeu resultados significativos.

#### 4.4 Experimento 4: Comportamento de machos frente aos diferentes morfótipos femininos

Tanto no primeiro (T1) quanto no segundo tempo (T2) não foram observados resultados significativos para os parâmetros analisados (BE). Para o terceiro tempo (T3) (Tabela VII) constatou-se uma diferença significativa entre machos e fêmeas com diferentes morfótipos. Observamos que quando na presença de fêmeas com morfologia MII a porcentagem de machos que desempenham um tipo de repertório sexual, no caso, cópula mais o contato entre os apêndices locomotores (CAL) é significativamente maior ( $p < 0,05$ ) quando comparado com machos na presença de fêmeas regressivas (MI).

Tabela VII- Experimento 4: Comportamento de machos frente aos diferentes morfótipos femininos. Resultado do teste de proporções para a análise do comportamento em T3.

	A: Busca/ Exploração (BE)			B: CAL			C: Cópula		Interação física (B+C)	
	F <sup>1</sup>	L <sup>2</sup>	D <sup>3</sup>	F	L	D	F	D	F	D
mI(nI)	0.38(13)	194.8(5)	8.13(5)	0.38(13)	57.2(5)	6.5(5)	0.23(13)	15.6(3)	0.38(13)	16.6(7)
mII(nII)	0.36(25)	86.2(9)	21.4(9)	0.56(25)	91.9(14)	11.2(14)	0.36(25)	26.5(9)	0.56(25)	27.6(13)
( <i>p</i> )	0.559	0.200	0.112	0.147	0.27	0.085	0.196	0.134	0.147	<b>0.033</b>

MI/II- morfótipo a que as fêmeas pertenciam. nI/II- número de indivíduos. 1- Porcentagem de machos que desempenharam o comportamento em questão; 2- Porcentagem do tempo em latência (somente considerado para BE e Cal, visto que CAL sempre precedia a cópula); 3- Porcentagem do tempo de duração de cada comportamento.

*Discussão*



## 5. Discussão

O crescimento somático das fêmeas juvenis de *P. transversus*, em cativeiro, foi maior sob temperatura condizente ao período de inverno, independente das condições de fotoperíodo. Levando-se em consideração que o verão é a época de maior intensidade reprodutiva, espera-se que ocorra durante esse período uma alocação de grande parte das reservas energéticas das fêmeas para o processo reprodutivo, enquanto que no inverno essas sejam investidas em crescimento somático. Os resultados do presente trabalho, portanto, demonstram a importância da temperatura na regulação do crescimento, já documentada em estudos anteriores (Giese e Pearse, 1974; Kinne, 1970; Hartnoll, 2001). O mesmo ocorreu com as fêmeas adultas no Experimento 2, inclusive na interação da temperatura com o fotoperíodo. Sob o fotoperíodo de inverno, o crescimento foi maior em temperaturas mais baixas, corroborando a hipótese da existência de crescimento diferencial em indivíduos submetidos a condições de inverno. A ação sinérgica dessas duas variáveis já foi também verificada por outros autores, inclusive para outros grupos de invertebrados marinhos (Olive, 1995).

A incidência de fêmeas juvenis que sofreram a muda a puberdade e o índice de desenvolvimento foram superiores em fêmeas mantidas sob temperatura de inverno. Dessa maneira, indivíduos pré-puberais desta espécie na região de estudo podem atingir a maturidade sexual bem antes da estação reprodutiva, assegurando sua participação no efetivo reprodutor logo no seu início. Fêmeas nos últimos estágios juvenis do congênera *P. marmoratus* já apresentam desenvolvimento inicial dos ovários, sendo que a vitelogenese secundária ocorre após a muda da puberdade, já durante a primavera ou o verão, coincidindo com a estação favorável à reprodução (Flores e Paula 2002). Os resultados apresentados neste estudo devem ser interpretados à luz da ecologia

reprodutivo dos Grapsidae (*sensu* Schubart *et al.*, 2000). A com representantes pertence a dois gêneros, *Grapsus* e *Pachygrapsus*, que habitam a região do entre-marés de costas rochosas, desde regiões tropicais até regiões temperadas quentes. Em maiores latitudes, outros braquiúros ocupam o seu nicho ecológico, como, por exemplo, juvenis de cancrídeos que atingem porte para a exploração comercial, e o caranguejo verde *Carcinus maenas*, tanto na Europa como na América do Norte (Beukema, 1991; Moksnes, 2002).

A distribuição biogeográfica dos grapsídeos pode estar relacionada com sua estratégia de crescimento e reprodução. Ao contrário de braquiúros pertencentes às super-famílias Majoidea e Portunoidea (caranguejos-aranha e siris, respectivamente), cujo crescimento é interrompido após a muda da puberdade (anecdise terminal, conforme referido por Hartnoll, 1963, 2001; Laufer *et al.*, 1993; Skinner, 1985), ou um crescimento restrito a um número muito reduzido de mudas (Huxley *et al.*, 1930; Queiroga, 1989), os Grapsoidea apresentam crescimento indefinido após a maturidade sexual. Análises comparativas dentro de determinados grupos zoológicos têm mostrado que existe uma tendência de decréscimo do tamanho relativo da maturidade sexual (*sensu* Charnov, 1990) de maiores a menores latitudes.

Espera-se que espécies que atinjam maturidade sexual muito cedo, como *P. transversus*, cuja muda da puberdade ocorre com cerca de um terço a um quarto do tamanho máximo (Flores e Negreiros-Fransozo, 1999b), apresentem mecanismos fisiológicos que lhes permitam segregar de forma eficiente reprodução e crescimento. Embora o pico da atividade reprodutiva seja maior durante o verão, a baixa sazonalidade dos fatores ambientais na região deste estudo permite que as espécies reproduzam durante todo o ano (Flores e Negreiros-Fransozo, 1999a), o que não é comum a espécies de regiões temperadas, onde a reprodução pode cessar em

determinada época do ano (Ikeda, 1985; Buchholz *et al.*, 1996; Dalpadado *et al.*, 2008a). O descanso reprodutivo, observado morfológicamente por meio da regressão abdominal, poderia ser uma estratégia reprodutiva que concilie energia entre os processos fisiológicos de crescimento e reprodução ao longo do ciclo de vida desta espécie. Apesar de serem registradas ainda proporções consideráveis de indivíduos com morfótipo reprodutivo (cerca de 50%, Flores e Negreiros-Fransozo, 1999b) e fêmeas ovígeras (10%, Flores e Negreiros-Fransozo, 1998) durante o outono e o inverno, os dados obtidos neste estudo sugerem que tanto as fêmeas juvenis como as adultas investem principalmente no crescimento nessas estações, o que não seria possível se as condições ambientais mudassem drasticamente, como observado em regiões temperadas frias.

Os resultados do Experimento 2 mostram uma alta incidência de mudas para o estágio de repouso sexual em todas as condições experimentais às quais os animais foram submetidos, demonstrando que esse processo pode ser relativamente comum para a espécie do presente estudo. Apesar de ser ainda pouco documentado, tal mecanismo é capaz de explicar porque a redução extrema do tamanho da maturidade sexual pode ser vantajosa. A regressão abdominal em fêmeas de *P. transversus* foi observada com maior frequência fora da estação reprodutiva, durante os meses de inverno (Flores *et al.*, 1999b). Dessa forma, seria esperada sua maior frequência na condição experimental que simulou essa estação. Porém a proporção de fêmeas regressivas e o índice de desenvolvimento não diferiram entre os tratamentos, sendo que a média deste parâmetro foi inferior a zero para todos os indivíduos mantidos nesse experimento. Esse dado indica que fêmeas adultas em cativeiro, na ausência de outros estímulos, não conseguem manter sua tipologia reprodutiva (mII), sendo frequente a regressão abdominal. Outros estímulos ambientais, não manipulados neste experimento, estão certamente

relacionados com o controle da alternância morfológica nas populações em seu ambiente natural.

A igualdade no crescimento de fêmeas mI e mII, não corrobora a hipótese de que fêmeas em repouso reprodutivo alocam energia para o crescimento somático, não sendo um processo que aumenta o rendimento reprodutivo em curto prazo, com uma fase de repouso que potencializa o tamanho corpóreo e a fecundidade. Duas hipóteses alternativas, embora especulativas, podem explicar esse resultado. É possível que o tempo de cativeiro, compreendendo apenas um período de intermuda, não tenha sido suficiente para detectar o crescimento diferencial entre os morfótipos, principalmente se as diferenças ocorrerem no estágio subsequente ao analisado. Nesta perspectiva, o cronograma de trabalho não permitiu a verificação dessa possibilidade. Por outro lado, os dados podem indicar uma estratégia alternativa, na qual a muda para um estágio inativo, marcado por uma regressão abdominal, estaria relacionada com o comportamento social da espécie.

Abele e colaboradores (1986) demonstraram a existência de uma estrutura social, na qual existe uma demarcação do substrato rochoso em territórios, contendo machos dominantes, machos subordinados, fêmeas adultas e fêmeas juvenis. Os machos dominantes, em minoria, defendem seu habitat de machos subordinados, enquanto fêmeas circulam livremente entre esses territórios. Ainda nesse estudo, os autores observaram um maior número de cópulas entre fêmeas e machos dominantes, sendo que estes impediam repetidamente a cópula de fêmeas com machos subordinados. Machos dominantes selecionam fêmeas maiores, o que provavelmente proporciona certas vantagens à prole (Adams *et al.*, 1989; Birkhead e Clarkson, 1980). Tal estudo demonstra que fêmeas adultas pequenas, após sofrerem a muda para um estágio de inatividade, não são tão procuradas por machos, o que representa uma economia de

recursos para ambos os sexos. Em longo prazo, essa estratégia propiciaria que essas fêmeas alcançassem maiores tamanhos e fossem assim selecionadas por machos dominantes quando se tornassem maiores. Em experimentos de curta e média duração não seria possível verificar essas diferenças, já que os benefícios referidos acima seriam somente obtidos ao longo de parte significativa da fase adulta.

No laboratório, foi somente oferecido o estímulo de machos na faixa de tamanho correspondente a indivíduos subordinados. Para testar essa possibilidade, seria importante verificar também como as fêmeas responderiam na presença de machos dominantes. A incidência da regressão abdominal nessas condições daria suporte a essa hipótese. No Experimento 2, a ausência de qualquer tipo de estímulo vindo de conspecíficos resultou numa alta frequência de fêmeas regressivas em todos os tratamentos, independentemente das condições ambientais à que foram expostas. Na natureza, essa proporção de fêmeas em repouso sexual não deve ser frequente, embora seja possível em condições de reduzida densidade populacional.

Os resultados do Experimento 3 mostram que fêmeas mantidas em cativeiro em diferentes níveis de contato com conspecíficos apresentaram padrões de crescimento e desenvolvimento semelhantes. No entanto, nenhuma destas fêmeas apresentou regressão abdominal, indicando que algum estímulo presente em todos os tratamentos deste experimento e ausente no experimento anterior foi responsável pela manutenção do morfótipo reprodutivo. Segundo a literatura, a muda e os processos a ela relacionados são governados por mecanismos fisiológicos e suas respostas mediadas por hormônios (Sastry, 1983). Uma ampla literatura aponta para a existência de feromônios sexuais relacionados ao comportamento de corte e cópula presentes na urina de muitas espécies de crustáceos. No entanto, são escassos os estudos que relacionam a liberação de pistas químicas por conspecíficos com a ativação de processos fisiológicos em

crustáceos, existindo apenas evidências indiretas dessa influência (Passano, 1969; Sastry, 1983). É provável que a presença de feromônios sexuais liberados por machos possa estimular, ou inibir, o desenvolvimento de caracteres sexuais e a maturação de ovários em fêmeas.

Embora o delineamento experimental tentasse separar e discriminar o tipo de pistas químicas utilizadas nesse processo, os resultados do estudo sugerem que, de alguma forma, ocorreu contaminação química entre os tratamentos. Apesar de vários cuidados tomados durante a manipulação experimental, não pode ser descartado que algumas substâncias tenham sido transportadas de um recipiente para o outro ao alimentar os animais, trocar a água, ou limpar os recipientes. É sabido que os feromônios podem ser importantes agentes de comunicação sexual e sua eficiência é muito elevada, mesmo em quantidades muito reduzidas (Naylor e Bamber, 1997), o que não deveria ocorrer em espécies semi-terrestres, nos quais sinais visuais e acústicos são especialmente importantes (Hartnoll, 1969; Salmon, 1983; Schöne, 1968).

De fato, não há estudos que comprovem a existência de feromônios sexuais solúveis em água, ou transportados pelo ar, para estes crustáceos. Porém, os resultados obtidos no Experimento 2 e nos tratamentos do Experimento 3, nos quais não foram incluídos machos, foram muito diferentes. Apesar de não ser conhecido como esse contato ocorreu, conclui-se que a presença de machos foi o fator que deflagrou a manutenção da condição reprodutiva nesse experimento. Esse dado contraria ainda as generalizações sobre a comunicação sexual entre crustáceos semi-terrestres e sugerem a existência de feromônios sexuais para esta espécie.

A sinalização da receptividade sexual é importante para que os machos invistam em comportamentos de corte e a cópula apenas durante o período em que as fêmeas encontram-se receptivas, evitando contato sexual com fêmeas não aptas à reprodução

(Hartnoll, 1969), com no caso das fêmeas que sofreram regressão abdominal (mI) no presente estudo. Os grapsídeos não apresentam um elaborado repertório comportamental durante a corte e a cópula. As fêmeas de *P. transversus* copulam durante todo o período intermuda, ao contrário de outros Grapsoidea que copulam somente durante um período muito restrito, quando o opérculo encontra-se descalcificado (Hartnoll, 1969). Tipicamente, o macho aproxima-se da fêmea e a apreende junto a ele iniciando-se a cópula (Abele *et al.*, 1986). Todas as cópulas observadas no Experimento 4 tiveram início com o CAL, havendo um aumento da vibração e da intensidade desse contato nos momentos que precedem a cópula, o que já foi observado anteriormente (Abele *et al.*, 1986; Hartnoll, 1968). Após esse contato o par aproxima-se, um indivíduo de frente para o outro, e encaixam seus abdomens. Em todos os casos, esse processo teve duração de aproximadamente três minutos, e, na maioria das vezes, a fêmea empurra o macho ao término da cópula e inicia-se um comportamento agonístico, caracterizado por uma postura de elevação das quelas, enfrentamento e fuga (Abele *et al.*, 1986; Hartnoll, 1968).

Os resultados do Experimento 4 demonstram que machos isolados, ou separados de fêmeas por uma divisória, não apresentaram resultados significativos com relação ao comportamento de busca e exploração, embora a divisória de separação fosse transparente, permitindo o contato visual. O contato tátil é aparentemente mais importante, uma vez que, removida a divisória, os animais respondiam a vibrações na água, se aproximavam e investiam comportamentos que envolvem contato físico, nomeadamente CAL e cópula.

Esses comportamentos foram menos freqüentes em fêmeas mI do que em fêmeas mII, demonstrando que machos conseguem discriminar fêmeas em repouso daquelas aptas à reprodução. Neste estudo, fêmeas em repouso, com morfologia abdominal

regressiva, não são tão atrativas aos machos, da mesma maneira que fêmeas com opérculo calcificado não são tão procuradas por machos de *Cyclograpsus lavauxi* (Brockerhoff e McLay, 2005a).

Embora muitos estudos apontem o descanso reprodutivo como uma estratégia que pudesse conciliar energia para o crescimento e a reprodução (Hartnoll, 1982; Hartnoll e Gould, 1988), nossos resultados não dão suporte a essa hipótese, e sugerem uma possível relação entre a alteração morfotípica e a estruturação social da espécie em estudo, fato já observado em trabalhos anteriores para outros crustáceos (Duffy *et al.*, 2000; Kuris *et al.*, 1987). Pudemos observar que os fatores abióticos (fotoperíodo e temperatura) exercem influência sobre o crescimento tanto de fêmeas juvenis como de fêmeas adultas. Entretanto, nossos dados não demonstram a influência desses mesmos fatores sob a regressão abdominal, e a manutenção do estado reprodutivo em fêmeas adultas. A presença de machos parece ser chave para a manutenção da condição reprodutiva de fêmeas, embora os resultados do Experimento 3 não fossem conclusivos. Estudos futuros são necessários para melhor elucidar os mecanismos que alavancam a alteração morfotípica nesta espécie, especialmente no que permeia o controle exercido por diferentes grupos dentro de uma organização social.



## *Referências Bibliográficas*

## 6. Referências Bibliográficas

ABELE, L.G.; CAMPANELLA, P.J.; SALMON, M. (1986). Natural history and social organization of the semiterrestrial grapsid crab *Pachygrapsus transversus* (Gibbes). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 104: 153-170.

ADAMS, J.; WATT, P.J.; NAYLOR, C.J. (1989). Loading constraints, body size and mating preference in *Gammarus* species. **Hydrobiologia**, 183: 157-164.

ADIYODI, K.G.; ADIYODI, R.G. (1970). Endocrine control of reproduction in decapod. **Crustacean Biology Reviews**, 45: 121-165.

AMEYAW-AKUMFI, C.; HAZLETT, B.A. (1975). Sex recognition in crayfish *Procambarus clarkii*. **Science**, 190: 1225-1226.

ATEMA, J. (1984). Review of sexual selection and chemical communication in the lobster, *Homarus americanus*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 43: 2283-2290.

BAEZA, J.A.; FERNÁNDES, M. (2002). Active brood care in *Cancer setosus* (Crustacea: Decapoda): the relationship between female behavior, embryo oxygen consumption and cost of brooding. **Functional Ecology**, 16: 241-251.

BAMBER, S.D.; NAYLOR, E. (1997). Sites of release of putative sex pheromone and sexual behavior in female *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 44: 195-202.

BAUER, R. (1981). Color patterns of the shrimps *Heptacarpus pictus* and *H. paludicola* (Caridea: Hippolytidae). **Marine Biology**, 64: 141-152.

BAUER, R. (1982). Polymorphism of color pattern in the caridean shrimps *Heptacarpus pictus* and *H. paludicola*. **Marine Behavior Physiology**, 8: 249-265.

BEUKEMA, J.J. (1991). The abundance of shore crabs *Carcinus maenas* on a tidal flat in the Wadden Sea after cold and mild winters. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 153: 97-113.

BIRKHEAD, T.R.; CLARKSON, K. (1980). Mate selection and precopulatory guarding in *Gammarus pulex*. **Zeitschrift fur Tierpsychologie**, 52: 365-380.

BISHOP, Y.M.; FIENBERG, M.; HOLLAND, P.W. (1975). **Discrete multivariate analysis**. Cambridge, MA: MIT Press.

BREWIN, P.E.; LAMARE, M. D.; KEOGH, J.A.; MLADENOV, P.V. (2000). Reproductive variability over four-year period in the sea urchin *Evechinus chloroticus* (Echinoidea: Echinodermata) from differing habitats in New Zealand. **Marine Biology**, 137: 543-557.

BROCKERHOFF, A.M. (2004). Occurrence of the internal parasite *Portunium sp.* (Isopoda: Entoniscidae) and its effect on reproduction in intertidal crabs (Decapoda: Grapsidae) from New Zealand. **Journal of Parasitology**, 90: 1338-1344.

BROCKERHOFF, A.M.; MCLAY, C.L. (2005a). Comparative analysis of the mating strategies in grapsid crabs with special references to the intertidal crabs *Cyclograpsus lavauxi* and *Helice crassa* (Decapoda: Grapsidae) from New Zealand. **Journal of Crustacean Biology**, 25: 507-520.

BROCKERHOFF, A.M.; MCLAY, C.L. (2005b). Factors influencing the onset and duration of receptivity of female purple rock crabs, *Hemigrapsus sexdentatus* (H. Milne Edwards, 1837) (Brachyura: Grapsidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 314: 123-135.

BUCHHOLZ, F.; WATKINS, J.L.; PRIDDLE, J.; MORRIS, D.J.; RICKETTS, C. (1996). Moults in relation to some aspects of reproduction and growth in swarms of Antarctic krill, *Euphausia superba*. **Marine Biology**, 127: 201-208.

CARTAXANA, A. (2003). Fecundity and size at maturity of *Palaemon longirostris* (Decapoda, Palaemonidae) in the Mira River estuary (SW Portugal). **Invertebrate Reproduction & Development**, 43: 133-139.

CHARNOV, E.L. (1990). Relative Size at the Onset of Maturity (R<sub>sm</sub>) Is an Interesting Number in Crustacean Growth (Decapoda, Pandalidae). **Crustaceana**, 59: 108-109.

CHASSARD, C. (1956). Polymorphisme des populations d'Hippolyte varians Leach et comportement en fonction de leur adaptation chromatique présente. **Bulletin de la Société Zoologique**, 81: 413-418.

DALPADADO, P.; ELLERTSEN, B.; JOHANNESSEN, S. (2008a). Inter-specific variations in distribution, abundance and reproduction strategies of krill and amphipods in the marginal ice zone of the Barents Sea. **Deep Sea Research**, 55: 2257.

DENYS, C.J.; POLECK, T.P.; O'LEARY, M.M. (1981): Biological studies of krill, austral summer 1979-80. **Antarctic Journal of The United States**, 15: 146-147.

DOBZHANSKY, T. (1951). **Genetics and the origin of species**. Columbia University Press, New York.

DUFFY, J.E.; MORRISON, C.L.; RIOS, R. (2000). Multiple origins of eusociality among sponge-dwelling shrimps (*Synalpheus*). **Evolution**, 54: 503-516.

DUNHAM, P.J. (1978). Sex pheromones in Crustacea. **Biological Reviews**, 53: 555-583.

DUNHAM, P.J. (1988). Pheromones and behavior in Crustacea. **Endocrinology of Selected Invertebrate Types**, 375-392.

FLORES, A.A.V.; NEGREIROS-FRANSOZO, M.L.; FRANSOZO, A. (1998). The megalopa and juvenile development of *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1850) (Decapoda, Brahyura) compared with other grapsid crabs. **Crustaceana**, 71: 198-222.

FLORES, A.A.V.; NEGREIROS-FRANSOZO, M.L. (1999a). On the population biology of the mottled shore crab *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1850) (Brachyura, Grapsidae) in a subtropical area. **Bulletin of Marine Science**, 65: 59-73.

FLORES, A.A.V.; NEGREIROS-FRANSOZO, M.L. (1999b). Allometry of the second sexual characters of the shore crab *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1850) (Brachyura, Grapsidae). **Crustaceana**, 72: 1052-1066.

FLORES, A.A.V.; PAULA, J. (2002). Population dynamics of the shore crab *Pachygrapsus marmoratus* (Brachyura: Grapsidae) in the central Portuguese coast. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 82(2): 229-241.

FLORES, A.A.V.; SARAIVA, J.; PAULA, J. (2002). Sexual maturity, reproductive cycles, and juvenile recruitment of *Perisesarma guttatum* (Brachyura, Sesarmidae) at Ponta Rasa Mangrove swamp, Inhaca Island, Mozambique. **Journal of Crustacean Biology**, 22: 143-156.

FUKUI, Y. (1990). Breeding and molting of *Gaetice depressus* (de Haan) (Brachyura: Grapsidae) under laboratory conditions. **Researches on Crustacea**, 19: 83-9.

FUKUI, Y.; WADA, K. (1989). Ocypodidae, Mictyridae and Grapsidae (Crustacea: Brachyura) from some coast of Taiwan. **Journal of Taiwan Museum**, 42(1): 225-238.

- GIESE, A.C. (1959). Comparative physiology: annual reproductive cycles of marine invertebrates. **Annual Review of Physiology**, 21: 547-576.
- GIESE, A.C.; PEARSE, J.S. (1974). Introduction: general principles. In: GIESE, A. C.; PEARSE, J. S. **Reproduction of marine invertebrates**. Vol. 1: Acoelomate and Pseudocoelomate Metazoans. New York: Academic Press, 1-49.
- GUNTER, G. (1957). Temperature. In: HEDGPETH, G. **Treatise On Marine Ecology and Paleoecology**. Vol 1: Ecology. Memoirs of the Geological Society of America, 67: 159-184.
- HAEFNER, P.A.; SPAARGAREN, D.H. (1993). Interactions of ovary and hepatopancreas during the reproductive cycle of *Crangon crangon*. I. Weight and Volume relationships. **Journal of Crustacean Biology**, 13: 523-531.
- HARDEGE, J.D.; JENNINGS, A.; HAYDEN, D.; MÜLLER, C.T.; PASCORE, D.; BENTLEY, M.G.; CLARE, A.S. (2002). Novel behavioral assay and partial purification of a female-derived sex pheromone in *Carcinus maenas*. **Marine Ecology Progress Series**, 244: 179-189.
- HARTNOLL, R.C. (1963). The Biology of Manx Spider Crabs. **Proceedings of the Zoological Society of London**, 4: 423-496.
- HARTNOLL, R.G. (1982). Growth. In: Abele LG (ed.) The Biology of Crustacea, Embryology, Morphology, and Genetics. **Academic Press**, 1-196.
- HARTNOLL, R.G, RICE, A.L. (1985). Further studies on the biology of the deep-sea spider crab *Dorhynchus thomsoni*: instar sequence and the annual cycle. In: Gibbs PE (ed.) **Proceedings of the 19th European Marine Biology Symposium**. Devon, Plymouth, 231-243.
- HARTNOLL, R.G.; BRYANT, A.D. (2001). Growth to maturity of juveniles of the spider crabs *Hyas coarctatus* leach and *Inachus dorsettensis* (Pennant) (Brachyura: Majidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 263(2): 143-158.
- HARTNOLL, R. G.; GOULD, P. (1988). Brachyuran life history strategies and the optimization of egg production. Symposium - **Zoological Society of London**, 59: 1-9.
- HIATT, R.W. (1948). The biology of the lined shore crab *Pachygrapsus crassipes* Randall. **Pacific Science**, 2: 135-213.

HUXLEY, J.S.; RICHARDS, O.W. (1931). Relative growth of the abdomen and the carapace of the shore crab *Carcinus maenas*. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 17: 1001-1015.

IKEDA, T. (1985). Metabolic rates of epipelagic zooplankton as a function of body size and temperature. **Marine Biology**, 85: 1–11.

IMS, R. A. (1995). The ecology and evolution of reproductive synchrony. **Trends in Ecology & Evolution**, 5: 135-140.

KAMIO, M.; MATSUNAGA, S.; FUSETANI, N. (2002). Copulation pheromone in the crab *Telmessus cheiragonus* (Brachyura: Decapoda). **Marine Ecology Progress Series**, 234: 183-190.

KAPIRIS, K.; THESSALOU-LEGAKI, M. (2001). Sex-related variability of rostrum morphometry of *Aristeus antennatus* (Decapoda: Aristeidae) from the Ionian Sea (Eastern Mediterranean, Greece). **Hydrobiologia**, 449: 123–130.

KINNE, O. (1970). Temperature: animals-invertebrates. In: KINNE, O. **Marine Ecology**. Vol. I. Part 1: Environmental factors. London: Wiley-Interscience, 407-514.

KURIS, M.K.; RA'ANAN, Z.; SAGI, A.; COHEN, D. (1987). Morphotypic differentiation of male Malaysian giant prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. **Journal of Crustacean Biology**, 7: 219-237.

LAUFER, H.; AHL, J.; ROTLLANT, G.; BACLASKI, B. (2002). Evidence that ecdysteroids and methyl farnesoate control allometric growth and differentiation in a crustacean. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, 32: 205-210.

LAUFER, H.; AHL, J.S.B.; SAGI, A. (1993). The role of juvenil hormones in crustacean reproduction. **American Zoologist**, 33: 365-374.

LAUFER, H.; DEMIR, N.; PAN, X.J.; STUART, J.D.; AHL, J.S.B. (2005). Methyl farnesoate controls adult male morphogenesis in the crayfish, *Procambarus clarkii*. **Journal of Insect Physiology**, 51: 379-384.

MAKROV, R.R. (1976) Reproduction of *Euphausia superba* (Dana) (Crustacea, Euphausiacea). Trudy. Vses nauchno-issled. Inst. Morsk. Khoz. **Okeanogr**, 110: 85-89.

- MARTIN, P.; BATESON, P. (1993) Measuring behavior. Cambridge University Press. *Chasmagnathus granulata* (Crustacea, Brachyura, Grapsidae). **Cahiers de Biologie Marine**, 40: 155–164.
- MCWHINNIE, M.A.; DENYS, C.J. (1980): The high importance of the lowly Krill. **Natural History Marine**, 89(3): 66-73.
- MCWHINNIE, M.A.; DENYS, C.J.; PARKIN, R.; PARKIN, K. (1979): Biological investigation of *Euphausia superba* Dana. **Antarctic Journal of The United States**, 14: 163-164.
- MOKSNES, P. O. (2002) The relative importance of habitat-specific settlement, predation and juvenile dispersal for distribution and abundance of young juvenile shore crabs *Carcinus maenas*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 271: 41–73.
- MORRITT, D.; STEVENSON, T. D. I. (1993). Factors influencing breeding initiation in the beachflea *Orchestia gammarellus* (Pallas) (Crustacea: Amphipoda). **Journal of Experimental Marine Biology Ecology**, 165: 191–208.
- OKUMURA, T.; HARA, M. (2004). Androgenic gland cell structure and spermatogenesis during the molt cycle and correlation to morphotipic differentiation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Zoological Science**, 6: 621-628.
- OLIVE, P. J. W. (1995). Annual breeding cycles in marine invertebrates and environmental temperature: probing the proximate and ultimate causes of reproductive synchrony. **Journal of Thermal Biology**, 20: 79-90.
- PEARSE, J. S.; EERNISSE, D. J. (1982). Photoperiodic regulation of gametogenesis and gonadal growth in the sea star *Pisaster ochraceus*. **Marine Biology**, 67: 121-125.
- RA' ANAN, Z.; SAGI, A.; WAX, Y.; KARPLUS, I.; HULATA, G.; KURIS, A. (1991). Growth, Size Rank, and Maturation of the Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: Analysis of Marked Prawns in an Experimental Population. **The Biological Bulletin**, 181: 379-386.
- RYAN, E.P. (1966) Pheromone: evidence in a decapod crustacean. **Science**, 151: 340-341.

- SAGI, A.; RA'ANAN, Z. (1988) Morphotypic differentiation of males of the freshwater prawn *Machrobrachium rosenbergii*: changes in the midgut glands and the reproductive system. **Journal of Crustacean Biology**, 81: 43-47.
- SALMON, M.; HYATT, D. G. W. (1983). Spatial and Temporal Aspects of Reproduction in North-Carolina Fiddler Crabs (*Uca pugilator* Bosc). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 70(1): 21-43.
- SASTRY, A.N. (1983) Ecological Aspects of Reproduction. In: The Biology of **Crustacea**, 8: 179-270.
- SCHONE, H. (1968). Agonistic and sexual display in aquatic and semi-terrestrial Brachyuran crabs. **American Zoologist**, 8: 641-654.
- SCHUBART, C.D.; CUESTA, J.A.; DIESEL, R.; FELDER, D.L. (2000). Molecular phylogeny, taxonomy and evolution of nonmarine lineages within the American grapsoid crabs (Crustacea: Brachyura). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 15: 179–190.
- SEGAL, E. (1970) Light: animals-invertebrates. In: KINNE, O. Marine ecology. Vol. I. Part 1: Environmental factors. **London: Wiley-Interscience**, 159-211.
- SEIFERT, P. (1982) Studies on the sex pheromone of the shore crab, *Carcinus maenas*, with special regard to ecdysone excretion. **Ophelia** 21: 147-158.
- SEIPLE, W.; SALMON, M. (1982). Comparative social behavior of two grapsid crabs *Sesarma reticulatum* and *S. cinereum*. **Journal Experimental Marine Biology and Ecology**, 62: 1-24.
- SKINNER, D. M. (1985). Interacting factors in the control of the crustacean molt cycle. **American Zoologist** 25: 275-284.
- SMITH, L. D. (2004). Biogeographic differences in claw size and performance in an introduced crab predator *Carcinus maenas*. **Marine Ecology and Progress Series**, 276: 209–222.
- SOKAL, R.; ROHLF, F.J. (1995). **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**, 3rd ed. WH Freeman and Company, New York.



- STEBBING, P.D.; BENTLEY, M.G.; WATSON, G.J. (2003) Mating behavior and evidence for a female released courtship pheromone in the signal crayfish ***Pacifastacus leniusculus***. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 465-475.
- STEELE, V. J., STEELE D. H. (1986) The influence of photoperiod in the timing of reproductive cycles in *Gammarus* species (Crustacea, Amphipoda). ***American Zoologist***, 26: 459.
- STEELE, V.J. (1981). The effect of photoperiod on the reproductive cycle of *Gammarus lawrencianus* Bousfield. ***Journal of Experimental Marine Biology and Ecology***, Amsterdam, 53: 1-7.
- STEPHENSON, A. (1934). The breeding of reef animals. Part 2: Invertebrates other than corals. GreatBarrier Reef Expedition, 1928-1929. ***Science Report***, v. 3(9): 247–272.
- THOMAS, P.G.; IKEDA, T. (1987) Sexual regression, shrinkage, re-maturation and growth of spent female *Euphausia superba* in the laboratory. ***Marine Biology***, 95: 357–363
- TIERNEY, A.J.; THOMPSON, C.S.; DUNHAM, E.W. (1984). Site of pheromone reception in the crayfish *Orconectes propinquus* (Decapoda, Cambaridae). ***Journal of Crustacean Biology***, 4: 554-559
- VERNET-CORNUBERT, G. (1958). Recherches sur la Sexualité du Crabe *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius). ***Archives de Zoologie Expérimentale et Générale***, 96: 7-276
- WEST- EBERHARD, M. (2003). Developmental plasticity and evolution. ***University Press***, Oxford.
- WILLIAMS, D.A. (1976). Improved likelihood ratio tests for complete contingency tables. ***Biometrika***, 63: 33–37.
- WILLIAMSON, D.I (1951). On mating and breeding of some semi-terrestrial amphipods. ***Report of the Dove Marine Laboratory***, 3(12): 49-65.
- ZAR, J.H. (1999) Biostatistical analysis, 4th edn. ***Prentice Hall***, New Jersey.