

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/05/2021.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO
MESQUITA FILHO – UNESP – CENTRO DE
AQUICULTURA DA UNESP**

**Sistema reprodutor masculino em
Porcellanidae: reconstrução do caráter
ancestral com base na morfologia,
histoquímica e ultraestrutura dos
espermatóforos e espermatozoides.**

Bárbara Paiva Camillo

Jaboticabal, São Paulo
2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO
MESQUITA FILHO – UNESP – CENTRO DE
AQUICULTURA DA UNESP**

**Sistema reprodutor masculino em
Porcellanidae: reconstrução do caráter
ancestral com base na morfologia,
histoquímica e ultraestrutura dos
espermatóforos e espermatozoides.**

Bárbara Paiva Camillo

Orientador: Dr. Fernando José Zara

Coorientadora: Dra. Ivana Trettin

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura (Biologia Aquática).

Jaboticabal, São Paulo
2020

C183s

Camillo, Bárbara Paiva

Sistema reprodutor masculino em Porcellanidae: reconstrução do caráter ancestral com base na morfologia, histoquímica e ultraestrutura dos espermatóforos e espermatozoides. / Bárbara Paiva Camillo. -- Jaboticabal, 2020

156 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Fernando José Zara

Coorientadora: Ivana Ivana Trettin

1. Morfologia. 2. Caranguejos. 3. Sistema reprodutor. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

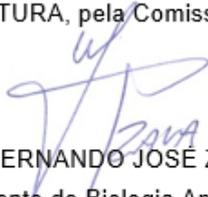
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Sistema reprodutor masculino em Porcellanidae: reconstrução do caráter ancestral com base na morfologia histoquímica e ultraestrutura dos espermatóforos e espermatozoides.

AUTORA: BÁRBARA PAIVA CAMILLO

ORIENTADOR: FERNANDO JOSÉ ZARA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em
AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. FERNANDO JOSÉ ZARA

Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV/ UNESP



Dra. IVANA MIRANDA DA SILVA

Biologie I / Universität Regensburg, Alemanha



Prof. Dr. MARIANA ANTUNES DA SILVA

Departamento de Zoologia / IB/UNESP, Botucatu-SP

Jaboticabal, 25 de maio de 2020.

*Sonhe com aquilo que você quer
ser, porque você possui apenas
uma vida e nela só se tem uma
chance
de fazer aquilo que quer.*

*Tenha felicidade bastante para
fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la
forte. Tristeza para fazê-la
humana.
E esperança suficiente para
fazê-la feliz.*

*As pessoas mais felizes não tem
as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor
das oportunidades
que aparecem em seus caminhos.*

*A felicidade aparece para
aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam
Para aqueles que buscam e
tentam sempre.
E para aqueles que
reconhecem a importância
das pessoas que passaram
por suas vidas.*

Clarisse Lispector

Dedico este trabalho ao meu eterno e grande herói, amigo, avô e pai Pagé (*in memorian*). Este trabalho é seu meu pai, e onde estiver, saiba que conseguimos. Te amo para sempre.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Bolsa de Mestrado, Processo nº 88882.433718/2019-01 pela bolsa de mestrado concedida. Esta dissertação foi em grande parte subsidiada dentro do Projeto CAPES Ciências do Mar II #1989/2014 processo 23038.004309/2014-51.

Ao suporte financeiro concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por meio dos projetos associados ao Laboratório de Morfologia de Invertebrados (Jovem Pesquisador #2005/04707-5, Biota #2010/50188- 8 e Biota Intercrusta #2018/13685-5) os quais subsidiaram uma parte importante do estudo ultraestrutural dos espermatozoides.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando José Zara, por todo tempo dedicado, por todo conhecimento transmitido, todo auxílio, confiança e incentivo. Obrigada por ter aceitado ser meu pai científico.

À querida Marcia Fiorese Mataqueiro, técnica e grande ser humano que encontrei nesta etapa da minha vida, que sempre me auxiliou nas técnicas laboratoriais e nos conselhos da vida.

Ao grande Djalma Rosa, conhecido como Passarinho, pelas coletas, aventuras, brincadeiras e aprendizado. Você foi muito importante para a realização deste trabalho.

Aos amigos, companheiros e ex-companheiros do Laboratório de Morfologia de Invertebrados, Camila, Fernanda, Maria Alice, Guilherme, Lucas, Timóteo, Leo Jaime (*in memoriam*) e Abner (*in memoriam*). Por todos os conhecimentos, trabalhos, esforços, alegrias e comilanças compartilhadas. Em especial a Camila, Fernanda e Maria, que além de amigas, se tornaram irmãs. Obrigada por toda ajuda e apoio, vocês são incríveis, nossos dias ficaram marcados para sempre comigo.

À Dra. Claudia Maria Fiorillo pelo seu suporte técnico e por sempre me receber com muita paciência e carinho. E ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da FCAV, UNESP Câmpus de Jaboticabal.

Ao Dr. Lucas Rezende Penido Paschoal e a Dr^a. Ana Francisca Tamburus Gomes por terem contribuído tanto com as sugestões durante a banca de qualificação. A Dr^a. Mariana Antunes da Silva e Dr^a. Ivana Miranda Trinttin por toda colaboração na banca de defesa.

Aos funcionários e professores da UNESP-FCAV e do Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária, em especial à Marcia Macri. Obrigada por terem contribuído para a realização deste mestrado.

Ao Programa de pós graduação do Centro de Aquicultura da Unesp - CAUNESP, pela oportunidade e por todo suporte e contribuição para a realização do meu projeto de mestrado. Ao David Oliveira Lorente, por toda paciência e por me ajudar sempre.

À Deus, por ter me acompanhado em todas as etapas da minha vida, por ter me dado força para continuar quando eu conheci a dor da maneira mais profunda. Obrigada Grande Arquiteto do Universo, por todo carinho e proteção.

Ao meu avô e pai Pagé (*in memorian*), que durante sua existência na Terra, soube transmitir todo amor, felicidade e cuidado com toda nossa família. De onde está, sei que vibra também por mais esta conquista. A você, saudoso e querido pai, muito obrigada.

A minha Vózinha Neuza, por toda oração, carinho e cuidado, você é luz vó! Obrigada por todo cafuné e colo que me dá até hoje. Te amo!

A minha mãe Inajara, mulher de fibra, guerreira, obrigada por sempre me incentivar a ir além, por me tornar alguém forte. Este sonho também é seu, te amo, minha rainha.

Ao meu irmão Pedro, todo meu amor e respeito. Você é minha inspiração diária. Dou a minha vida por você.

Aos meus tios Jamara, Zé, Juliana e Bira, por toda confiança depositada e carinho, tenho os melhores tios do mundo. Em especial ao Tio Bira, que se tornou minha base, minha força e meu grande amigo nos piores e melhores momentos. Obrigada Tio, por cuidar de mim e não ter deixado que eu desistisse de nada.

Aos meus primos, Jade, João, Yasmin e Ytawane, além de primos somos irmãos de alma, agradeço por toda parceria de sempre, sempre estarei com vocês, vocês são as coisas mais preciosas da minha vida. Ytawane (tutu), minha pequena valente, prima e afilhada, talvez leia isto só quando estiver mais velha, quero que saiba que muitas vezes foi você com toda sua doçura, amor, carinho e curiosidade rs quem me deu energia para continuar neste caminho.

Ao Guilherme Augusto Morete Junior, meu grande amor, namorado, companheiro e melhor amigo, faltam palavras para te agradecer, você foi meu pilar, ouviu quando eu precisava dizer, e falou quando eu precisava escutar, você foi meu

fiel companheiro que durante essa jornada não só do mestrado, me levantou quando eu não tinha mais forças, acalmou meu coração quando estava desesperado, e me fez enxergar o quanto eu era capaz mesmo quando eu achava que não conseguiria. Obrigada por ficar ao meu lado mesmo que jogando vídeo game enquanto eu escrevia este trabalho rs. Te amo, te amo, te amo!

Minha eterna gratidão a todos que participaram desta jornada!

Apoio Financeiro

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Bolsa de Mestrado, Processo nº 88882.433718/2019-0. Projeto CAPES Ciências do Mar II #1989/2014 processo 23038.004309/2014-51.

Sumário

| | |
|---|-----|
| Prólogo..... | 10 |
| Referências:..... | 15 |
| Capítulo 1. Sistema reprodutor masculino em Porcellanidae e implicações filogenéticas em Anomura. | 19 |
| Resumo | 20 |
| Abstract..... | 21 |
| Introdução..... | 22 |
| Material e Métodos..... | 23 |
| Resultados | |
| Anatomia geral | 26 |
| Histologia e histoquímica..... | 26 |
| Testículo..... | 26 |
| Vaso deferente..... | 27 |
| Ultraestrutura dos vasa deferentia e espermatozóforos | 28 |
| Microscopia eletrônica de varredura e contraste interdiferencial de fase..... | 29 |
| Discussão | 52 |
| Agradecimentos | 58 |
| Referências:..... | 59 |
| Capítulo 2. Caracterização ultraestrutural do espermatozoide em caranguejos porcelana comparado a outros Anomura. | 69 |
| Resumo | 70 |
| Abstract..... | 71 |
| Introdução..... | 72 |
| Material e Métodos..... | 73 |
| Resultados | 75 |
| Morfologia geral do espermatozoide em MEV e DIC | 75 |
| Caracterização geral das estruturas e camadas da vesícula acrossomal do espermatozoide em Porcellanidae em ultraestrutura | 76 |
| Ultraestrutura do Espermatozoides | 77 |
| Dados moleculares | 85 |
| Reconstrução da história de caracteres..... | 86 |
| Discussão | 136 |
| Agradecimentos | 142 |
| Referências:..... | 143 |
| Material Complementar | 147 |

Resumo geral da dissertação

Os caranguejos da família Porcellanidae tem seu sistema reprodutor masculino desconhecido do ponto de vista histológico e pouco estudado no aspecto ultraestrutural dos espermatozoides. Nesta dissertação, apresentamos o padrão anatomo-histológico do sistema reprodutor masculino, além da ultraestrutura dos espermatóforos e espermatozoides de Porcellanidae, buscando entender as relações de parentesco e a evolução do sistema reprodutor e suas células germinativas entre as superfamílias da infraordem Anomura. Foram coletados com auxílio de um barco de pesca camaroeira, além de coleta manual na região entre marés e por meio de mergulho livre e autônomo (3m), machos adultos dos gêneros *Pachycheles*, *Petrolisthes*, *Pisidia*, *Porcellana* e *Megalobrachium* em Ubatuba e São Vicente (SP), Brasil, e em Valdivia, Chile. As amostras foram processadas seguindo rotinas para histologia, microscopia eletrônica de transmissão e varredura. Análises do fluido seminal, empacotamento dos espermatozoides e formação dos espermatóforos, apresentaram o mesmo padrão para todas as espécies estudadas, e semelhante a outros Anomuras já descritos na literatura, sendo simplificado e sem diferenciações macroscópicas. Os espermatóforos de Porcellanidae seguem o padrão tripartido pedunculado como descrito para a maioria dos Anomura, porém se diferenciam por apresentarem um pedúnculo diminuto, característica compartilhada com Galatheidae e Munidae. A ultraestrutura dos espermatozoides dos Porcellanidae é caracterizada por uma vesícula acrossomal saliente ao espermatozoide, possuindo camadas concêntricas e diferente dos outros Galatheoidea por apresentarem: opérculo centralmente perfurado, cone perforatorial eletrondenso, e anel perforatorial posterior. Porcellanidae possuem características compartilhadas entre as espécies mais proximamente relacionadas e algumas exclusivas de cada gênero. *Pisidia brasiliensis* e *Porcellana sayana*, possuem um “ombro” na região apical do acrossoma. *Porcellana sayana* e *Megalobrachium roseum* o cone perforatorial se estende até a abertura opercular. No gênero *Petrolisthes*, ocorre uma estrutura exclusiva, o anel tubular eletrondenso. *Pisidia brasiliensis* possui botão apical. Assim, a ultraestrutura do espermatozoide destas espécies de Porcellanidae representam um novo conjunto de caracteres os quais são claramente relacionados filogeneticamente, quando traçados por meio do uso da filogenia mais recente da infraordem.

Palavras-chave: anatomia; microscopia eletrônica; caranguejos porcelana; vaso deferente; morfologia.

Abstract

The crabs of the Porcellanidae family have their male reproductive system unknown from the historical point of view and little studied in the ultrastructural aspect of sperm. In this dissertation, we present the histological pattern of the male reproductive system, in addition to the ultrastructure of sperm and sperm from porcellanids, seeking to understand how kinship relationships and the evolution of the reproductive system and its germ cells between the superfamilies of Anomura's infrastructure. Were collected with the aid of a camaro fishing boat, in addition to manual collection in the region between tides and free and autonomous diving medium (3m), adult males of the genera *Pachycheles*, *Petrolisthes*, *Pisidia*, *Porcellana* and *Megalobrachium* in Ubatuba and São Vicente (SP), Brazil, and in Valdivia, Chile. As the samples were processed following routines for histology, transmission electron microscopy and scanning. Analysis of seminal fluid, sperm packaging and sperm formation, analysis of the same pattern for all studied species, and similar to other Anomuras already applied in the literature, being simplified and without macroscopic differences. Porcellanid spermatozoa follow the pedunculated tripartite pattern as described for most Anomura, but they differ by presenting a tiny peduncle, resources shared with Galatheidae and Munidae. An ultrastructure of porcelain spermatozoa is characterized by an acrosomal vesicle protruding from the sperm, having concentric layers and different from the other Galatheoidea in that they have: centrally perforated operculum, perforated electron- condensed cone and perforated posterior ring. Porcellanidae has characteristics shared between the closest species and some exclusive to each genus. *Pisidia brasiliensis* and *Porcellana sayana*, have a "shoulder" in the apical region of the acrosome. *Porcellana sayana* and *Megalobrachium roseum* or perforated cone extend to the opercular opening. In the *Petrolisthes* genus, there is an exclusive structure or an electronic tubular ring. *Pisidia brasiliensis* has an apical bud. Thus, an ultrastructure of the sperm of these species of Porcellanidae represents a new set of characters, which are clearly related phylogenetically, when traced using the most recent phylogeny of the infraorder.

Key-words: anatomy; electronic microscopy; porcelain crabs; vas deferens; morphology.

Introdução

A Infraordem Anomura MacLeay, 1838 contém 7 superfamílias, 20 famílias, 335 gêneros e mais de 2.500 espécies. O ancestral comum mais recente de todas as famílias atuais irradiou-se logo após o Triássico representando a origem do primeiro clado de ramificação Albuneidae-Hippidae (Bracken-Grissom et al., 2013). A família Porcellanidae pertence à superfamília Galatheaidea Samouelle, 1819 juntamente com Galatheaidea Samouelle, 1819 e Munididae Ahyong, Baba, Macpherson & Poore, 2010. As superfamílias Paguroidea Latreill, 1802, Lithodoidea Samouelle, 1819, Aeloidea Dana 1852 são considerados grupo-irmão de Galatheaidea (Bracken-Grissom et al., 2013).

A morfologia comparativa do sistema reprodutor em Decapoda, bem como a ultraestrutura dos espermatozoides e espermatóforos, vem fornecendo caracteres utilizados para resolver problemas taxonômicos e estabelecer relações de parentescos entre grupos de crustáceos (Jamieson e Tudge, 1990; Jamieson, 1991; Jamieson et al., 1995; Mantelatto et al., 2009; Fantucci e Mantelatto, 2011).

Em geral, o sistema reprodutor masculino de Decapoda é formado por um órgão bilateral, composto por um par de testículos ligados a um par de vasa deferentia, o qual termina nos gonópodos (Krol et al., 1992). A espermatogênese e espermiogênese ocorrem nos testículos, sendo este órgão classificado histologicamente como lobular ou tubular (Nagao e Munehara, 2003). Em Anomura, os espermatozoides maduros, são liberados no vaso deferente, que pode ser dividido em três regiões com base na proximidade com o testículo: proximal (PVD), onde os espermatozoides encontram-se livres; região média (MVD); onde os espermatóforos são montados e a região distal (DVD), onde os espermatoforos estão totalmente formados e mais separados uns dos outros, devido ao volume de fluido seminal (Mouchet, 1931; Hinsch, 1991; Kronenberger et al., 2004; Tirelli et al., 2006, 2010; Buranelli et al., 2014). Apesar desta caracterização anatômica e morfológica, o sistema reprodutor masculino em Porcellanidae é desconhecido sob o ponto de vista histológico, histoquímico e ultraestrutural.

Em Anomura existe uma grande variedade e complexidade na morfologia dos espermatóforos (Tudge, 1991; Subramoniam, 2017). Em geral, os espermatozoides estão incluídos nos espermatóforos coenospérmicos, caracterizados por uma ampola, pedúnculo com comprimento variável e pé, sendo classificado como espermatóforos tripartidos (Tudge, 1991; Scelzo et al., 2004;

Amadio e Mantelatto, 2009; Buranelli et al., 2014). Os espermatóforos da família Porcellanidae descritos em literatura (Tudge e Jamieson, 1996a,b) apresentaram pedúnculo diminuto e ausência de ampola acessória (Tudge e Jamieson, 1999a,b). Esta mesma morfologia foi descrita para espermatóforo de Galatheidae e Munididae (Hinsch, 1991; Kronenberger et al., 2004), o que mostra ser uma característica exclusiva de famílias pertencentes a Galatheoidea, uma vez que, outras superfamílias de Anomura como Paguroidea, Lithodoidea e Lomisoidea apresentam variações em relação ao comprimento do pedúnculo, podendo ser curto ou longo e em algumas espécies ocorre a presença a formação de ampola dupla ou acessória (Tudge, 1991, 1995, 1997a, c; Tudge et al., 1998; Fantucci e Mantelatto, 2011).

Outros padrões morfológicos podem ser observados para os espermatóforos dentro de Anomura. Na família Hippidae, apesar dos os espermatóforos também serem tripartidos, estes encontram-se totalmente aderidos uns aos outros formando uma fita espermatofórica contínua (Mattheus, 1956; Hinsch, 1991; Tudge, 1997 a,c, 1999; Kronenberger et al., 2004;). Por outro lado, nas poucas espécies estudadas em Aeglididae, o espermatóforo é ausente. (Sokolowicz et al., 2007). Apesar da análise comparativa dos espermatóforos já terem sido estudadas entre famílias de ermitões (Tudge, 1991), uma análise ampla entre as superfamílias de Anomura nunca foi realizada.

Assim, neste trabalho descrevemos pela primeira vez a histologia e ultraestrutura do sistema reprodutor masculino de Porcellanidae, caracterizando a produção do fluido seminal, composição química, empacotamento e morfologia dos espermatóforos, buscando compreender como ocorreu a evolução da estrutura do espermatóforo e se esta estrutura apresenta padrão nas superfamílias e famílias de Anomura que permitam separa-las através da utilização dos espermatóforos.

Conclusão

Em conclusão, apresentamos, pela primeira vez, a descrição comparativa da ultraestrutura dos espermatozoides de alguns membros da família Porcellanidae, comparando aos demais Anomura. Dentro de Porcellanidae o clado formado por *Pisidia* e *Porcellana* (*Pisidia brasiliensis* e *Porcellana sayana*) foi separado dos outros gêneros pela presença de “ombro” na região apical do acrossoma, formado pelo material subopercular, que se estende até a região média. A ausência do botão apical é um carácter ancestral da família, sendo a sua presença uma autapomorfia para *Pisidia*. *Porcellana sayana* e *Megalobrachium roseum* possuem o cone perforatorial se estendendo até a abertura opercular. *Petrolisthes*, tem como característica exclusiva a estrutura pela primeira descrita como anel tubular, eletrondenso. A ultraestrutura dos espermatozoides de Porcellanidae quando comparado a outros Anomuras mostra-se como ferramenta importante para estudos filogenéticos e, com os dados disponíveis, corroborou para a filogenia beysiana de Bracken-Grissom et al., (20013) e pode-se presumir que o espermatozoide do ancestral Porcellanidae apresentava: 1) opérculo centralmente perfurado, 2) sem botão apical, 3) com cone perforatorial, e 4) anel perforatorial na base do acrossoma. O restante dos caracteres da vesícula acrossomal excêntrica, com camadas concêntricas e câmara perforatorial são características

compartilhadas com os Galattheoidea e outros Anomura.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com bolsa de mestrado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 pelo programa de Pós-graduação em Aquicultura concedido a BPC. FJZ agradece a CAPES Ciências do Mar CIMAR II # 1989/2014 e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, JP #2005 04707-5 e Biota “Intercrusta” #2018/13685-5) pelo auxílio financeiro ao Laboratório de Morfologia de Invertebrados, FCAV – UNESP. Agradecimento são devidos ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da UNESP, FCAV, Campus Jaboticabal e ao suporte técnico de Márcia F. Mataqueiro e Dra. Claudia Fiorillo. Este estudo foi conduzido de acordo com as leis brasileiras (Licença Permanente FJZ - MMA SisBio # 34587-2).

Referências:

- Assugeni, C. D. O., Magalhães, T., Bolaños, J. A., Tudge, C. C., Mantelatto, F. L., Zara, F. J. (2017). Ultrastructure of spermatozoa of spider crabs, family Mithracidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura): Integrative analyses based on morphological and molecular data. *Journal of morphology*, 278, 1628- 1646.
- Bracken-Grissom, H. D., Cannon, M. E., Cabezas, P., Feldmann, R. M., Schweitzer, C. E., Ah Yong, S. T., Felder, D. L., Lemaitre, R., Crandall, K. A. (2013). A comprehensive and integrative reconstruction of evolutionary history for Anomura (Crustacea: Decapoda). *BMC Evolutionary Biology*, 13, 128.
- Camargo, T. R., Rossi, N., Castilho, A. L., Costa, R. C., Mantelatto, F. L., Zara, F. J. (2016). Integrative analysis of sperm ultrastructure and molecular genetics supports the phylogenetic positioning of the sympatric rock shrimps *Sicyonia dorsalis* and *Sicyonia typica* (Decapoda, Sicyoniidae). *Zoomorphology*, 135, 67-81.
- Camargo, T. R., Rossi, N., Castilho, A. L., Costa, R. C., Mantelatto, F.L., Zara, F. J. (2017). Sperm ultrastructure of shrimps from the family Penaeidae (Crustacea: Dendrobranchiata) in a phylogenetic context. *Arthropod Structure & Development*. 46, 588 - 600.
- Fantucci, M. Z., Mantelatto, F. L. M. (2011) . Male reproductive apparatus and spermatophore morphology of the hermit crabs *Pagurus brevidactylus* and *P. criniticornis* (Anomura, Paguridae). *Journal of Morphology*. 272, 1271-1280.
- Garcia Bento, M. A., Greco, L. S. L., Zara, F. J. (2019). Seminal fluid production and sperm packaging in dromiid crabs (Brachyura, Podotremata). *Zoology*, 132, 17-30.
- Glez-Peña, D., Gomez-Blanco, D., Reboiro-Jato, M., Fdez-Riverola, F., Posada, D. (2010). ALTER: program-oriented conversion of DNA and protein alignments. *Nucleic Acids Research*, 38:14-18.
- Guindon, S., Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52, 696-704.
- Hall, T. A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95- 98.
- Jamieson, B. G. M. (1994). Phylogeny of the Brachyura with particular reference to the Podotremata: evidence from a review of sperm ultrastructure (Crustacea,

- Decapoda). *Philosophical transactions: Biological Sciences*, 345, 373–393.
- Jamieson, B. G. M., Tudge, C. C. (2000). Progress in male gamete ultrastructure and phylogeny, part C in: Adiyodi, K.G., and Adiyodi, R.G. (eds), *Reproductive biology of invertebrates*. 9, 1-95.
- Jemieson, B. G. M. (1991b). Ultrastructure and phylogeny of crustacean spermatozoa. *Memoirs of the Queensland Museum*, 31, 109-142.
- Koltzoff, N. K. (1906). Studien über die Gestalt der zelle. I Untersuchungen über die spermien der decapoden, als einleitung in das problem der zellengestalt. *Archivfür Mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte*, 67, 364-572.
- Lohrmann, K., Rainieri, M. (1995). Ultrastructure of the spermatozoon of the crab *Cervimunida johni* Porter, 1903 (Galatheidae, Anomura, Crustacea). *Invertebrate Reproduction and Development*. 28, 71-76.
- Maddison, W. P., Maddison, D. R. (2015). Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 3.04. Encontrado em: <http://mesquiteproject.org>.
- Mantelatto, F. L., Miranda, I. (2016). Avaliação do caranguejo porcelanídeo *Minyocerus angustus* (Dana, 1852) (Decapoda: Porcellanidae). *Livro vermelho dos crustáceos do Brasil: avaliação 2010-2014*.
- McLaughlin, P. A. (1983). Hermit Crabs - Are They Really Polyphyletic? *Journal of Crustacean Biology*, 3, 608-621.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 1-8.
- Rambaut, A., Drummond, A. J. (2009). FigTree version 1.3. 1. Website <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Retzius, G. (1909). Die spermien der Crustaceen. *Biologische Untersuchungen*, 14, 1-54.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference undermixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572-1574.
- Santos, N. M., Mantelatto, F. L. (2011). Reproductive system of the male hermit crab *Clibanarius sclopetarius*: gonopore, spermatophore, and spermatozoal morphologies. *Aquatic Biology*, 12, 271-280.
- Scholtz, G., Richter, S. (1995). Phylogenetic systematics of the reptantian Decapoda (Crustacea, Malacostraca). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 113, 289- 328.

- Stamatakis, A. (2014). RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics* 10.1093/bioinformatics/btu033 <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/early/214/01/21/bioinformatics.btu033.abstract>.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Symposium Series*, 22, 4673-4680.
- Tirelli, T., Campantico, E., Pessani, D., Tudge, C. C. (2006). Description of the male reproductive apparatus of the hermit crab *Calcinus tubularis* (Decapoda: Anomura: Diogenidae). *Crustacean Research*, 6, 13-21.
- Tirelli, T., Pessani, D., Silvestro, D., Tudge, C. (2008). Reproductive biology of Mediterranean hermit crabs: fine structure of spermatophores and spermatozoa of *Diogenes pugilator* (Decapoda: Anomura) and its bearing on a sperm phylogeny of Diogenidae. *Journal of Crustacean Biology*, 28, 534-542.
- Tirelli, T., Silvestro, D., Pessani, D., Tudge, C. C. (2010). Description of the male reproductive system of *Paguristes eremita* (Anomura, Diogenidae) and its placement in a phylogeny of diogenid species based on spermatozoal and spermatophore ultrastructure. *Zoologischer Anzeiger*. 4, 299-312.
- Tudge, C. C. (1995). Ultrastructure and phylogeny of the spermatozoa of the Infraorders Thalassinidea and Anomura (Decapoda, Crustacea). *Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy. Memoires du Museum National d'Histoire Naturelle. Serie A, Zoologie*, 166, 251-263.
- Tudge, C. C. (1997c). Phylogeny of the Anomura (Decapoda, Crustacea): Spermatozoa and spermatophore morphological evidence. *Contributions to Zoology*, 67, 125- 141.
- Tudge, C. C. (2009). Sperm morphology and its bearing on decapod phylogeny. In: Martin, J. W., Crandall K. A., Felder, D. L. (Eds) Decapod crustacean phylogenetics. *Crustacean issues 18*. Taylor and Francis/CRC Press.
- Tudge, C. C., Jamieson, B. G. M. (1996a). Spermatophore and spermatozoal morphology in the Porcellanidae. I. *Aliaporcellana suluensis* and *Pisidia longicornis* (Decapoda: Anomura: Porcellanidae). *Crustacean Research*, 25, 73–85.
- Tudge, C. C., Jamieson, B. G. M. (1996b). Spermatophore and spermatozoal

- morphology in the Porcellanidae. II. The genera *Petrolisthes* and *Polyonyx* (Decapoda: Anomura). *Journal of Crustacean Biology*, 16, 535-546.
- Tudge, C. C., Scheltinga, D. M. (2002). Spermatozoal morphology of the freshwater anomuran *Aegla longirostri* Bond-Buckup & Buckup, 1994 (Crustacea Decapoda: Aeglidae) from South America. *Proceedings of The Biological Society of Washington*. 1, 118-128.
- Veloso, V. G., Buckup, L., Bond-Buckup, G. (1999). Família Porcellanidae (caranguejos anomuros marinhos). *Os crustáceos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 504, 398-405.
- Veloso, V. G., Melo, G. A. S. (1993). Taxonomia e distribuição da família Porcellanidae (Crustacea: Decapoda: Anomura) no litoral brasileiro. *Iheringia, Série Zoologia*, 75, 171-186.