

RESSALVA

Atendendo solicitação da
autora, o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 01/06/2028.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, EVOLUÇÃO E
BIODIVERSIDADE**

**Sistema reprodutor masculino em Anomura: a história evolutiva contada
através da ultraestrutura e histologia**

Bárbara Paiva Morete

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, EVOLUÇÃO E
BIODIVERSIDADE**

**Sistema reprodutor masculino em Anomura: a história evolutiva contada
através da ultraestrutura e histologia**

Bárbara Paiva Morete

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia do Câmpus de Rio Claro,
Universidade Estadual Paulista, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Doutor em Ecologia Evolução e
Biodiversidade

Orientador: Dr. Fernando José Zara

Coorientador: Dr. Caio dos Santos
Nogueira

**Rio Claro – SP
2026**

M844s Morete, Bárbara Paiva
Sistema reprodutor masculino em Anomura : a história evolutiva contada através da ultraestrutura e histologia / Bárbara Paiva Morete. -- Rio Claro, 2026
196 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Fernando José Zara
Coorientador: Caio dos Santos Nogueira

1. Anatomia. 2. Histologia. 3. Ultraestrutura. 4. Crustáceo. 5. Espermiotaxonomia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Sistema reprodutor masculino em *Anomura*: a história evolutiva contada através da ultraestrutura e histologia

AUTORA: BÁRBARA PAIVA MORETE

ORIENTADOR: FERNANDO JOSÉ ZARA

COORIENTADOR: CAIO DOS SANTOS NOGUEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ecologia, Evolução e Biodiversidade, área: Biodiversidade pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **FERNANDO JOSE ZARA**
Data: 01/06/2026 18:33:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FERNANDO JOSÉ ZARA (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / UNESP / Câmpus de Jaboticabal - FCAV

Documento assinado digitalmente
 **GUSTAVO MONTEIRO TEIXEIRA**
Data: 01/06/2026 18:04:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. GUSTAVO MONTEIRO TEIXEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Animal e Vegetal / Universidade Estadual de Londrina

Documento assinado digitalmente
 **ALEXANDRE RIBEIRO DA SILVA**
Data: 01/06/2026 16:53:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ALEXANDRE RIBEIRO DA SILVA (Participação Virtual)

Rio Claro, 01 de junho de 2026.

Agradecimentos

A Deus, por me ajudar dar forças em momentos que eu não tinha de onde tira-las, por toda proteção, amor e carinho.

Ao Prof. Dr. Fernando José Zara, obrigada por confiar em mim nessa longa jornada, por me mostrar a ciência de uma forma que nunca vi. Obrigada por todo carinho, por todos os ensinamentos, conselhos e orientações ao longo dos últimos anos. A ciência e a humanidade precisam de mais pessoas como você.

Ao meu amigo e coorientador Dr. Caio dos Santos Nogueira, a vida acadêmica foi muito generosa comigo quando cruzou nossos caminhos e me deu a oportunidade de trabalhar com você. Sem sua ajuda, este trabalho não teria sido concluído. Obrigada por tantos ensinamentos, obrigada pelas longas conversas (acadêmicas ou não) que a nossa amizade-irmandade perdure por muitos anos.

Ao Prof. Dr. Christopher Tudge, por toda a generosidade científica e pelas contribuições que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Sua trajetória e dedicação aos Anomura sempre foram uma inspiração para mim.

Aos meus queridos amigos de laboratório, Ayra, Maria Júlia, Luís e Eduardo, obrigada por aceitarem essa jovem idosa sistemática, vocês são um orgulho para mim e me deixam muito feliz por serem a nova geração desse laboratório tão especial. A “mami” vai sempre estar aqui. Desejo que levem consigo, por onde forem, todos os ensinamentos compartilhados ao longo dessa caminhada. E espero, de coração, ter contribuído de alguma forma para a trajetória acadêmica de cada um de vocês.

Ao querido amigo-irmão, Lucas Paschoal, obrigada por tantos risos soltos, por tantas piadas sem graça e, principalmente, por ser essa pessoa tão inspiradora para mim. Obrigada por me ajudar a atravessar uma dor tão absurda e por me mostrar, com a sua positividade imensa, que sempre vale a pena continuar porque tudo sempre passa.

A Gisele e Quentin, muito obrigada pelo companheirismo e pelas trocas nos momentos tensos.

Ao Laboratório de Morfologia de Invertebrados (IML) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) -Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Campus de Jaboticabal, pela estrutura e pelo ambiente acadêmico que tornaram possível a realização deste doutorado. Ao laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) -Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Campus de

Jaboticabal, cuja infraestrutura é essencial para a realização de análises ultraestruturais e de microscopia eletrônica em alto nível.

Às técnicas Márcia Mataqueiro e Dra. Cláudia Fiorillo, profissionais fundamentais para a realização deste trabalho. À Márcia, em especial, minha segunda mãe dentro deste laboratório, minha eterna gratidão por todo cuidado, carinho e apoio ao longo desses anos. Obrigada por toda a dedicação, pelo suporte essencial nas análises microscópicas e por estar sempre presente, não apenas no âmbito profissional, mas também nos momentos pessoais em que mais precisei. À Cláudia, agradeço imensamente pela ajuda, pela atenção e por toda contribuição técnica que tornou possível a realização deste trabalho.

Ao Campus UNESP - Rio Claro Biociências, ao programa de Pós-graduação – Ecologia, Evolução e Biodiversidade e a todos os funcionários da seção técnica de pós-graduação, obrigada por todo auxílio e por contribuir para realização deste doutorado.

Às agências de fomento que apoiaram o desenvolvimento desta pesquisa, especialmente ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de doutorado (processo nº 140131/2022-1) concedida durante parte desta jornada. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelos subsídios fornecidos aos projetos Biota Intercrutra #2018/13685-5 e o projeto regular #2024/13154-0, o qual garantiu as coletas e os insumos laboratoriais.

Ao meu avô, que sempre foi para mim uma verdadeira figura paterna. Obrigada por todo amor, por todos os ensinamentos e, principalmente, por sempre acreditar em mim e incentivar meus estudos. Sua partida foi um dos momentos mais difíceis da minha vida, e houve dias em que pensei que não conseguiria continuar. Mas foi justamente lembrando do quanto você sempre acreditou em mim que encontrei forças para seguir em frente. Onde quer que você esteja, espero que possa sentir o quanto esta conquista também é sua.

À minha família, que sempre foi a base de tudo. À minha mãe, minha maior inspiração, por me ensinar desde cedo o valor do esforço, da dignidade e da perseverança. À minha avó, por todo amor, cuidado e oração que sempre me cercaram ao longo da vida. Ao meu irmão, por estar sempre ao meu lado e por compartilhar comigo tantos momentos importantes da nossa história.

Ao meu marido, Guilherme, meu companheiro de vida e de sonhos. Obrigada por caminhar ao meu lado em todos os momentos, pela paciência, pelo incentivo

constante e por sempre acreditar em mim, mesmo quando eu mesma duvidei. Sua presença e seu amor foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

A todos que, de alguma forma, caminharam ao meu lado nesta jornada, meu mais sincero agradecimento. Nenhuma conquista é verdadeiramente solitária, e este trabalho carrega um pouco de cada pessoa que fez parte da minha história até aqui

.

RESUMO

A infraordem Anomura representa um dos grupos mais diversos de Decapoda, reunindo ampla diversidade morfológica e ecológica. Apesar dos avanços recentes nas reconstruções filogenéticas, as relações evolutivas entre suas principais linhagens ainda permanecem parcialmente controversas, especialmente quando considerados caracteres morfológicos e reprodutivos. Nesse contexto, a presente Tese tem como objetivo descrever, comparar e interpretar a organização do sistema reprodutor masculino (SRM) em representantes de diferentes superfamílias de Anomura, integrando análises anatômicas, histológicas, histoquímicas e ultraestruturais dos espermatozoides e espermatóforos, a fim de identificar padrões evolutivos e caracteres potencialmente informativos para a filogenia do grupo. Foram analisados representantes de Hippoidea, Aegloidea, Lomisoidea, Chirostyloidea, Galatheoidea e Paguroidea, incluindo ainda uma abordagem funcional relacionada à transferência espermática em *Isocheles sawayai*. De modo geral, o SRM apresentou um padrão organizacional conservado em Anomura, composto por testículos lobulares associados a vasos deferentes regionalizados em porções proximal, média e distal, responsáveis pela produção, modificação e organização dos espermatóforos. Entretanto, diferenças relevantes foram observadas na composição das secreções seminais, na organização dos espermatóforos e na ultraestrutura dos espermatozoides entre as diferentes linhagens analisadas. Em Hippoidea, foram observadas características morfológicas particulares relacionadas à organização dos espermatóforos, incluindo a presença de espermatóforos organizados em fita. Essas características diferem do padrão observado na maioria dos demais representantes de Anomura e fornecem informações relevantes para a compreensão da evolução dos caracteres reprodutivos no grupo. Em contraste, linhagens mais derivadas, como Paguroidea, apresentaram maior complexidade morfológica tanto dos espermatóforos quanto dos espermatozoides, refletindo processos evolutivos associados à diversificação do grupo. A ultraestrutura espermática revelou variações importantes na organização da vesícula acrossomal, da câmara perforatorial e das camadas concêntricas, fornecendo caracteres consistentes para comparações interespecíficas e inferências filogenéticas. Além disso, análises realizadas em indivíduos sob diferentes condições reprodutivas demonstraram modificações histológicas relacionadas à transferência espermática, ampliando a compreensão dos mecanismos reprodutivos em Anomura. De forma integrada, os resultados

demonstram que, embora o SRM apresente um padrão estrutural conservado ao longo da infraordem, as variações observadas na morfologia dos espermatóforos e na ultraestrutura dos espermatozoides refletem trajetórias evolutivas distintas entre as linhagens de Anomura. Assim, os dados obtidos reforçam o potencial dos caracteres reprodutivos como ferramentas relevantes para estudos sistemáticos e filogenéticos, contribuindo significativamente para o entendimento da história evolutiva do grupo.

Palavras-chave: sistema reprodutor masculino; espermatóforo; espermatozoide; filogenia; histoquímica.

ABSTRACT

The infraorder Anomura represents one of the most diverse groups within Decapoda, encompassing a wide range of morphological and ecological diversity. Despite recent advances in phylogenetic reconstructions, the evolutionary relationships among its major lineages remain partially controversial, particularly when morphological and reproductive characters are considered. In this context, the present Thesis aims to describe, compare, and interpret the organization of the male reproductive system (MRS) in representatives of different anomuran superfamilies by integrating anatomical, histological, histochemical, and ultrastructural analyses of spermatozoa and spermatophores in order to identify evolutionary patterns and potentially informative characters for the phylogeny of the group. Representatives of Hippoidea, Aegloidea, Lomisoidea, Chirostyloidea, Galatheoidea, and Paguroidea were analyzed, including a functional approach related to sperm transfer in *Isocheles sawayai*. In general, the MRS exhibited a conserved organizational pattern throughout Anomura, consisting of lobular testes associated with vas deferens regionalized into proximal, medial, and distal portions, responsible for the production, modification, and organization of spermatophores. However, relevant differences were observed in the composition of seminal secretions, spermatophore organization, and spermatozoal ultrastructure among the different lineages analyzed. In Hippoidea, distinctive morphological features related to spermatophore organization were observed, including the presence of ribbon-like spermatophores. These characteristics differ from the pattern observed in most other representatives of Anomura and provide relevant information for understanding the evolution of reproductive characters within the group. In contrast, more derived lineages, such as Paguroidea, exhibited greater morphological complexity in both spermatophores and spermatozoa, reflecting evolutionary processes associated with the diversification of the group. Sperm ultrastructure revealed important variations in the organization of the acrosome vesicle, perforatorial chamber, and concentric layers, providing consistent characters for interspecific comparisons and phylogenetic inferences. Furthermore, analyses conducted on individuals under different reproductive conditions demonstrated histological modifications related to sperm transfer, expanding the current understanding of reproductive mechanisms in Anomura. Taken together, the results demonstrate that although the MRS exhibits a conserved structural pattern throughout the infraorder, the variations observed in spermatophore morphology and

spermatozoal ultrastructure reflect distinct evolutionary trajectories among anomuran lineages. Therefore, the data obtained reinforce the potential of reproductive characters as valuable tools for systematic and phylogenetic studies, contributing significantly to the understanding of the evolutionary history of the group.

Keywords: male reproductive system; spermatophore; spermatozoon; phylogeny; histochemistry.

SUMÁRIO

PRÓLOGO	11
REFERÊNCIAS	14
CAPÍTULO I	18
NEW MORPHOFUNCTIONAL INSIGHTS INTO THE MALE REPRODUCTIVE SYSTEM OF HIPPOIDEA (DECAPODA: ANOMURA): FROM SPERM PACKAGING TO PHYLOGENETIC INFERENCES	18
ABSTRACT	19
INTRODUCTION	20
MATERIAL AND METHODS	22
RESULTS	23
DISCUSSION	32
REFERENCES	39
FIGURE CAPTIONS	46
CAPÍTULO II	67
MALE REPRODUCTIVE SYSTEM IN <i>AEGLA</i> (DECAPODA: AEGLIDAE) AND ITS ANATOMIC-HISTOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL RELATIONSHIP WITH OTHER ANOMURAN CRABS	67
ABSTRACT	68
CAPÍTULO III	69
ULTRAESTRUTURA ESPERMÁTICA EM ANOMURA (DECAPODA): NOVOS DADOS COMPARATIVOS DE <i>LOMIS HIRTA</i> , <i>CHIROSTYLUS</i> SP. E <i>BATHYMUNIDA</i> SP. E SUAS IMPLICAÇÕES PARA A FILOGENIA DO GRUPO	69
RESUMO	70
ABSTRACT	71
INTRODUÇÃO	72
MATERIAL E MÉTODOS	74
RESULTADOS	75
DISCUSSÃO	77
REFERÊNCIAS	82
FIGURAS E LEGENDAS	87
CAPÍTULO IV	94
SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO EM CARANGUEJOS ERMITÕES: VARIAÇÕES EM TRAÇOS REPRODUTIVOS E SUAS IMPLICAÇÕES EVOLUTIVAS (PAGUROIDEA, ANOMURA)	94
RESUMO	95
ABSTRACT	96
INTRODUÇÃO	97
MATERIAL E MÉTODOS	98
RESULTADOS	100
DISCUSSÃO	111
REFERÊNCIAS	123
TABELAS, FIGURAS E LEGENDAS	130
CAPÍTULO V	159
SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E A TRANSFERÊNCIA ESPERMÁTICA EM <i>ISOICHELES SAWAYA</i> FOREST & DE SAINT LAURENT, 1968 (DECAPODA: ANOMURA: DIOGENIDAE)	159
RESUMO	160
ABSTRACT	161
INTRODUÇÃO	162
MATERIAL E MÉTODOS	163
RESULTADOS	165
DISCUSSÃO	169
REFERÊNCIAS	174
FIGURAS E LEGENDAS	178
CONSIDERAÇÕES FINAIS	193

PRÓLOGO

A infraordem Anomura MacLeay, 1838 representa uma das linhagens mais diversas dentro de Decapoda, reunindo atualmente cerca de 23 famílias, aproximadamente 245 gêneros e mais de 3.300 espécies. Todos esses organismos estão distribuídos em seis superfamílias: Hippoidea Latreille, 1825; Aegloidea Dana, 1852; Lomisoidea Bouvier, 1895; Chirostyloidea Ortmann, 1892; Galatheaidea Samouelle, 1819; e Paguroidea Latreille, 1802, refletindo uma ampla diversidade morfológica, ecológica e de modos de vida (WoRMS, 2026). Apesar dessa ampla variabilidade, alguns caracteres morfológicos são tradicionalmente utilizados para reconhecer representantes da infraordem, como a presença da linha anomúrica na carapaça, a base da antena posicionada lateralmente na margem anterior da carapaça e o quinto par de pereiópodos reduzido, geralmente modificado e localizado sob a carapaça (Scholtz & Richter, 1995).

Embora Anomura seja amplamente reconhecida como uma infraordem válida dentro de Decapoda, as relações filogenéticas entre suas superfamílias, famílias e gêneros ainda não estão completamente resolvidas. Estudos recentes indicam que a história evolutiva do grupo é complexa e que diferentes conjuntos de dados podem produzir hipóteses filogenéticas distintas (Bracken-Grissom et al., 2013; Ahyong et al., 2016; Tan et al., 2018; Colín et al., 2022; Wang et al., 2023). A investigação dessas relações tem sido conduzida ao longo de várias décadas por meio de diferentes abordagens. Inicialmente, análises baseadas em caracteres morfológicos forneceram importantes hipóteses sobre a evolução do grupo (Martin & Abele, 1986; Tudge, 1997c; McLaughlin et al., 2007), enquanto estudos posteriores incorporaram dados moleculares e filogenômicos, ampliando significativamente o entendimento das relações entre as principais linhagens de Anomura (Machordom & Macpherson, 2004; Schnabel et al., 2011; Bracken-Grissom et al., 2013; Tsang et al., 2014; Ahyong et al., 2016; Tan et al., 2018; Colín et al., 2022; Wang et al., 2023).

Com base em análises filogenéticas abrangentes, diferentes hipóteses têm sido propostas para a organização taxonômica de Anomura. Entre as reconstruções mais abrangentes, Bracken-Grissom et al. (2013), com base em uma análise integrativa de dados moleculares e morfológicos, recuperaram a infraordem como um grupo monofilético e propuseram uma topologia na qual Hippoidea representa o primeiro ramo divergente dentro de Anomura. Após essa divergência inicial, as demais

linhagens formam um grande clado composto por diferentes agrupamentos. Nesse contexto, esse clado pode ser dividido em dois conjuntos principais: o primeiro reúne as superfamílias Aegloidea, Lomisoidea, Chirostyloidea e Galattheoidea, enquanto o segundo corresponde a Paguroidea. Dentro do primeiro conjunto, Lomisoidea e Chirostyloidea são recuperadas como grupos-irmãos, formando um clado que, por sua vez, é irmão de Aegloidea. Galattheoidea aparece como um clado monofilético distinto dentro desse conjunto de linhagens. Em contraste, Paguroidea integra um clado mais amplo juntamente com Lithodoidea, ocupando uma posição interna dentro de Anomura. Nessa configuração, Paguroidea não é recuperado como monofilético, uma vez que Lithodoidea encontra-se alinhada nesse agrupamento. Adicionalmente, alguns táxons tradicionalmente reconhecidos dentro de Paguroidea, como Diogenidae, também foram recuperados como parafiléticos. Esse padrão filogenético reforça a estreita relação evolutiva entre ermitões Paguridae e caranguejos-rei. Entretanto, estudos posteriores baseados em diferentes conjuntos de dados moleculares e genômicos indicam que as relações entre essas linhagens ainda apresentam inconsistências, sugerindo que a evolução de Anomura é mais complexa do que inicialmente proposto (Tsang et al., 2014; Ah Yong et al., 2016; Tan et al., 2018; Colín et al., 2022; Wang et al., 2023).

Dados morfológicos e histológicos do sistema reprodutor masculino (SRM) em crustáceos Decapoda, quando associados à análise da ultraestrutura dos espermatozoides e dos espermatóforos, têm fornecido um conjunto relevante de caracteres amplamente utilizados em estudos taxonômicos e filogenéticos. A descrição detalhada dessas estruturas permite reconhecer padrões relacionados à organização dos testículos, à diferenciação dos segmentos do vaso deferente e aos processos envolvidos na formação dos espermatóforos, bem como à morfologia e à organização interna dos espermatozoides. Em conjunto, esses caracteres têm se mostrado particularmente informativos em análises comparativas, uma vez que refletem aspectos conservados e derivados da biologia reprodutiva de diferentes linhagens, contribuindo para a delimitação de grupos e para inferências sobre suas relações evolutivas. Assim, a análise do SRM, aliada ao uso de microscopia óptica e microscopia eletrônica de transmissão, tem se consolidado como uma abordagem complementar relevante para estudos sistemáticos em Decapoda, possibilitando a identificação de caracteres estruturais úteis para análises filogenéticas e para a

reconstrução de estados ancestrais (Jamieson, 1994; Tudge, 1995, 1997, 2009; Camargo et al., 2016, 2017; Assugeni et al., 2017; Garcia Bento et al., 2019; Paschoal & Zara, 2022; Nogueira et al., 2023, 2025; Andreotti et al., 2025; Paiva et al., 2025).

Diante desse cenário, o levantamento de informações sobre a morfologia e a organização do SRM em Anomura torna-se essencial para ampliar o conhecimento sobre a diversidade reprodutiva do grupo, bem como contribuir para interpretações evolutivas mais robustas. Entretanto, os estudos que abordam a morfologia, a histologia e a ultraestrutura espermática nessa infraordem ainda são relativamente escassos. As informações disponíveis concentram-se em um número limitado de espécies e famílias, com dados exclusivamente relacionados à espermiotaxonomia e à morfologia dos espermatóforos (Tudge, 1991, 1995, 1997; Jamieson & Tudge, 2000; Tirelli et al., 2006, 2006b, 2008, 2010; Santos & Mantelatto, 2011; Buranelli et al., 2014; Paiva et al., 2025).

Nesse contexto, a presente Tese teve como objetivo descrever, elucidar e comparar o SRM em Anomura, com base em análises morfológicas, histológicas e ultraestruturais dos espermatozoides, abrangendo representantes de diferentes famílias e superfamílias da infraordem. A partir dessas análises comparativas, busca-se identificar padrões estruturais que possam refletir aspectos da história evolutiva do grupo e contribuir com informações relevantes para a interpretação de suas relações filogenéticas. A hipótese central desta Tese é que representantes da infraordem Anomura compartilham um padrão estrutural conservado na anatomia e na histologia do SRM, bem como nos processos envolvidos na formação dos espermatóforos. Portanto, predizemos que as espécies analisadas compartilhem uma organização semelhante dessas estruturas, evidenciada pelas análises morfológicas e histológicas realizadas. Entretanto, espera-se que a morfologia dos espermatóforos e a ultraestrutura dos espermatozoides apresentem variações entre as diferentes linhagens, uma vez que essas características podem refletir processos evolutivos associados à diversificação do grupo e fornecer caracteres informativos para interpretações filogenéticas.

A fim de atingir os objetivos propostos, esta Tese foi estruturada em cinco capítulos. O Capítulo I investiga as características do SRM da superfamília Hippoidea, integrando análises anatômicas, histológicas, histoquímicas e ultraestruturais para discutir o posicionamento dessa superfamília em Anomura. O Capítulo II corresponde

a um artigo científico já publicado sobre representantes de Aeglidae (Aegloidea) e teve como objetivo foi descrever e comparar o SRM, enfatizando sua organização anatômica, histológica e ultraestrutural, além de discutir suas implicações evolutivas dentro da infraordem. O Capítulo III amplia a perspectiva filogenética da Tese ao abordar linhagens próximas a Aegloidea, incluindo representantes de Lomisoidea, Chirostyloidea e Galattheoidea, com o objetivo de investigar caracteres da ultraestrutura dos espermatozoides e avaliar como essas características divergem ao longo desse clado, bem como se corroboram as filogenias propostas por diferentes autores. O Capítulo IV concentra-se em representantes de Paguroidea, com ênfase na análise histológica do SRM. Foram investigadas a organização dos diferentes segmentos do vaso deferente, a natureza das secreções produzidas e os processos envolvidos na formação dos espermatóforos, bem como a ultraestrutura dos espermatozoides, com o objetivo de identificar caracteres potencialmente informativos para a filogenia dessa superfamília. O Capítulo V aborda aspectos relacionados à cópula, investigando a transferência e deposição dos espermatóforos, bem como sua organização e interação com a morfologia reprodutiva das fêmeas, permitindo compreender os mecanismos envolvidos na reprodução de Diogenidae. De forma integrada, os capítulos consolidam essas informações sob uma abordagem comparativa, seguindo uma perspectiva filogenética baseada em Bracken-Grissom et al. (2013), partindo de grupos considerados basais até linhagens mais derivadas, como os caranguejos ermitões.

Referências

Andreotti Q, Nogueira CS, Pardo LM, Zara FJ (2025) Comparative spermatozoal ultrastructure in the crab clade Heterotremata (Decapoda: Brachyura): Evidence from a selection of species. *Arthropod Struct Dev* 86:101423.

Assugeni CDO, Magalhães T, Bolaños JA, Tudge CC, Mantelatto FL, Zara FJ (2017) Ultrastructure of spermatozoa of spider crabs, family Mithracidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura): Integrative analyses based on morphological and molecular data. *J Morphol* 278:1628–1646. <https://doi.org/10.1002/jmor.20740>

Ahyong ST, Schnabel KE, Maas EW (2016) Anomuran phylogeny: New insights from molecular data. In: Martin JW, Crandall KA, Felder DL (eds) Decapod crustacean phylogenetics. *CRC Press*, Boca Raton, pp 411–426.

Bracken-Grissom HD, Cannon ME, Cabezas P, Feldmann RM, Schweitzer CE, Ahyong ST, Felder DL, Lemaitre R, Crandall KA (2013) A comprehensive and integrative reconstruction of evolutionary history for Anomura (Crustacea: Decapoda). *BMC Evol Biol* 13:128.

Buranelli RC, Zara FJ, Mantelatto FL (2014) Male reproductive system of the red brocade hermit crab *Dardanus insignis* (Diogenidae) and its relationship to other family members. *Zoomorphology* 133:127–137.

Camargo TR, Rossi N, Castilho AL, Costa RC, Mantelatto FL, Zara FJ (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. <https://doi.org/10.1007/s00435-015-0291-1>

Camargo TR, Rossi N, Castilho AL, Costa RC, Mantelatto FL, Zara FJ (2017) Sperm ultrastructure of shrimps from the family Penaeidae (Crustacea: Dendrobranchiata) in a phylogenetic context. *Arthropod Struct Dev* 46:588–600. <https://doi.org/10.1016/j.asd.2017.05.006>

Colín A, Galván-Tirado C, Carreón-Palau L, Bracken-Grissom HD, Baeza JA (2023) Mitochondrial genomes of the land hermit crab *Coenobita clypeatus* (Anomura: Paguroidea) and the mole crab *Emerita talpoida* (Anomura: Hippoidea) with insights into phylogenetic relationships in the Anomura (Crustacea: Decapoda). *Gene* 849:146896. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.146896>

Garcia Bento MA, Greco LSL, Zara FJ (2019) Seminal fluid production and sperm packaging in dromiid crabs (Brachyura: Podotremata). *Zoology* 132:17–30.

Jamieson BGM (1994) Phylogeny of the Brachyura with particular reference to the Podotremata: Evidence from a review of sperm ultrastructure (Crustacea: Decapoda). *Philos Trans R Soc Lond B* 345:373–393. <https://doi.org/10.1098/rstb.1994.0119>

Jamieson BGM, Tudge CC (2000) Progress in male gamete ultrastructure and phylogeny. In: Adiyodi KG, Adiyodi RG (eds) *Reproductive biology of invertebrates*, vol 9. Wiley, pp 1–95.

Martin JW, Abele LG (1986) Phylogenetic relationships of the genus *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglididae), with comments on anomuran phylogeny. *J Crustac Biol* 6:576–616.

McLaughlin PA, Lemaitre R, Sorhannus U (2007) Hermit crab phylogeny: A reappraisal and its fall-out. *J Crustac Biol* 21:97–115.

Nogueira CS, Zara FJ, Costa RC (2023) Male reproductive system of the freshwater prawn *Macrobrachium brasiliense* (Decapoda: Palaemonidae): Notes on spermatophore formation and sperm count. *Tissue Cell* 81:102008.

Nogueira CS, Zara FJ, Costa RC (2025) Male reproductive systems of *Macrobrachium pantanalense* and *M. amazonicum* (Decapoda: Caridea: Palaemonidae): New insights into spermatozoa morphology in decapod crustaceans. *J Crustac Biol* 45:003.

Paiva B, Nogueira CS, Teixeira GM, Zara FJ (2025) Male reproductive system in *Aegla* (Decapoda: Aeglididae) and its anatomic-histological and ultrastructural relationship with other anomuran crabs. *Cell Tissue Res* 401:319–340.

Paschoal LRP, Zara FJ (2022) Is there a trade-off between sperm production and sexual weaponry in the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)? *Zoology* 153:126029. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2022.126029>

Santos NM, Mantelatto FL (2011) Reproductive system of the male hermit crab *Clibanarius sclopetarius*: Gonopore, spermatophore and spermatozoa morphologies. *Aquat Biol* 12:271–280.

Scholtz G, Richter S (1995) Phylogenetic systematics of the reptantian Decapoda (Crustacea: Malacostraca). *Zool J Linn Soc* 113:289–328.

Tan MH, Gan HM, Lee YP, Linton S, Grandjean F, Bartholomei-Santos ML, Miller AD, Austin CM (2018) ORDER within the chaos: Insights into phylogenetic relationships within the Anomura (Crustacea: Decapoda) from mitochondrial sequences and gene order rearrangements. *Mol Phylogenet Evol* 127:320–331. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.05.021>

Tirelli T, Campanatico E, Pessani D (2006) Morphology of the male reproductive ducts of *Clibanarius erythropus* (Anomura: Diogenidae). *J Biol Res* 81:1–5.

Tirelli T, Campanatico E, Pessani D, Tudge CC (2006) Description of the male reproductive apparatus of the hermit crab *Calcinus tubularis* (Decapoda: Anomura: Diogenidae). *Crustac Res* 6:13–21.

Tirelli T, Pessani D, Silvestro D, Tudge CC (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. *J Crustac Biol* 28:534–542.

Tirelli T, Silvestro D, Pessani D, Tudge CC (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. *Zool Anz* 248:299–312.

Tsang LM, Chan TY, Ah Yong ST, Chu KH (2011) Hermit to king, or hermit to all: Multiple transitions to crab-like forms from hermit crab ancestors. *Syst Biol* 60:616–629.

Tudge CC (1995) Ultrastructure and phylogeny of the spermatozoa of the infraorders Thalassinidea and Anomura (Decapoda: Crustacea). In: Jamieson BGM, Ausiό J, Justine JL (eds) Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy. *Mém Mus Natl Hist Nat* 166:251–263.

Tudge CC (1997) Phylogeny of the Anomura (Decapoda: Crustacea): Spermatozoa and spermatophore morphological evidence. *Contrib Zool* 67:125–141.

Tudge CC (2009) Sperm morphology and its bearing on decapod phylogeny. In: Martin JW, Crandall KA, Felder DL (eds) Decapod crustacean phylogenetics. *Crustacean Issues* 18. CRC Press, Boca Raton, pp 101–119.

Wang Z, Xu X, Zheng Y, Wang J, Yu Q, Liu B (2023) Taxonomic status and phylogenetic relationship of Anomura (Crustacea: Decapoda) based on mitochondrial sequences and gene order rearrangements. *Gene* 851:147042. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147042>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base no conjunto de resultados obtidos ao longo dos capítulos aqui apresentados, verificou-se que o sistema reprodutor masculino (SRM) em Anomura apresenta um padrão estrutural amplamente conservado dentro da Infraordem em sua organização anatômica, sendo reconhecido de forma consistente entre as diferentes superfamílias, com variações discretas e pouco expressivas principalmente entre Aegloidea e Paguroidea. Do ponto de vista histológico, as modificações também são limitadas, destacando-se Aegloidea como o grupo mais divergente, caracterizado por menor diversidade e quantidade de secreções, sugerindo um menor investimento energético, além da ausência de formação de espermatóforos. A histologia, histoquímica e, principalmente, a formação dos espermatóforos seguem um padrão recorrente entre as demais linhagens analisadas. Na PVD, os espermatozoides encontram-se livres, imersos em secreção. Na porção inicial da MVD, observa-se aumento na produção secretora e, associado à ação da musculatura, ocorre a compactação dos espermatozoides em massas espermáticas, progressivamente envolvidas por secreções que originam a ampola ou protoampola (em Hippoidea), bem como o início da formação do pedúnculo, enquanto no final da MVD, os espermatóforos estão todos formados assim como na DVD. Entretanto, apesar desse padrão geral conservado, tanto os espermatozoides quanto os espermatóforos exibem variações morfológicas relevantes entre as diferentes linhagens. Quando analisadas de forma comparativa e integrada, essas variações revelam-se particularmente informativas, refletindo trajetórias evolutivas distintas e constituindo um conjunto robusto de caracteres com potencial para subsidiar interpretações filogenéticas dentro de Anomura o que confirma a hipótese central desse estudo.

No capítulo I foi retratado o SRM e a formação dos espermatóforos em Hippoidea, revelando um padrão organizacional consistente, em que o vaso deferente apresenta três regiões histologicamente distintas diretamente associadas à formação de espermatóforos em forma de fita. Observou-se que, embora esse padrão seja compartilhado entre os representantes do grupo, Hippidae apresenta uma organização mais simples em comparação aos Albuneidae. Destaca-se, ainda, a elevada complexidade do fluido seminal, refletida na diversidade e especialização das

secreções. Além disso, as evidências ultraestruturais dos espermatozoides indicam proximidade entre *Lepidopa*, *Albunea* Weber, 1795 e *Hippa* Fabricius, 1787, que apresentam uma vesícula acrossomal simples e assimétrica, enquanto *Emerita* se diferencia por modificações específicas nessa estrutura, como uma vesícula acrossoma mais alongada e complexa. Esses resultados reforçam a presença de um padrão reprodutivo consistente em Hippoidea, uma das linhagens de divergência mais antiga dentro de Anomura, ao mesmo tempo em que evidenciam variações estruturais relevantes entre as linhagens.

O SRM em Aegloidea (Capítulo II) apresentou um padrão organizacional convencional, com divisão morfológica consistente ao longo do vaso deferente e sem diferenças expressivas entre machos de diferentes morfotipos I e II. Do ponto de vista histológico, observa-se um sistema com baixo investimento energético, evidenciado pela reduzida quantidade de secreções no lúmen. Além disso, o espermatozoide analisado compartilha uma característica marcante com o de outros congêneres, na qual a vesícula acrossomal encontra-se completamente imersa no citoplasma.

No capítulo III, a ultraestrutura do espermatozoide evidenciou um conjunto consistente de caracteres informativos para a interpretação das relações evolutivas em Anomura, especificamente entre Lomisoidea, Chirostyloidea e Galattheoidea. A similaridade observada entre *Lomis hirta* (Lamarck, 1818) e representantes de Aeglidae reforça a proximidade entre essas linhagens, em concordância com hipóteses filogenéticas recentes. Em contraste, os representantes de Chirostyloidea apresentam um padrão espermático distinto, sustentando sua interpretação como uma linhagem independente dentro do grupo. Já em Galattheoidea, a presença de uma vesícula acrossomal alongada associada a uma câmara perforatorial desenvolvida indica um padrão estrutural amplamente compartilhado entre suas famílias. Esses resultados reforçam o valor da ultraestrutura espermática como fonte complementar de evidências para a sistemática de Anomura, especialmente quando integrada a dados moleculares, embora a limitação no número de espécies analisadas ainda restrinja inferências mais abrangentes.

O SRM, especialmente, as secreções do vaso deferente em Paguroidea (Capítulo IV) evidenciaram seu papel central na formação, compactação e

organização dos espermatóforos, revelando um padrão geral conservado associado a variações estruturais entre as superfamílias, como observado na morfologia do pedúnculo. Apesar dessas diferenças, verifica-se uma convergência funcional. Esses achados ampliam a compreensão dos estados plesiomórficos e derivados em Anomura e fornecem subsídios relevantes para interpretações filogenéticas. Adicionalmente, a ultraestrutura dos espermatozoides em Paguroidea demonstrou elevado potencial informativo, evidenciando variações na organização da vesícula acrossomal, como a diferenciação das camadas internas e na configuração da câmara perforatorial entre as linhagens. Essa diversidade é particularmente expressiva dentro da superfamília, permitindo reconhecer padrões em nível de família, ao mesmo tempo em que revela variações intragrupais significativas. No caso de Lithodidae, embora ainda haja limitação de dados, observa-se um padrão estrutural mais simples, compatível com a hipótese de uma linhagem derivada dentro de Paguroidea. Mais uma vez, os resultados reforçam o valor dos espermatozoides como fonte complementar de evidência na compreensão da evolução reprodutiva e das relações filogenéticas em Anomura, ao mesmo tempo em que destacam a necessidade de ampliação da amostragem taxonômica.

A reprodução em *Isocheles sawayai* Forest & de Saint Laurent, 1968 (Capítulo V) evidencia uma forte integração entre a organização do SRM e o comportamento de cópula, resultando em um mecanismo eficiente de transferência e deposição dos espermatóforos. Observa-se que esses processos atuam de forma coordenada, garantindo a adequada liberação e fixação do material espermático. Esses achados contribuem para o entendimento funcional da reprodução em Paguroidea e reforçam a importância de análises que integrem diferentes níveis de organização biológica.

Podemos concluir que, com base nos dados expostos ao longo de todos os capítulos, Anomura apresenta um padrão geral conservado na anatomia do SRM e na histologia do vaso deferente, mas com diferenças consistentes na morfologia dos espermatóforos, e principalmente, na ultraestrutura dos espermatozoides entre as linhagens. As diferentes abordagens empregadas mostraram-se eficazes em evidenciar essas variações, permitindo reconhecer padrões compartilhados e, ao mesmo tempo, características particulares de cada grupo. Nesse contexto,

espermatóforos e espermatozoides destacam-se como fontes relevantes de caracteres para comparações entre linhagens. Assim, os resultados obtidos reforçam a importância de integrar múltiplas ferramentas na análise da reprodução em *Anomura* e indicam que esses caracteres têm potencial para contribuir de forma consistente para interpretações evolutivas e filogenéticas do grupo.