

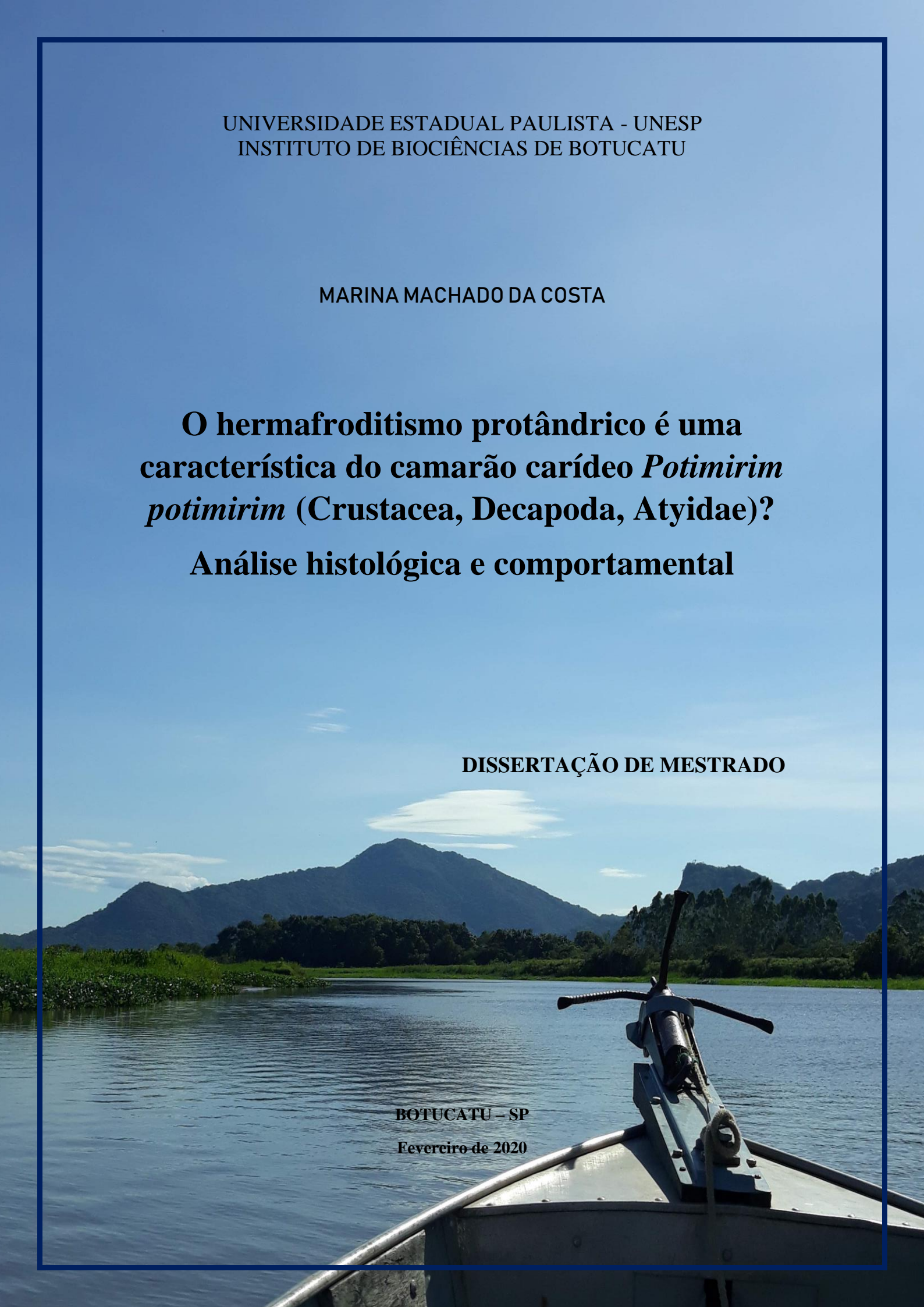
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

MARINA MACHADO DA COSTA

**O hermafroditismo protândrico é uma  
característica do camarão carídeo *Potimirim  
potimirim* (Crustacea, Decapoda, Atyidae)?  
Análise histológica e comportamental**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

BOTUCATU - SP  
Fevereiro de 2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**O hermafroditismo protândrico é uma característica do camarão carídeo *Potimirim potimirim* (Crustacea, Decapoda, Atyidae)?  
Análise histológica e comportamental**

**Marina Machado da Costa**

**Orientadora:** Dra. Maria Lucia Negreiros Fransozo

**Coorientadora:** Dra. Giovana Bertini



Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Campus de Botucatu, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de concentração: *Zoologia*.

**BOTUCATU – SP**

**Fevereiro de 2020**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Costa, Marina Machado.

O hermafroditismo protândrico é uma característica do camarão carídeo *Potimirim potimirim* (Crustacea, Decapoda, Atyidae)? Análise histológica e comportamental / Marina Machado da Costa. - Botucatu, 2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Maria Lucia Negreiros Fransozo

Coorientador: Giovana Bertini

Capes: 20402007

1. Água doce. 2. Camarão - Reprodução. 3. Histologia. 4. Maturidade sexual.

Palavras-chave: água doce; carídeo; histologia; protândrico; sistema sexual.



**'MANY OF THE TRUTHS THAT WE CLING TO  
DEPEND ON OUR POINT OF VIEW.'**

STAR WARS: EP VI - RETURN OF THE JEDI.



Dedico este trabalho a **Sonia Maria Machado**,  
por nunca ter desistido de mim até quando eu mesma desisti.

À minha orientadora Profa. Dra. Maria Lucia Negreiros Fransozo, pela oportunidade, aprendizado, conversas, autonomia e, principalmente, pela confiança depositada em mim. O papel do orientador é orientar, ponto, mas a senhora é reticências. Obrigada por cuidar tão bem de mim. **De coração, muito obrigada por tudo!**

Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida por meio do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências/UNESP Botucatu.

Instituto de Biociências – IB e à Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Unesp de Botucatu e ao Departamento de Zoologia pela estrutura e suporte.

À Profa. Dra. Giovana Bertini, pela coorientação, aprendizado, auxílio nas coletas e todo apoio, estrutura e suporte dos membros e do Laboratório de Biologia e Cultivo de Crustáceos – LABCRUST nas coletas.

Ao Prof. Dr. Fernando José Zara, por me receber em seu laboratório (Laboratório de Morfologia de Invertebrados - IML), pela paciência, ensinamento e todo suporte no desenvolver do presente estudo.

Ao Prof. Dr. Jelly Makoto Nakagaki, nada disso seria possível sem a nossa parceria e confiança de quatro anos, você me ensinou desde os primeiros passos e não consigo mensurar o quanto aprendi com você, obrigada por tudo, Mestre!

À minha mãe, **Sonia Maria Machado**. Grata por ser sua filha. Conseguimos mais uma, hein?!

À minha base familiar, obrigada minha avó (vêia Mid), minhas tias Rose e Sueli e ao meu tio Roberto (o bafo – único XY da família), nada disso teria acontecido sem o apoio de vocês.

À Victória, irmã de coração, por me entender e sempre me apoiar.

Aos meus queridos amigos de longa data, Ana Rayssa, Wilson, Giu, Carolise, Carol, Arabe, Alysson e Renan pinguim por todo amor e companheirismo! Essa é mais uma etapa concluída com o apoio de vocês. **Saudades!**

Aos amigos de Botuca, por todo apoio e momentos compartilhados, fizeram da minha vida leve e repleta de amor. Obrigada por toda vivência e amadurecimento mútuo.

À todas as integrantes do Laboratório de Morfologia de Invertebrados (IML - UNESP/FCAV), Maria Alice, Camila, Fernandinha (obrigada pela paciência) e Barbara, por me acolherem tão bem e pela imensa ajuda e suporte em todo o desenvolvimento do presente estudo. Vocês são fogo no parquinho!

À minha companheira *Izabela*, pela paciência, apoio e amor compartilhado no meio deste caos que chamamos de dia a dia

*A vocês que não estão citados aqui, que passaram rapidamente pela minha vida, mas fizeram parte desta etapa, muito obrigada!*

<b>Considerações iniciais .....</b>	<b>9</b>
Caracterização da família Atyidae De Haan, 1849 .....	9
Estruturação Sistemática do Gênero <i>Potimirim</i> (Holthuis, 1954).....	10
Conhecimento prévio sobre a biologia e importância de <i>P. potimirim</i> .....	12
O hermafroditismo no gênero <i>Potimirim</i> .....	13
<b>Referências.....</b>	<b>17</b>

## Capítulo I

### Descrição do comportamento de acasalamento do camarão carídeo *Potimirim potimirim* (Müller, 1881), em laboratório

<b>Resumo .....</b>	<b>24</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>25</b>
<b>Material e Métodos .....</b>	<b>27</b>
Obtenção e manutenção dos camarões, em laboratório .....	27
Experimento I - Comportamento reprodutivo.....	29
Experimento II - Hermafroditismo protândrico simultâneo?.....	30
<b>Resultados .....</b>	<b>31</b>
Experimento I.....	31
Experimento II .....	33
<b>Tabelas e Figuras.....</b>	<b>34</b>
Figura 1. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Identificação dos espécimes.....	34
Figura 2. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Aquários com sistema fechado .....	35
Figura 3. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Alimentação com raízes de macrófitas. ....	36
Figura 4. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Camarões separados em canos de PVC. ....	36
Figura 5. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Representação esquemática <i>P. potimirim</i> .	37
Figura 6. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Filmagem dos experimentos. ....	37
Figura 7. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Comportamento de cópula <i>P. potimirim</i> ..	38
Figura 8. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Comportamento de cópula <i>P. potimirim</i> ..	39
Figura 9. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Comportamento de cópula <i>P. potimirim</i> ....	40
Tabela 1. Comportamento reprodutivo de <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881). ....	41
<b>Discussão .....</b>	<b>42</b>
<b>Referências.....</b>	<b>45</b>

## Capítulo II

### Descrição do sistema reprodutor do camarão carídeo *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) – Esta espécie é realmente hermafrodita?

<b>Resumo .....</b>	<b>50</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>51</b>
<b>Material e Métodos .....</b>	<b>53</b>
Coleta dos espécimes .....	53
Análises histológicas, histoquímica e microscopia eletrônica de varredura .....	54
<b>Resultados .....</b>	<b>55</b>
Sistema reprodutor feminino de <i>Potimirim potimirim</i> .....	55
Sistema reprodutor masculino de <i>Potimirim potimirim</i> .....	58
Sistema reprodutor de indivíduos indiferenciados .....	60
<b>Figuras.....</b>	<b>62</b>
Figura 1. Área de coleta de <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881). .....	62
Figura 2. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Morfologia do ovário .....	63
Figura 3. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Sistema reprodutor feminino RUD e ED ...	64
Figura 4. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Sistema reprodutor feminino ED e MAD ..	66
Figura 5. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - MEV do esterno e gonóporos femininos....	68
Figura 6. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Sistema reprodutor masculino.....	69
Figura 7. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Sistema reprodutor masculino.....	70
Figura 9. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - MEV gonóporos masculino .....	74
Figura 10. <i>Potimirim potimirim</i> (Müller, 1881) - Sist. reprodutor de ind. indiferenciados ...	75
<b>Discussão .....</b>	<b>76</b>
<b>Referências .....</b>	<b>82</b>
<b>Considerações finais.....</b>	<b>89</b>

## Considerações iniciais

### Caracterização da família Atyidae De Haan, 1849

A ordem Decapoda compreende um grupo bastante diversificado de crustáceos, cujos representantes apresentam diversas adaptações a hábitos de vida bem variados (Chacur & Negreiros-Fransozo, 1998). A subordem Caridea é composta de aproximadamente 389 gêneros, 3438 espécies e em um nível mais inclusivo, Caridea são dominados por Palaemonidae Rafinesque, 1815 (981 espécies), seguidos por Alpheidae Rafinesque, 1815 (663), Atyidae De Haan, 1849 (469), Hippolytidae Spence Bate, 1888 (338) e Crangonidae Haworth, 1825 (219) (De Grave & Fransen, 2011).

Dentre os Caridea, as famílias Atyidae e Palaemonidae incluem o maior número de espécies de camarões de água doce (De Grave *et al.*, 2008; De Grave & Fransen, 2011). Por outro lado, a família Atyidae compreende espécies, principalmente, de água doce e estuarina, com 44 gêneros distribuídos no mundo todo (De Grave & Fransen, 2011).

Os camarões de água doce da família Atyidae encontram-se distribuídos em rios e riachos litorâneos da região Neotropical, sob vegetação marginal submersa ou escondidos embaixo de rochas ou cascalho (Chace & Hobbs, 1969; Ramos-Porto & Palácios, 1981; Lima *et al.*, 2006; Torati, 2009); além de locais com correnteza (Chace & Hobbs, 1969; Ramos-Porto & Palácios, 1981). A ocorrência dos atídeos apenas em regiões litorâneas deve-se à dependência de água salobra para o desenvolvimento das larvas (Molina, 1987).

O gênero *Potimirim* (Holthuis, 1954) ocorre em rios e riachos litorâneos do México, América do Sul e América Central (Torati & Mantelatto, 2012); o qual é composto por cinco espécies descritas: *P. americana* Guérin-Méneville, 1855; *P. mexicana* De Saussure, 1857; *P. glabra* (Kingsley, 1878); *P. potimirim* (Müller, 1881) e *P. brasiliiana* Villalobos, 1959. Além dessas, uma nova espécie (*Potimirim* sp.1), originária de Porto

Rico, foi revelada com base em dados moleculares (Torati & Mantelatto, 2012), a qual está evolutivamente relacionada com *P. potimirim* e *P. mexicana*. Entre as espécies válidas, *P. brasiliana* e *P. potimirim* são as nativas dos rios costeiros no Brasil.

### Estruturação Sistemática do Gênero *Potimirim* (Holthuis, 1954)

Este táxon gerou muitas dúvidas e posições controversas em sua taxonomia ao longo do tempo. O gênero *Potimirim* foi proposto por Holthuis em 1954, com intuito de criar um novo gênero para separar espécies de *Ortmannia* Rathbun, 1901, as quais eram diferentes de *Atya* Leach, 1816 (Torati, 2009). Contudo, Hart propôs o gênero *Jonga* Hart, 1961 para a espécie *Potimirim serrei* Bouvier, 1909, pois este possui uma fileira de pequenos espinhos na margem supra-orbital do rosto, os quais são ausentes em *Potimirim*, de acordo com Torati (2009).

Exemplares de atídeos provenientes das imediações de Veracruz, no México, receberam a denominação *Caridina mexicana*, conferida por Saussure (1858). Vinte anos depois, Kingsley (1878) descreve uma nova espécie, *Atyoida glabra*, ao procurar classificar atyídeos das localidades de Polvon e Corcueva, costa ocidental da Nicarágua. Müller (1881), por sua vez, elaborou a descrição de *Atyoida potimirim* (Müller, 1881), a partir de camarões obtidos no Rio Itajaí, Santa Catarina, Brasil. Alguns anos depois, Müller (1892) publicou também, um estudo sobre aspectos e a biologia de *A. potimirim* (atualmente, *Potimirim potimirim*).

Holthuis (1954) desenvolveu um estudo crítico sobre a validade taxonômica dos gêneros *Atyoida* Randall, 1839 e *Ortmannia* Rathbun (1901), comprovando sua impropriedade a partir do fato que *Ortmannia henshawi* e *O. alluandii* se tratavam de meras sinônimas de *Atya bisulcata* e *A. serrata*, respectivamente, sendo a primeira delas apontada como espécie típica do gênero *Atyoida* por Rathbun (1901). Tais considerações preconizaram, então, o uso da denominação genérica *Atya* Leach, 1816, em detrimento

de suas comprovadas sinonímias *Atyoida* e *Ortmannia*. Holthuis (1954) propôs a inclusão das espécies americanas constituintes, até então, do gênero *Ortmannia* (*O. mexicana* e *O. americana*) em um novo gênero denominado *Potimirim*, designando como espécie tipo *Caridina mexicana* Saussure, 1954 (= *Potimirim mexicana*) e estabelecendo a validade de *Potimirim glabra* (Kingsley, 1954).

Villalobos (1959) adotou a denominação *Potimirim* proposta por Holthuis (1954) e elaborou uma revisão crítica dos caracteres até então utilizados na identificação das espécies conhecidas (*P. mexicana*, *P. potimirim* e *P. glabra*), descrevendo uma nova espécie, *P. brasiliana*. Smalley (1963) transferiu *Caridina americana* para o gênero *Potimirim* e sugeriu ser *P. brasiliana* sinonímia de *P. glabra*, sendo corroborado, anos mais tarde, por estudos de Chace & Hobbs Jr. (1969). Posteriormente, Manning & Hobbs Jr. (1977) reconheceram a validade da espécie proposta por Villalobos (1959), relacionando-a como constituinte da fauna de decápodes dulcícolas da América do Sul. Holthuis (1986) afirmou a proposta como justificável, porém seria necessário melhor análise do material para corroborar esta hipótese. Villalobos (1982) sugeriu que a controvérsia criada por Smalley (1963) poderia ser esclarecida por meio de uma cuidadosa análise da variação das formas e proporções do apêndice sexual masculino em populações representativas das espécies. Em seus resultados iniciais, analisando espécimes de *P. brasiliana* provenientes de São Sebastião e Mangaratiba, comparativamente com aqueles por ele coletados na costa do Pacífico, em El Salvador, Villalobos (1982) teve reforçada sua convicção de que eram populações de espécies distintas.

Molina (1987) realizou um amplo estudo de populações de *P. brasiliana* da região de Ubatuba (São Paulo), abordando aspectos de sua biologia populacional, reprodutiva, bem como desenvolvendo experimentos envolvendo cultivo e desenvolvimento larval, descrevendo cada um dos estágios deste longo desenvolvimento (11 estágios de zoea e

um de pós-larva) comparando-os com e, por fim, não obteve informações que permitissem um melhor e mais consistente posicionamento, quanto ao problema taxonômico em questão.

Toratti & Matelatto (2012) confirmaram a ocorrência de *P. glabra* apenas no Pacífico e Caribe a partir de estudo molecular, sugestão anteriormente dada por Holthuis (1986). Dessa maneira, reafirmou-se o que foi descrito por Villalobos (1959), o qual estabelecia a ocorrência de *P. brasiliiana* e *P. potimirim* em rios costeiros no Brasil e *P. glabra* sendo encontrada na região do Pacífico (Américas Central e Norte).

### Conhecimento prévio sobre a biologia e importância de *P. potimirim*

O camarão carideo *P. potimirim*, “camarão miúdo”, comumente conhecido no Brasil, é geralmente encontrado associado à vegetação subaquática marginal, entre raízes de plantas aquáticas ou escondido embaixo de rochas submersas (Barros & Fontoura, 1996; Lima *et al.*, 2006). Esta espécie pode viver em águas com temperatura atingindo até 30 °C (Coelho & Ramos-Porto 1985), porém, podendo habitar riachos litorâneos paulistas com cerca de 17° C (Hoffmann, 2007). *P. potimirim*, ocorre atualmente, nos Estados brasileiros do Rio Grande do Norte, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (Müller 1881; Ortmann, 1897; Moreira, 1901; Barros & Braun, 1997; Paim *et al.*, 1997; Anger & Moreira, 1998; Teixeira & Sá, 1998; Lima & Oshiro, 1999; Dos Santos & Coelho, 2001; Lima & Oshiro, 2002; Rocha & Bueno, 2004; Lima *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2008; Sampaio *et al.*, 2009; Boos *et al.*, 2012; Torati & Mantelatto, 2012; Paschoal *et al.*, 2013; Moraes *et al.*, 2017).

*P. potimirim* é um componente importante no funcionamento dos ecossistemas de água doce onde vivem, considerando que desempenham um papel fundamental no transporte e na retenção de detritos, na ciclagem de nutrientes (Covich *et al.*, 1999; Crowl

*et al.*, 2001) e na promoção da re-suspensão de sedimentos (Moulton *et al.*, 2004). Além disso, esta espécie limpa substratos duros, exercendo uma influência negativa em perifíton (Souza & Moulton, 2005). Tais atividades estão, provavelmente, associadas ao hábito alimentar e à posse de estruturas morfológicas adaptadas à coleta de detritos orgânicos, principalmente, da água e do substrato (Bauer, 2004).

Os estudos publicados na última década têm sido fundamentais para o esclarecimento de aspectos importantes sobre o gênero *Potimirim*. Entre os quais, destacam-se os seguintes: Lima *et al.* (2006) sobre a biologia populacional de duas espécies, *P. brasiliiana* (publicada como *P. glabra*) e *P. potimirim*; Hoffmann & Negreiros-Fransozo (2010) sobre o período reprodutivo e fecundidade de *Potimirim brasiliiana* (como *P. glabra*); Torati & Mantelatto (2012) sobre a filogenia molecular do gênero; Rocha *et al.* (2013) sobre os aspectos reprodutivos e populacionais de *P. brasiliiana* no litoral paulista; Grilli *et al.* (2014) sobre o sistema sexual do gênero; Moraes *et al.* (2017) como o primeiro registro de *P. potimirim* para o Nordeste do Brasil e Machado *et al.* (2020) sobre a maturidade sexual morfológica e crescimento relativo de *P. brasiliiana* provenientes do litoral sudeste brasileiro.

Neste sentido, pouco se conhece sobre as espécies de camarões carídeos que ocorrem em águas brasileiras e que representam baixo ou nenhum valor econômico à sociedade. Sejam elas adaptadas ao ambiente de água doce, aos estuários ou ao mar. Contudo, tais espécies são fundamentais para o equilíbrio e dinâmica dos ecossistemas aquáticos em que ocorrem. Além de sua diversidade e importância ecológica como componentes da macrofauna bentônica de rios e riachos, alguns camarões de águas continentais têm despertado interesse econômico na carcinicultura, por possuírem potencial para cultivo e comercialização (Sampaio *et al.*, 2009).

O hermafroditismo no gênero *Potimirim*

Os camarões carídeos possuem vários tipos de sistemas sexuais (sexos separados - dióicos, hermafroditismo protândrico sequenciais ou simultâneos, totalizando cinco tipos distintos). Entretanto, embora a maioria das espécies conhecidas seja gonocórica (têm sexos separados), não é incomum encontrar espécies, nas quais ocorre mudança de sexo (Bauer, 2006).

Protandria é o processo em que os indivíduos do sexo masculino trocam de sexo e, à medida que o corpo aumenta de tamanho, as características masculinas são suprimidas e as características femininas desenvolvem-se. Portanto, até o final da transformação, eles são capazes de se reproduzir apenas como fêmeas (Bauer, 2000, 2006). A protandria ocorre, normalmente, quando o sucesso reprodutivo masculino não é dependente do tamanho, como quando os machos não protegem as fêmeas ou tentam forçar a cópula (Bauer, 2006). Posteriormente, a fase feminina é muito mais longa que a fase masculina. Segundo Bauer (2000, 2001) e Baeza (2018), há cinco tipos de sistemas protândricos descritos na literatura, ou seja, a protandria simples ou sequencial, em que a população é composta por machos juvenis pequenos e fêmeas grandes, com alguma sobreposição entre os tamanhos devido à presença de algumas fêmeas pequenas e machos grandes. Neste momento de transição de inversão sexual, a observação de características masculinas e femininas no mesmo indivíduo é comum. O segundo tipo é chamado protandria com fêmeas primárias, no qual, a população é composta por juvenis, indivíduos que trocam para o sexo masculino e algumas fêmeas que são iguais às fêmeas gonocóricas e, portanto, elas não passam pela fase inicial masculina. No terceiro tipo de protandria, algumas fêmeas passam por uma fase masculina não funcional. Essas fêmeas são chamadas de fêmeas precoces. O quarto tipo de protandria caracteriza-se pela presença de machos, que nunca se tornam fêmea e indivíduos protândricos, que se desenvolvem primeiro como machos, e depois, mudam para fêmeas da população. E por fim, o hermafroditismo protândrico simultâneo, em que os juvenis se desenvolvem

primeiro machos e, à medida que crescem, os indivíduos mudam para um fenótipo feminino, exceto que a porção posterior da gônada permanece masculina (testículos, dutos masculinos) e gonóporos masculinos permanecem retidos. Após a transformação, o indivíduo é capaz de se reproduzir tanto como macho, como fêmea.

Estudos sobre a reversão de sexo em camarões carídeos foram realizados por Bauer (1986, 2000, 2001, 2002, 2004), Bauer & Holt (1998), Bauer & Newman (2004), Baeza *et al.* (2008) Alonso-Reyes *et al.* (2010) e Baeza (2018). Alguns desses estudos indicaram que as espécies descritas como hermafroditas protândricas, são reconhecidas atualmente como hermafroditas simultâneas (Bauer 2000; Bauer & Newman, 2004). Na maioria dos estudos, a reversão sexual se baseou-se no crescimento relativo do apêndice masculino e na estrutura populacional (tamanho e distribuição sexual) e estudos histológicos do sistema reprodutor foram realizados em algumas investigações (Reverberi, 1950; Hoffman, 1972; Noël, 1976; Sukumaran, 1982; Cobos *et al.*, 2005; Braga *et al.*, 2009; Braga *et al.*, 2016; Baeza, 2018).

Segundo Alonso-Reyes *et al.* (2010), *Potimirim mexicana* apresenta um padrão de tamanho em relação ao sexo (distribuição frequência-tamanho), que sugere que se trata de uma espécie que passa de indiferenciada para macho e, finalmente, para fêmea (hermafroditismo sequencial ou protândrico). Na ausência de uma grande sobreposição nos tamanhos dos três estágios apresentados (indiferenciados, masculino e feminino), não há outra explicação que os autores possam considerar para obter esse padrão, senão aquele em questão de um hermafroditismo protândrico. No entanto, sem a evidência de reversão de sexo para as características externas com aumento no tamanho dos machos nem, principalmente, redução do testículo e desaparecimento do vaso deferente par, para posterior desenvolvimento do ovário e o par de ovidutos, tal padrão não pode ser confirmado.

Recentemente, Grilli *et al.* (2014) testaram a hipótese de que existiria padrão comum de sistema sexual compartilhado para o gênero *Potimirim* e que ambas as espécies relacionadas para o Brasil (*P. brasiliiana* e *P. potimirim*) seriam hermafroditas protândricas sequenciais. Essas espécies foram analisadas quanto ao sexo, morfologia externa e natureza das gônadas. Contudo, os autores concluíram, com base na ausência de qualquer característica interna ou histológica que possa ser interpretada como evidência de mudança de sexo, que tais espécies são gonocóricas. Embora, os autores mencionem a realização de análises relacionadas a natureza das gônadas, nenhuma imagem é apresentada no referido estudo. Até o presente, nenhum estudo do ponto de vista histológico foi encontrado para comprovar a presença do sistema reprodutor separado, ou seja, a existência de gonocorismo em camarões do gênero *Potimirim*.

Neste sentido, uma investigação mais aprofundada sobre o comportamento de acasalamento e histologia do sistema reprodutor, com o propósito de determinar o padrão sexual, seriam a base para o esclarecimento desta controvérsia proposta há anos, na literatura.

## Referências

- Almeida, AO; Coelho, PA; Luz, JR; Santos, JTA & Ferraz, NR 2008. Decapod crustaceans in fresh waters of southeastern Bahia, Brazil. *Revista de Biologia Tropical*, 56(3): 1225–1254.
- Alonso-Reyes, P; Bortolini-Rosales, JL & Álvarez, F 2010. Análisis discriminante aplicado a los grupos sexuales de *Potimirim mexicana*, camarón hermafrodita protándrico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81: 187–192
- Anger, K & Moreira, GS 1998. Morphometric and reproductive traits of tropical caridean shrimps. *Journal of Crustacean Biology*, 18(4): 823–838.
- Baeza, JA 2018. Sexual systems in shrimps (Infraorder Caridea Dana, 1852), with special reference to the historical origin and adaptive value of protandric simultaneous hermaphroditism. In: Leonard, J.L. (Ed.), *Transitions between sexual systems: understanding the mechanisms of and pathways between, dioecy, hermaphroditism and other sexual systems*. Springer Verlag, Heidelberg (in press).
- Bauer, RT 1986. Sex change and life history pattern in the shrimp *Thor manningi* (Decapoda: Caridea): a novel case of partial protandric hermaphroditism. *Biological Bulletin*, 170: 11–31.
- Bauer, RT 2000. Simultaneous hermaphroditism in caridean shrimps: a unique and puzzling sexual system in the Decapoda. *Journal of Crustacean Biology*, 20 (2): 116–128.
- Bauer, RT 2001. Hermafroditismo en camarones: el sistema sexual y su relación con atributos socio-ecológicos. *Interciencia*, 26(10): 434–439
- Bauer, RT 2002. Reproductive ecology of a protandric simultaneous hermaphrodite, the shrimp *Lysmata wurdemanni* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology*, 22(4): 742-749.
- Bauer, RT 2004. *Remarkable shrimps: natural history and adaptations of the carideans*. University of Oklahoma Press, Norman. 1<sup>st</sup> Ed., 316p.
- Bauer, RT & Holt, GJ 1998. Simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae): an undescribed sexual system in the decapod Crustacea. *Marine Biology*, 132: 223–235.
- Bauer, RT & Newman, WA 2004. Protandric simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata californica* (Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology*, 24(1): 131–139

- Barros, MP & Braun, AS 1997. Contribuição aos estudos dos Atyidae e Palaemonidae (Crustacea, Decapoda) do leste brasileiro 14°21' e 20°55' da latitude sul. *Biotemas*, 10(1): 7–26.
- Barros, MP & Fontoura, NF 1996a. Biologia reprodutiva de *Potimirim glabra* (Kingsley, 1878) (Crustacea, Decapoda, Atyidae), na Praia da Vigia, Garopaba, Santa Catarina, Brasil. *Nauplius*, (4): 1-10
- Barros, MP & Fontoura, NF 1996b. Crescimento de *Potimirim glabra* (Kingsley, 1878) (Crustacea, Decapoda, Atyidae), na Praia da Vigia, Garopaba, Santa Catarina, Brasil. *Nauplius*, 4: 11-28.
- Boos, H; Buckup, GB; Buckup, L; Araújo, PB; Magalhães, C; Almeirão, MP; Santos, RA & Mantelatto, FL 2012. Checklist of the Crustacea from the state of Santa Catarina, Brazil. *Check List*, 8(6): 1020–1046.
- Braga, AA; López-Greco, LS; Santos, DC & Fransozo, A 2009. Morphological evidence for protandric simultaneous hermaphroditism in the caridean *Exhippolysmata oplophoroides*. *Journal of Crustacean Biology*, 29(1): 34–41.
- Braga, AA; Nunes, ET; López- Greco, LS; Camargo- Mathias; MI & Fransozo, V 2016. Histological and histochemical features of the oogenesis in the simultaneous protandric hermaphrodite shrimp *Exhippolysmata oplophoroides* (Decapoda: Caridea). *Micron*, 88: 60– 67.
- Chace, FA, Jr. & Hobbs Jr., HH 1969. The freshwater and terrestrial Decapoda crustaceans of the West Indies special reference to Dominica. *Bulletin of the United States National Museum, Washington*, 292: 1-243.
- Chacur, MM & Negreiros-Fransozo, ML 1998. Aspectos biológicos do camarão-espinho *Exhippolysmata oplophoroides* (Holthuis, 1948) (Crustacea, Caridea, Hippolytidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 59(1): 173-181
- Cobos, VD; Raso, JEG & Manjón-Cabeza ME 2005. Insights on the female reproductive system in *Hippolyte inermis* (Decapoda, Caridea): is this species really hermaphroditic? *Invertebrate Biology*, 124(4): 310–320
- Coelho, PA & Ramos-Porto, M 1985. Camarões de água doce do Brasil: distribuição geográfica. *Revista Brasileira de Zoologia*, 2 (6): 405-410.
- Covich, AP; Crawl, TA; Jonson, SL; Varza, D & Certain, D 1991. Post-hurricane Hugo increases in Atyid abundances in a Puerto Rican Montane stream. *Biotropica*, Lawrence, 23(4a): 448-454

- Covich, AP, Palmer, MA & Crowl, TA 1999. The role of benthic invertebrate species in freshwater ecosystems: zoobenthic species influence energy flows and nutrient cycling. *BioScience*, 49(2): 119:127.
- Crowl, TA, Mcdowell, WH, Covich, AP & Johnson, SL 2001. Freshwater shrimp effects on detrital processing and nutrients in a tropical headwater stream. *Ecology*, 82(3): 775–783.
- De Grave, S & Fransen, CHJM 2011. Carideorum catalogus: the recent species of the dendrobranchiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda). *Zoologische Mededelingen*, Leiden, 85: 195–589.
- De Grave, S; Cai, Y & Anker, A 2008. Global diversity of shrimps (Crustacea, Decapoda, Caridea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 287–293.
- Dos Santos, MAC & Coelho, PA 2001. Crustacea Decapoda of the Paripe River estuary, Pernambuco, Brazil. *Hydrobiologia*, 449: 77–79.
- Grilli, NM; Terossi, M & Mantelatto, FL 2014. Sexual system of the freshwater shrimps of the genus *Potimirim* Holthuis (Decapoda: Caridea: Atyidae): is there a pattern in this genus? *Marine and Freshwater Research*, 65: 759–765.
- Hoffman, DL 1972. The development of the ovotestes and copulatory organs in a population of protandric shrimp, *Pandalus platyceros* Brandt from Lopez Sound, Washington. *The Biological Bulletin*, 142: 251–270.
- Hoffmann, P 2007. **Ecologia populacional e reprodutiva de *Potimirim glabra* (Kingsley,1954) (Caridea, Atyidae) em riachos da região de Ubatuba-SP.** 96p. Dissertação de Mestrado (Zoologia). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Hoffmann, P & Negreiros-Fransozo, ML 2010. Reproductive cycle and fecundity of *Potimirim glabra* (Kingsley, 1954) (Caridea, Atyidae) from a littoral stream. *Invertebrate Reproduction & Development*, 54(3): 133-141.
- Holthuis, LB 1954. On a collection of decapod crustacea from the Republic of El Salvador (Central America). *Zoologische Verhandelingen*, Leiden, 23: 1-43.
- Holthuis, LB 1986. Freshwater shrimps of the family Atyidae (Crustacea: Decapoda) from western Colombia. *Journal of Crustacean Biology*, 6(3): 438-445.
- Kingsley, JS 1878. Notes on the North American Caridea in the Museum of the Peabody Academy of Science at Salem. *Proceedings of Academic Natural Science of Philadelphia*, Philadelphia, 89-98.

- Lima, GV & Oshiro, LMY 1999. Aspectos reprodutivos do camarão de água doce *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) (Crustacea, Decapoda, Atyidae) do rio Sahy, Mangaratiba/RJ. *Nauplius*, 7: 65–71.
- Lima, GV & Oshiro, LMY 2002. Partição ambiental de *Potimirim glabra* (Kingsley) e *Potimirim potimirim* (Müller) (Crustacea, Decapoda, Atyidae) no rio Sahy, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(2): 175–179.
- Lima, GV; Silveira, CM & Oshiro, LMY 2006. Estrutura populacional dos camarões simpátricos *Potimirim glabra* e *Potimirim potimirim* (Crustacea, Decapoda, Atyidae) no rio Sahy, Rio de Janeiro, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, 96(1): 81–87
- Machado, MC; Hoffmann, P; Gonçalves, GRL & Negreiros-Fransozo, ML 2020. Sexual maturity of the small shrimp *Potimirim brasiliiana* Villalobos, 1959 (Crustacea, Atyidae), from the southeastern coast of Brazil. *Journal of Neotropical Biology*, 17(1): 1-14.
- Manning, RB & Hobbs Jr., HH 1977. Decapoda. Pp. 157-162. In: S. H. Hulbert, ed., *Biota Aquatica de Sudamerica Austral*. San Diego State University, San Diego, California, XIV. 342p.
- Molina, FML 1987. **Biologia de *Potimirim brasiliiana* Villalobos, 1950 (Crustacea, Decapoda, Atyidae)**. 270p. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo. São Paulo, Brasil.
- Moraes, AB; Moraes, DCS; Alencar, CERD, Silva, WP & Freire, FAM 2017. First record of *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) (Crustacea, Decapoda, Atyidae) from Rio Grande do Norte, Northeastern Brazil. *Check List*, 13(2): 2060.
- Moreira, C 1901. Contribuições para o conhecimento da fauna brasileira. Crustáceos do Brasil. *Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, 11: 1-153.
- Moulton, TP; Souza, ML; Silveira, RML & Krsulović, FAM 2004. Effects of ephemeropterans and shrimps on periphyton and sediments in a coastal stream (Atlantic forest, Rio de Janeiro, Brazil). *Journal of the North American Benthological Society*, 23(4): 868–881.
- Müller, F 1881. *Atyoida potimirim*, eine schlammfressende süßwasserganeele. *Kosmos*, Stuttgart, 9: 117-124.
- Müller, F. 1892. O camarão miúdo do Itajahy *Atyoida potimirim*. *Archivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, 8: 155-178.

- Noël, P 1976. L'évolution des caracteres sexuels chez *Processa edulis* (Risso) (Decapode, Natantia). *Vie et Milieu*. Vol. XXVI (fasc. 1, ser. A): 65–104.
- Paim, JP; Peso-Aguiar, MC; Carqueija, CRG; Almeida, TCA & Assis, RCF 1997. Ocorrência de *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) (Crustacea, Decapoda, Atyidae) no rio Mucuri-Bahia. *Nauplius*, 5(2): 147–148.
- Ortmann, AE 1897. Os camarões de água doce da América do Sul. *Revista do Museu Paulista*, 2: 173-216.
- Paschoal, LRP; Souza, RM; Guimarães, FJ & Couto, ECG 2013. Phytophilous caridean shrimps (Atyidae and Palaemonidae) in Salsa River (Canavieiras, Bahia, Brazil). *Nauplius*, 21(1): 123–126.
- Ramos-Porto, M & Palácios, JAP 1981. Estudos ecológicos do rio Capibaribe-Mirim, PE. IV. Crustáceos decápodes natantes. *Trabalhos de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco*, 16: 265-296.
- Rathbun, MJ 1901. The Brachyura and Macrura of Puerto Rico. *Bulletin of the United States Fishery Commission*, Washington, 20(2): 1-127.
- Rocha, SS; Bueno, SLS; 2004. Crustáceos decápodes de água doce com ocorrência no Vale do Ribeira de Iguape e rios costeiros adjacentes, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21(4): 1001–1010.
- Rocha, SS; Bueno, SLS; Shimizu, RM & Mantelatto, FL 2013. Reproductive biology and population structure of *Potimirim brasiliiana* Villalobos, 1959 (Decapoda, Atyidae) from a littoral fast-flowing stream, Sao Paulo State, Brazil. *Crustaceana*, 86: 67–83.
- Sampaio, SR; Nagata, JK; Lopes, OL & Masunari, S 2009. Camarões de águas continentais (Crustacea, Caridea) da Bacia do Atlântico oriental paranaense, com chave de identificação tabular. *Acta Biológica Paranaense*, 39(1–2): 11–34.
- Saussure, H 1858. Memore sur divers Crustacés nouveaux du Mexique et des Antilles. *Mémoires pour servir à l'histoire naturelle du Mexique, des Antilles et des Etas - Unis*, 1:1-82, pls. I-IV.
- Souza, ML & Moulton, TP 2005. The effects of shrimps on benthic material in a Brazilian island stream. *Freshwater Biology*, 50: 592–602.
- Smalley, AE 1963. The genus *Potimirim* in Central America (Crustacea, Atyidae). *Revista de Biología Tropical*, 11(2): 177-183.
- Sukumaran, KK 1982. On the gonad of the protandric prawn *Hippolysmata ensiorostris* Kemp. *Indian Journal of Fisheries*, 28: 195–198.
- Torati, LS 2009. **Revisão taxonômica das espécies brasileiras de *Potimirim* Holthuis,**

- 1954 e filogenia do grupo baseado em dados moleculares.** 95p. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo. São Paulo, Brasil.
- Torati, LS & Mantelatto, FL 2012. Ontogenetic and evolutionary change of external morphology of the neotropical shrimp *Potimirim* (Holthuis, 1954) explained by a molecular phylogeny of the genus. *Journal Crustacean Biology*, 32: 625–640.
- Teixeira, RL & Sá, HS 1998. Abundância de macrocrustáceos decápodes nas áreas rasas do complexo lagunar Mundaú/Manguaba, AL. *Revista Brasileira de Biologia*, 58(3): 393-404.
- Villalobos, FA 1959. Contribución al conocimiento de los Atyidae de México. II (Crustacea, Decapoda). Estudio de algunas especies del género *Potimirim* (=Ortmannia), con descripción de una especie nueva de Brasil. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional de México*, México, 30: 269-330
- Villalobos, FA 1982. Decapoda. Pp. 215 - 239. In: S. H. Hulbert & A. Villalobos-Figueroa (Eds.) *Aquatic biota of Mexico, Central America and the West Indies*. San Diego, San Diego State University, 529p.

# Capítulo I



Descrição do comportamento de acasalamento  
do camarão carídeo *Potimirim potimirim*  
(Müller, 1881), em laboratório

## Resumo

Camarões da infraordem Caridea (Crustacea, Decapoda) constituem um componente importante da macrofauna de diversos ambientes aquáticos. O conhecimento sobre o comportamento reprodutivo de espécies de Caridea, ecologicamente importantes, vem ganhando espaço, em particular, entre autores brasileiros. Baseado na hipótese que camarões do gênero *Potimirim* possam ser hermafroditas, analisamos o comportamento reprodutivo do camarão carídeo *Potimirim potimirim* (Müller, 1881), em laboratório. Esta espécie vive agregada e movimenta-se bastante no ambiente em busca de alimento, em especial. Deste modo, os experimentos foram acompanhados, em laboratório, quanto aos ciclos reprodutivos utilizando-se uma câmera de vídeo, totalizando 10 réplicas (nenhum camarão foi re-utilizado nos experimentos). Fêmeas ovígeras foram mantidas num mesmo aquário com fêmeas adultas que recém haviam liberado larvas para a verificação de ocorrência de acasalamento. Neste caso, testando-se a hipótese de hermafroditismo simultâneo. O comportamento reprodutivo apresentou-se conforme três etapas, como seguem: interação, posicionamento lateral e cópula (obs. não seguindo tal ordem e nem algum padrão). Verificou-se que machos realizaram guarda pré-cópula, entretanto a guarda pós-cópula não foi registrada. Fêmeas copularam com mais de um macho. Desse modo, viver agregado pode ser uma tática vantajosa para essa espécie. Tais resultados favorecem a hipótese pelo qual a falta de corte pelo macho, guarda pós-cópula e pela alta taxa de indivíduos agregados, as cópulas ocorrem em encontros por acaso, reforçando a “pure searching”, sendo uma tática evolutiva de muitas espécies de camarões pequenos. A controvérsia existente na literatura, que classifica *Potimirim mexicana* De Saussure, 1857 e, possivelmente o gênero, como hermafrodita não foi evidenciada para *P. potimirim*, a qual se trata de uma espécie gonocórica.

**Palavras-chave:** caridea, cópula, gonocorismo, protandria e água doce.

## Introdução

Estudos sobre a reprodução dos camarões carídeos são fundamentais para a compreensão dos ciclos de vida de tais crustáceos decápodes, de modo que generalizações sobre o referido processo morfo-fisiológico devem ser obtidas, facilitando seu entendimento. Adicionalmente, tal conhecimento pode viabilizar a proposição de hipóteses a respeito de possíveis padrões reprodutivos existentes entre espécies próximas filogeneticamente, que vivem em ambientes distintos e/ou espécies que não possuem uma história de descendência comum, mas que vivem em ambientes semelhantes (Bauer, 1992). A descrição morfológica do sistema reprodutor, mecanismos de inseminação, transferência espermática, processo de exteriorização da massa de ovos, incubação de embriões, caracterização macro e microscópica dos sistemas sexuais de espécies de Caridea, constitui a base para o entendimento sobre os caminhos evolutivos, pelos quais ocorreu a distribuição dos atributos reprodutivos nas espécies deste táxon (Bauer, 2004).

Dentre os aspectos relacionados à reprodução dos crustáceos decápodes, o comportamento sexual e os sistemas de acasalamento têm recebido bastante atenção por parte dos pesquisadores, durante as últimas décadas (Knowlton, 1980; Nakashima, 1987; Bauer, 1996; Correa & Thiel, 2003; Thiel & Correa, 2004; Gregati *et al.*, 2014). A compreensão, com detalhes, de quais tipos de comportamento reprodutivo que os espécimes de uma espécie exercem, antes e após a cópula, torna possível estabelecer relações sobre as causas e consequências evolutivas do comportamento de cópula (Correa & Thiel, 2003).

Com relação às espécies de carídeos, que ocorrem em território brasileiro, há uma relativa escassez de informação quanto às características comportamentais reprodutivas das mesmas. Contudo, as investigações comportamentais sobre os carídeos foram

realizadas anteriormente por autores da América Latina. Entre elas, destacam-se as seguintes: análise do comportamento de acasalamento e o sucesso na fertilização de três estágios de desenvolvimento de machos do camarão *Rhynchocinetes typus* H. Milne Edwards, 1837 e, também, a hierarquia de dominância e táticas de acasalamento por morfotipos de machos (Correa *et al.*, 2000; 2003); comportamento de acasalamento de fêmeas de *R. typus*, indicando a poliandria por conveniência e escolha críptica da fêmea (Thiel & Hinojosa, 2003); sucessão rápida da fêmea de *R. typus* até uma hierarquia de dominância pelo macho (Thiel & Correa, 2004); os morfotipos masculinos de *Rhynchocinetes brucei* Okuno, 1994 e seu comportamento de acasalamento (Thiel *et al.*, 2010). Entre os estudos mais recentes, destacam-se o tipo de sistema sexual em *Hippolyte obliquimanus* (Dana, 1852) por Terossi *et al.* (2008); aspectos da reprodução de *Exhippolysmata oplophoroides* (Holthuis, 1948) por Braga *et al.* (2009); período reprodutivo, a fecundidade e fatores ambientais determinantes do ciclo reprodutivo de *Palaemon northropi* (Rankin, 1898) e *Palaemon pandaliformis* (Stimpson, 1871), respectivamente por Pralon & Negreiros-Fransozo (2006) e Mortari *et al.* (2009).

Barki & Karplus (1999) analisaram o comportamento de acasalamento e o ensaio comportamental para a receptividade das fêmeas no lagostim *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868). Tais autores descreveram que o comportamento é de acasalamento, mas a ação de aproximação e junção do entre o macho e a fêmea é denominada cópula. Portanto, no presente estudo, utilizaremos a mesma terminologia na descrição do comportamento de acasalamento de *P. potimirim*.

Este estudo visa uma análise detalhada do comportamento de acasalamento do camarão miúdo *P. potimirim*, ainda não estudado quanto a este aspecto, em laboratório. Neste sentido, a partir do que está registrado na literatura sobre *Potimirim*, pretendemos

comprovar a ausência do hermafroditismo por meio de análises experimentais para a espécie foco do estudo.

## Material e Métodos

### Obtenção e manutenção dos camarões, em laboratório

Os camarões foram coletados no Rio Ribeira de Iguape, município de Iguape, (24°41'11" S; 47°33'47" W) localizado na região sul do Estado de São Paulo. Cada amostragem teve a duração de 40 minutos, nos quais, as coletas foram determinadas acompanhando a curva do rio em locais que havia vegetação marginal. Dois coletores percorreram a extensão de cerca de 5 metros ao longo das margens do rio, passando peneiras (80 cm × 80 cm × 4 mm abertura) junto à vegetação marginal. Após as amostragens, os espécimes foram transportados, vivos em caixas térmicas, para o LABCRUST (Laboratório de Biologia e Cultivo de Crustáceos, UNESP Campus de Registro, SP, Brasil), no qual foram mantidos em caixas térmicas contendo água do local de coleta, com aeração constante, até serem transportados para o NEBECC (Núcleo de Estudos de Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos, UNESP Campus de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP, Brasil).

Posteriormente, os camarões foram separados por sexo, nos quais, a espécie apresenta dimorfismo sexual. Portanto, para identificar fêmeas observou-se a olho nu o preenchimento da gônada ultrapassando o cefalotórax, a coloração (verde a verde escuro) e pela alta taxa de pigmentação, ausente em machos. Para machos, além de apresentarem tamanho inferior às fêmeas, pouca pigmentação, gônada translúcidas, o intestino formando uma linha contínua do dorso abdominal até sua porção final bem evidente, tornando fácil a separação preliminar por sexo (Figuras 1 A-D).

Entretanto, para realização dos experimentos, os machos que foram separados com base na identificação descrita anteriormente, foram analisados macroscopicamente para confirmação do apêndice masculino robusto, localizado no segundo par de pleópodo, (análises a olho nu obtiveram 98% de veracidade) e posteriormente, os camarões foram acondicionados em aquários (0,40 m × 0,23 m × 0,25 m) com sistema fechado (recirculação de água, aeração constante e em condições estáveis de temperatura (19° à 24°C - similares às do ambiente natural) adaptado de Bolla Jr (2014), com algas artificiais, rochas, areia fina como substrato (Figura 2) e o fotoperíodo de 12:12 horas claro e escuro.

Após dois dias de aclimação dos camarões nos aquários, procedeu-se a alimentação dos mesmos (dia sim, dia não) com raízes de macrófitas, provenientes do local de coleta (Figura 3). A manutenção dos aquários (limpeza, por exemplo) foi realizada no dia posterior à alimentação. Adicionalmente, foram realizadas observações macroscópicas das gônadas masculinas e femininas. As fêmeas apresentando gônadas com coloração verde escura ultrapassando o cefalotórax e machos, apresentando gônadas tons alaranjado escuro, foram selecionados e individualizados em canos de PVC, com tela em uma das extremidades, para que fossem transferidos, posteriormente, para o aquário experimental (Figura 4).

Todos os indivíduos utilizados nos experimentos foram mensurados. Para a mensuração utilizou-se um microscópio estereoscópico (provido do Software Carl Zeiss™ AxioVision Rel. 4.8). As dimensões obtidas foram as seguintes: 1) todos os camarões -comprimento do cefalotórax (CC = medida da margem pós-orbital até a margem distal ou posterior do cefalotórax); (Figura 5). Neste aspecto, adotou-se, sempre que possível, as técnicas propostas por Rodrigues (1992); Anger & Moreira (1998) e Hoffmann & Negreiros-Fransozo (2010).

As observações comportamentais foram feitas por meio da técnica "*sequence sampling*". Segundo Altmann (1965), a amostragem de sequência, o foco da observação é uma sequência de interação, em vez de qualquer indivíduo particular. Um período de amostra começa quando uma interação se inicia. Durante a amostra, todos os comportamentos em estudo são registrados, em ordem de ocorrência (Hazlett & Bossert, 1965).

No presente estudo, todos os comportamentos de acasalamento registrados ocorreram em: 1-interação; 2- posicionamento lateral e 3- cópula. Entretanto em alguns casais não ocorrerem obrigatoriamente nesta ordem. Após a realização de cada experimento, as fêmeas eram transferidas novamente para canos de PVC, no quais permaneceram em observação de cinco a seis dias, devido a possibilidade do surgimento de ovos fecundados aderidos às cerdas, sob o segundo par de pleuras. Após este período, as fêmeas foram fixadas em álcool 70% e os machos foram fixados após a finalização de cada tratamento e suas respectivas réplicas (descritos abaixo), pois em experimentos testes os machos morriam após serem inseridos nos canos de PVC e os outros camarões praticavam necrofagia. Todos os indivíduos utilizados encontram-se conservados na coleção científica do Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos (NEBECC), Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, UNESP - Campus de Botucatu.

## Experimento I - Comportamento reprodutivo

Os indivíduos mantidos em canos de PVC que sofreram muda durante a fase escura, ou seja, as mudas foram observadas no fundo do cano de PVC, foram transferidos na manhã seguinte para os respectivos experimentos. Portanto, não foi possível determinar o momento exato da muda, entretanto, todos os indivíduos utilizados, sofreram o processo. Para descrição do comportamento reprodutivo, os experimentos

foram conduzidos em um aquário de vidro retangular (20 cm × 10 cm × 15 cm). Cada experimento teve duração de 4 horas e foram cronometrados por imagens de vídeo, considerando que, em testes preliminares, verificou-se que os indivíduos se acasalam em 30 a 45 minutos, após serem inseridos no aquário. Tal prazo foi considerado como processo de aclimatação.

Quatro machos adultos e seis fêmeas adultas receptivas (fêmeas que recém realizou a ecdise) foram transferidos, individualmente, em canos de PVC e mantidos em tais compartimentos até o início das filmagens, quando eram colocados para o fundo do aquário, com aeração constante e areia como substrato (Figura 6). As ações reprodutivas foram registradas, em laboratório, por uma câmera de vídeo (SJ400 Sjcam), totalizando 10 réplicas (nenhum camarão foi utilizado novamente). Este experimento visou a descrição do comportamento de acasalamento do camarão *P. potimirim*. As observações tiveram como verificação as seguintes possibilidades: 1) se um macho copula com mais de uma fêmea; 2) se ocorre guarda da fêmea pelo macho antes e após a copula; 3) ou, se as cópulas ocorrem por “pure searching”.

## Experimento II - Hermafroditismo protândrico simultâneo?

Os experimentos foram conduzidos em um aquário de vidro retangular (20 cm × 10 cm × 15 cm) e teve duração de dez dias, totalizando, 240 horas.

Seis fêmeas ovígeras foram mantidas em canos de PVP, após a liberação larval e sofrerem mudas, foram transferidas para um aquário com areia como substrato. A seguir, foram inseridas seis fêmeas ovígeras no mesmo aquário e observadas quanto à ocorrência de acasalamento. O objetivo deste experimento foi testar o hermafroditismo simultâneo. Em caso positivo, ou seja, caso a fêmea não-ovígera (fêmea que liberou as larvas recentemente) efetue uma desova após um período de 7 a 10 dias, o outro indivíduo (a

suposta fêmea ovígera) inserido posteriormente, poderia ser indivíduo hermafrodita simultâneo.

## Resultados

### Experimento I

Os resultados obtidos foram agrupados e descritos, nos quais o foco é a sequência de interações, em vez de um indivíduo. A sequência de interações foi descrita em três etapas, as quais são listadas, a seguir:

1- Interação: após um contato gerado por uma breve aproximação, o macho busca a fêmea, a escala lateralmente, frontalmente ou anteriormente e posiciona-se em seu dorso toca-las usando as antenas, antênulas e pereiópodes (Figuras 7 A-E).

2- Posicionamento lateral: o macho permanece no dorso da fêmea e posteriormente, se posiciona próximo ao abdômen, em específico no segundo par da pleura da fêmea, fazendo movimentos de “vai e vem”, flexionando abdômen para baixo, próximo a pleura. Este ato diminui a frequência de atividade da fêmea, aparentando atuar como aceitação da fêmea, antes do próximo ato comportamental, a cópula. Um macho, geralmente, é bem-sucedido na cópula se tiver alcançado esta posição; a rejeição pela fêmea ocorre com mais frequência no contato de escalada (Figuras 8 A-E).

3- Cópula (ou cópula com natação): após o macho posicionar-se lateralmente no abdômen da fêmea, a fêmea flexiona o abdômen para cima e faz movimentos repetidos com os pleópodes, o macho se posiciona embaixo da fêmea e ocorre a cópula. Durante a cópula, o macho utiliza seu par de apêndices masculino, possivelmente, para permanecer junto à fêmea, enquanto ocorre o depósito do espermatóforo no esterno da fêmea. Quando a cópula ocorre durante o movimento de natação, a fêmea nada com os pleópodes e com o

macho (em seu dorso) e ele se posiciona embaixo da fêmea e ocorre a cópula. Após a cópula, a fêmea pode se soltar flexionando o abdômen com auxílio do telson ou apenas nadar em sentido oposto do macho. Contudo, a fêmea permanece ativa e o macho pode permanecer imóvel por alguns minutos, até horas após a cópula (Figuras 9 A-C).

O comportamento reprodutivo não foi semelhante em todo experimento para os diversos acasalamentos. Assim, o mais comumente observado foi que os machos podem escalar as fêmeas e pode ocorrer a guarda pré-cópula. Eles se posicionam lateralmente ao abdômen da fêmea e, caso não ocorra rejeição da fêmea, a cópula ocorre. Entretanto, a cópula foi observada fora desta sequência, ou seja, à medida que o macho se aproximava, ele se posicionava lateralmente e efetuava a cópula imediatamente. Entretanto, machos que tiveram esse tipo de comportamento de acasalamento, resultou em fêmeas utilizando o pereiópodes ativamente em direção a câmara do externo abdominal, nos quais os espermatóforo foi depositado, ou seja, rejeição do espermatóforo. Houve diferença no tempo do comportamento de acasalamento, o qual variou de 25 segundos a seis a minutos (Tabela 1).

Nos machos em que foram observados realizando a guarda pré-cópula foi verificado que a partir do momento que um indivíduo se posicionava no dorso da fêmea (Figuras 7 A-E), nenhum outro macho se aproximava. Entretanto, a guarda pós-cópula não foi registrada e logo após a cópula o macho se afastava da fêmea. Após um intervalo de quinze a vinte minutos, outros machos se aproximavam da fêmea e começavam a tateá-la. Machos que recém copularam mantiveram-se imóveis parcialmente, não se aproximando de mais nenhuma outra fêmea, enquanto as fêmeas permaneciam ativas. Logo, verificou-se que as fêmeas copularam com mais de um macho. Após duas horas e meia de observações em todos os experimentos, os camarões “se agregam”

(comportamento migratório) nas laterais dos aquários, uns sobrepondo os outros, comportamento típico da espécie, que vive em grande número de indivíduos.

Do total de cópulas observadas, houve asseguramento de 50% em relação à transferência do material genético e fertilização nos eventos de cópula observados, com mancha ocular nos óvulos fertilizados.

## Experimento II

Os aquários foram observados diariamente e as seis fêmeas não ovígeras (fêmeas que liberaram as larvas, recentemente) não efetuaram desova após um período de 7 a 15 dias. Somente as fêmeas que foram inseridas ovígeras no experimento liberaram as larvas no segundo dia de observação e, à medida que uma fêmea realizou a liberação das larvas, as outras fêmeas iniciaram o processo de liberação, como uma sequência e todas as fêmeas sofriam muda frequentemente, sendo encontradas no aquário diariamente durante os 10 dias de experimento. Dos atos comportamentais observados, não foi observado comportamento agonístico entre as fêmeas, hierarquia ou dominância, apenas forrageio. O ato comportamental mais comum observado foi de agregação (comportamento migratório), fêmeas permaneciam constantemente agregadas umas às outras.

## Tabelas e Figuras

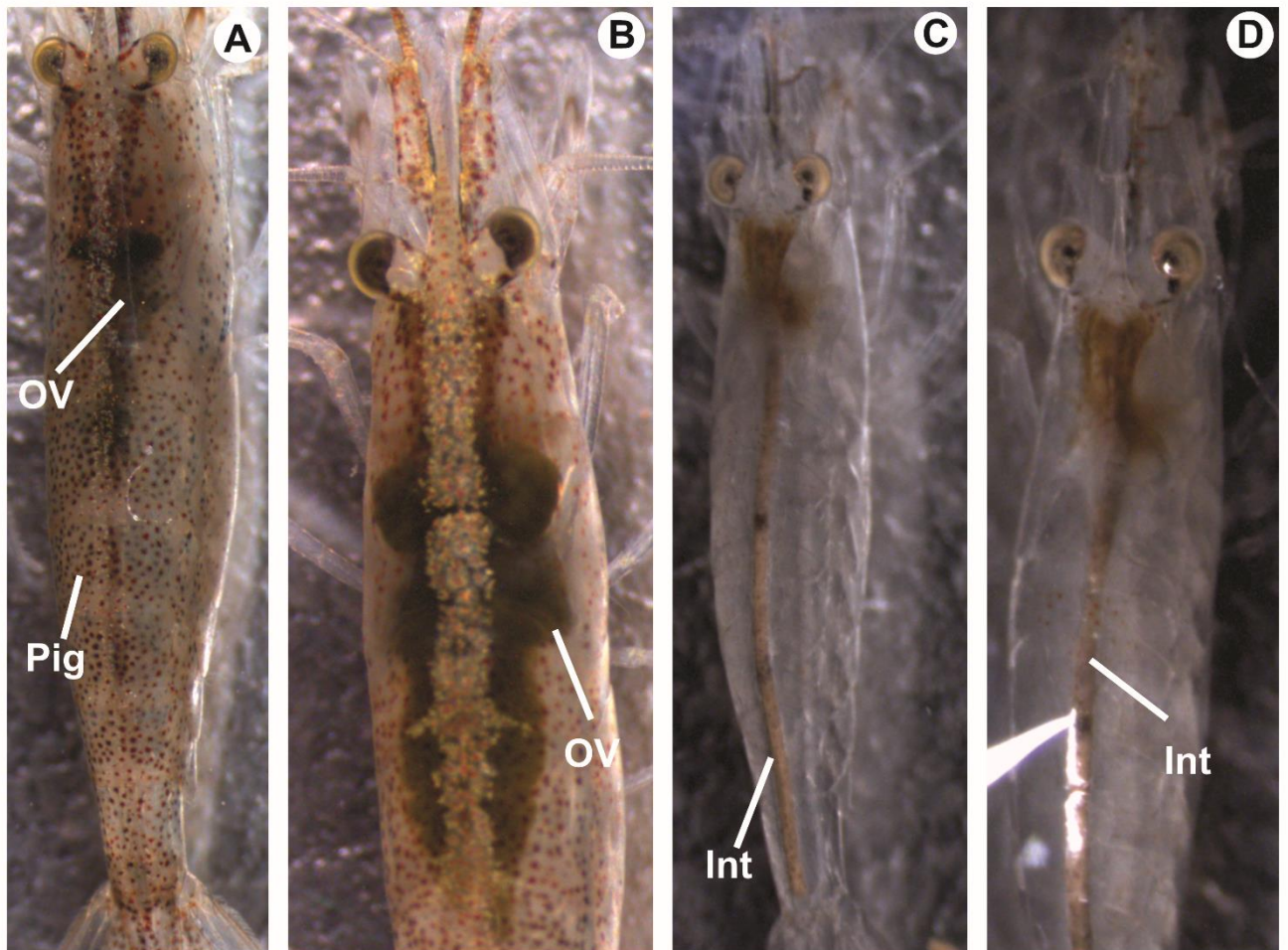


Figura 1. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Identificação dos espécimes. **A-B.** para identificar fêmeas, observou-se a olho nu o preenchimento da gônada ultrapassando o cefalotórax, sua coloração (verde a verde escuro) e pigmentação acentuada; **C-D.** machos, apresentam tamanhos inferiores às fêmeas, pouca pigmentação, gônada translúcidas, o intestino (forma uma linha) que preenche o dorso abdominal, do cefalotórax à porção final do abdômen. Int=intestino; OV=ovário; Pig=pigmentação.



Figura 2. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Aquários com sistema fechado (recirculação de água, aeração constante, filtração contínua e em condições estáveis de temperatura), algas artificiais, rochas, areia fina como substrato e refúgios artificiais para alimentação dos camarões.



Figura 3. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Alimentação com raízes de macrófitas, provenientes do local de coleta.



Figura 4. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Camarões separados em canos de PVC.

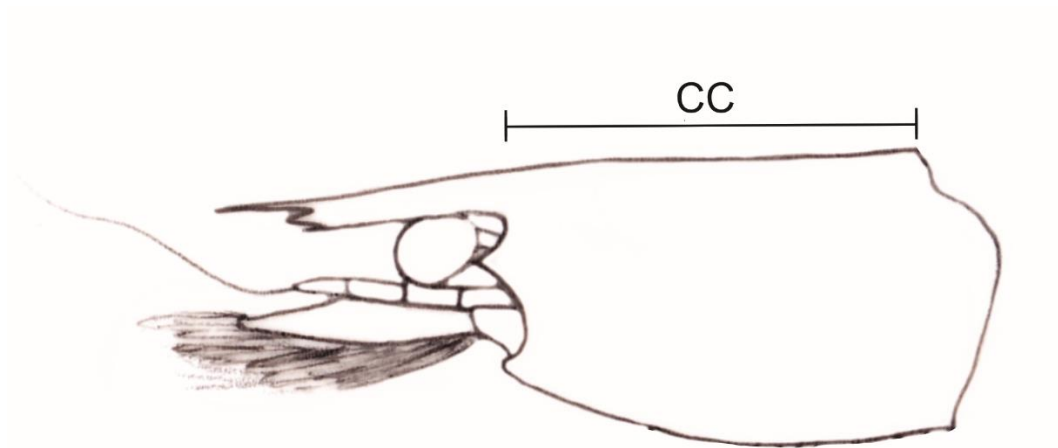


Figura 5. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Representação esquemática do cefalotórax do camarão *P. potimirim* (modificado de Holthuis, 1993). Estrutura do cefalotórax mensurada (CC = medida da margem pós-orbital até a margem distal ou posterior do cefalotórax).

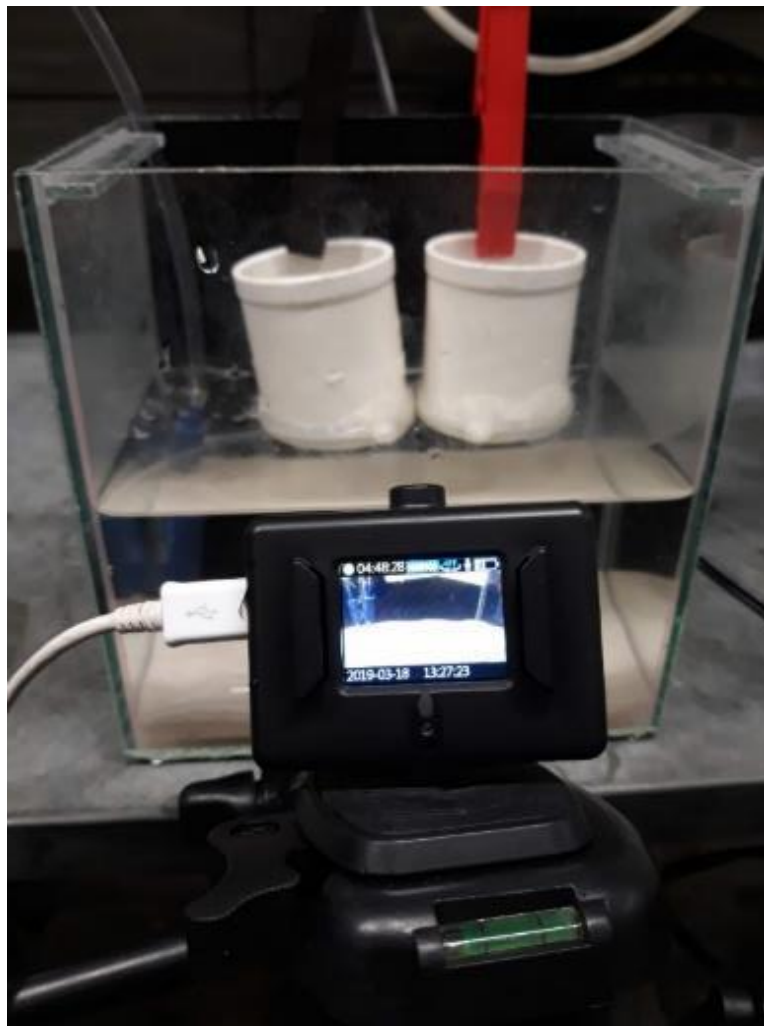


Figura 6. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Filmagem dos experimentos.

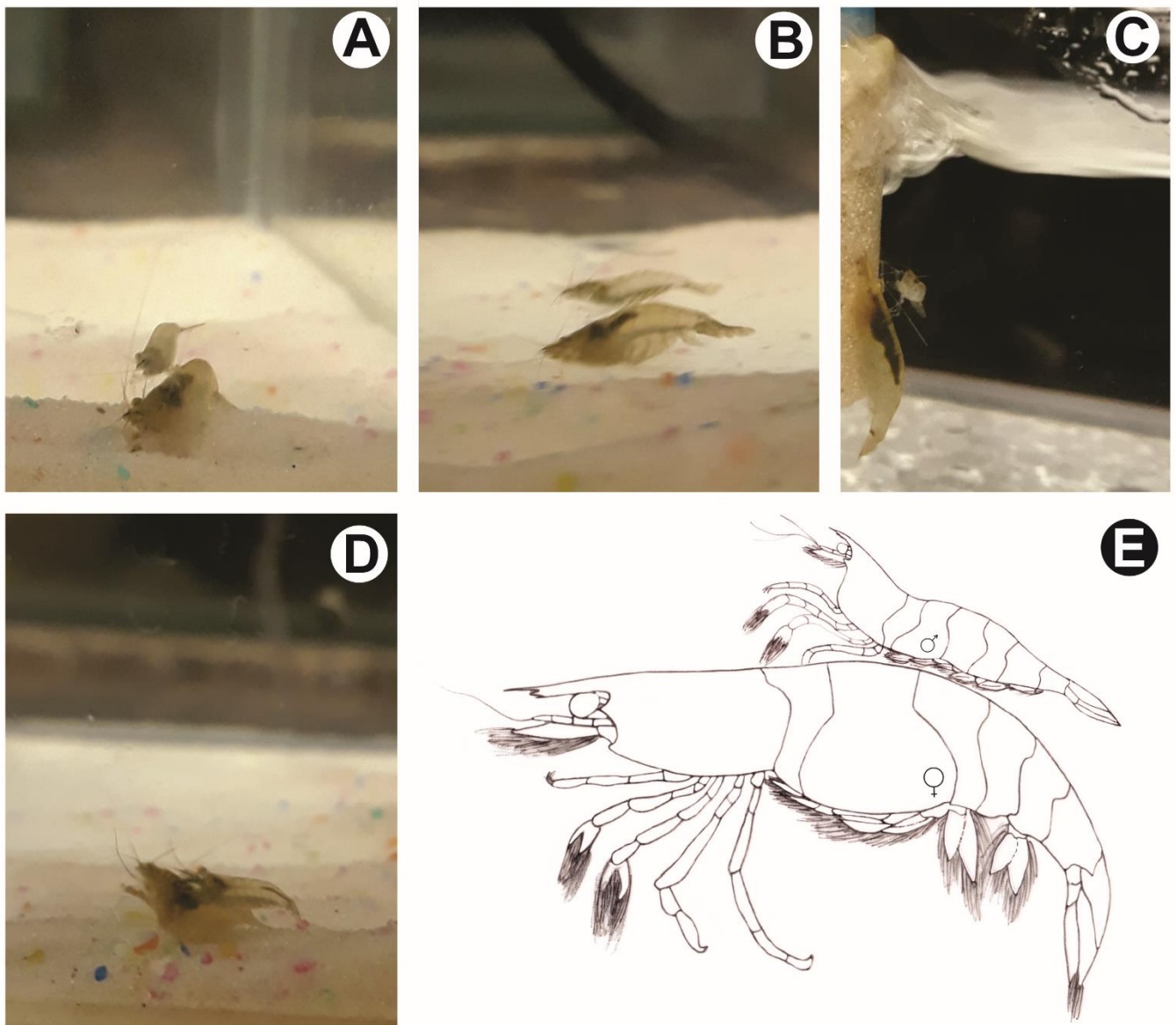


Figura 7. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Comportamento de cópula em *P. potimirim*. **A-E**. Interação dos casais, após um contato gerado por uma breve aproximação, machos se posicionam no dorso da fêmea e começam a tateá-la com antenas, antênulas e pereiópodes; **E**. Desenho representativo para melhor visualização do ato comportamental.

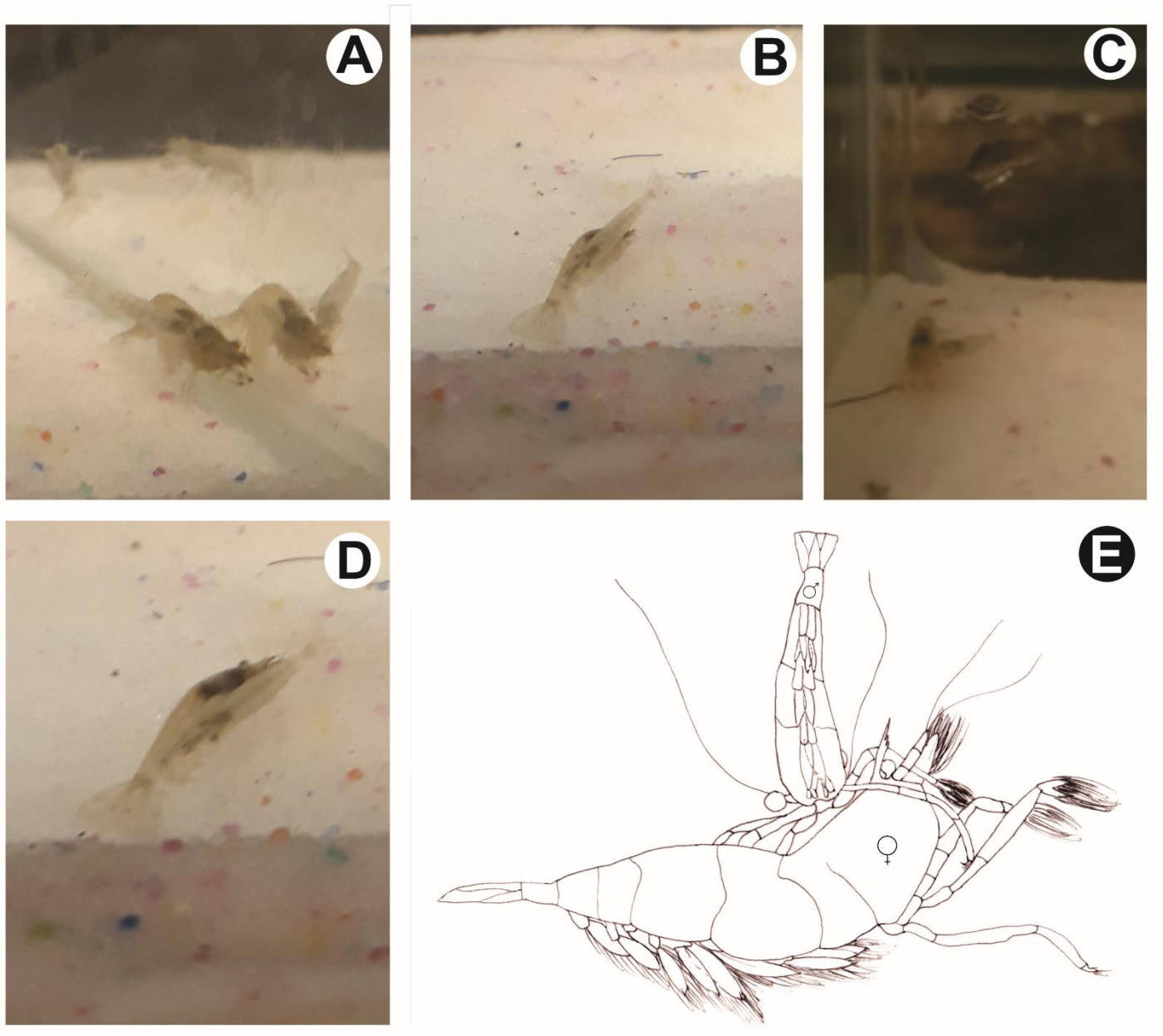


Figura 8. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Comportamento de cópula em *P. potimirim*. **A-E**. Posicionamento lateral, o macho no dorso da fêmea, se posiciona próximo ao abdômen, no segundo par da pleura da fêmea, flexionando abdômen para baixo, próximo a pleura; **E**. Desenho representativo para melhor visualização do ato comportamental.

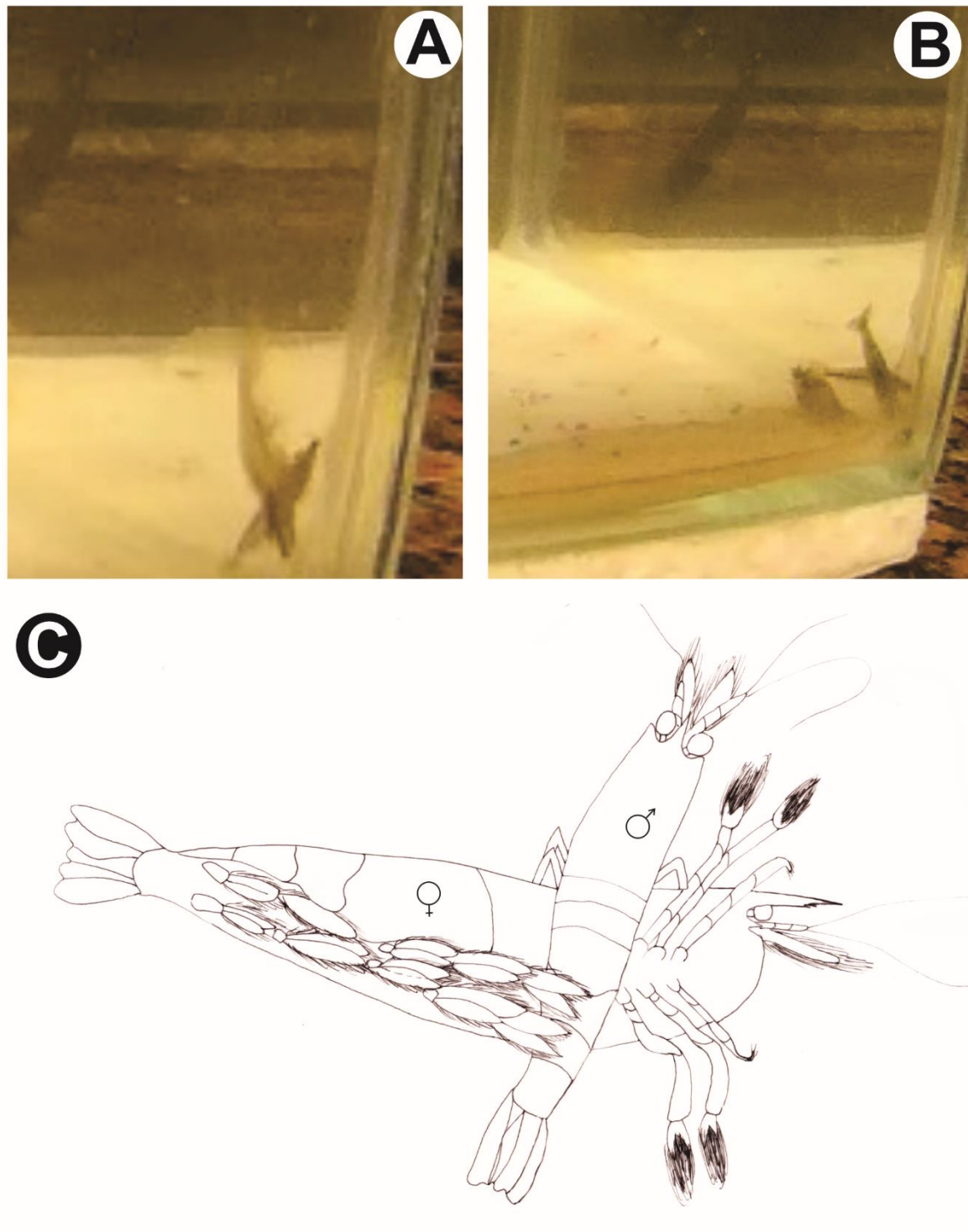


Figura 9. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Comportamento de cópula em *P. potimirim*. **A-E**. Cópula (ou cópula com natação), o macho se posiciona embaixo de fêmea e ocorre a cópula. A fêmea pode se soltar pulando para trás ou apenas nadar em sentido oposto do macho. **E**. Desenho representativo para melhor visualização do ato comportamental.

Tabela 1. Comportamento reprodutivo de *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) observados para trinta casais diferentes, em condições laboratoriais.

Número do experimento	Tamanho das fêmeas (mm)	Tamanho dos machos (mm)	Comportamento reprodutivo			
			N total de cópulas	Tempo total (minutos)	Cópula (segundos)	Fêmeas ovíferas
1	De 3.35 a 4.22	De 2.22 a 2.37	3	3; 7.28; 28*	7; 4; 6;	0
2	De 4.32 a 3.57	De 2.20 a 2.34	4	8; 5.28; 2.39; 1.49	5; 9; 11; 9	2
3	De 4.00 a 3.34	De 2.26 a 2.72	4	7.18; 58*; 3.18; 1.52	11; 3; 9; 5	2
4	De 3.07 a 3.71	De 2.12 a 2.77	2	1.27; 4.56	6; 11	1
5	De 3.8 a 3.07	De 2.18 a 2.83	4	5.08; 2.15; 4.32; 21*	8; 9; 11; 3	3
6	De 4.31 a 3.12	De 2.39 a 2.65	4	16*; 3; 5.17; 3.09	10; 12; 7; 9	4
7	De 3.4 a 4.36	De 2.2 a 2.72	1	1.39	4	0
8	De 3.75 a 4.49	De 2.22 a 2.62	4	4.32; 2.17; 3.28; 1.57	12; 9; 11; 8	4
9	De 3.48 a 4.12	De 2.04 a 2.34	1	3.37	6	0
10	De 3.17 a 3.73	De 2.26 a 2.58	3	5.28; 2.14; 18*	10; 13; 6	2

\* tempo em segundos

## DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos sobre o comportamento de acasalamento de *P. potimirim* verifica-se que os camarões não apresentam um padrão sequencial. A sequência no comportamento de acasalamento não é absolutamente essencial para a transferência do espermatóforo, mas auxilia na transferência do mesmo e pode aumentar a probabilidade de alcançar o local correto na fêmea, possivelmente pelo tempo de cópula. Cópulas que ocorreram entre oito a treze segundos foram bem-sucedidas, ao contrário de cópulas que duraram de três a seis segundos. Em muitas espécies de decápodes, inclusive carídeos, o acasalamento é de curta duração. A colocação do espermatóforo pelo macho ocorre durante uma interação curta com a fêmea (<30 seg) (Hoffman, 1972; Yano *et al.*, 1988; Bauer, 1992). O posicionamento lateral observado em *P. potimirim* apresentou ser uma tática para cópula bem-sucedida, camarões machos se posicionavam e inicia-se toques com antenas, antênulas e pereópodes, no segundo par da pleura feminina, aparentando a aceitação da fêmea para cópula. Segundo Valenti (1985), toques com quelípodes em atos que precedem a cópula são comuns em camarões de água doce do gênero *Macrobrachium* Bate, 1868.

O comportamento de acasalamento em camarões marinhos e de água doce pode ser classificado em uma série de eventos conforme descrito por Bauer (1976). A rejeição da fêmea pelo macho ou a rejeição do espermatóforo (batimento contínuo dos pleópodes da fêmea para limpeza) são a principal causa de acasalamentos malsucedidos. Os quais, de fato, foram observados em nossos resultados em que machos não realizaram a interação ou posicionamento lateral, apenas a cópula, no que resultou no batimento contínuo dos pleópodes das fêmeas, possivelmente limpando e rejeitando o espermatóforo o macho.

A guarda de parceiro, normalmente não ocorre em espécies de camarões de tamanhos pequenos e outros machos podem copular com mais de uma fêmea (Bauer, 1996). Entretanto, observou-se a guarda pré-cópula, nas quais, nenhum macho se aproximava da fêmea enquanto havia um macho posicionado em seu dorso e fêmeas foram observadas copulando com mais de um macho enquanto, os machos permaneciam inativos após a cópula. Sugerimos que machos de *P. potimirim* reconhecem fêmeas receptivas apenas por contato, por viverem agregados e após o contato, machos liberam hormônio sexual inibindo a aproximação de outros machos. Segundo Diaz & Thiel (2004), as fêmeas do camarão *Rynchocinetes typus* seguem pistas químicas transmitidas pela água para localizar machos dominantes. Os machos, no entanto, precisavam de contato físico para reconhecer o estado de receptividade da fêmea (Diaz & Thiel 2004) e segundo Duffy & Thiel (2007), é um exemplo interessante de um hormônio de contato. No camarão *P. pugio*, que vive em grupos com de alta densidade, os machos reconhecem as fêmeas receptivas por contato, mas apenas durante um breve período que antecede a muda da fêmea (Berg & Sandifer 1984, Bauer & Abdalla 2001). Esse contato próximo parece apropriado quando os carídeos já vivem em alta densidade, como *P. potimirim*.

Cinco tipos de sistemas de acasalamento são descritos para camarões carídeos, sendo eles: eusocialidade, monogamia, busca e pareamento, dominância de territórios e busca ativa ou pura (Correa & Thiel, 2003; Bauer, 2004). O padrão que melhor se encaixaria as populações de *P. potimirim* é a da busca pura.

Analisando o comportamento de cópula do carídeo *Palaemonetes pugio* (Holthuis, 1949), os autores Bauer & Abdalla (2001) propuseram que alta taxa de encontros por acaso na natureza, em espécies de camarões que vivem agregados e muito ativos foi responsável pela evolução da busca pura (“pure searching”). Acreditamos que a ausência de corte, guarda da fêmea pós-cópula e alta taxa de indivíduos agregados em

*P. potimirim* contribuem para a ocorrência de cópulas em encontros por acaso e supõe-se que “pure searching” seja uma tática para esses camarões pequenos. Tal mecanismo aparenta ser mais eficiente do que a guarda de parceiros.

A controvérsia presente na literatura (Alonso-Reyes *et al.*, 2010), a qual classifica *Potimirim mexicana* De Saussure, 1857 como espécie hermafrodita e, possivelmente, também, característica do gênero, não foi verificada para *P. potimirim*, o qual comprovou-se aqui ser uma espécie gonocórica. Nenhum ato comportamental foi observado nos experimentos realizados com fêmeas ovígeras e fêmeas não ovígeras, o que sugeriria a presença de hermafroditismo protândrico simultâneo, como relatado para os camarões da família Hippolytidae Spence Bate, 1888 e Lysmatidae Dana, 1852 (Bauer, 1976; Bauer & Holt, 1998; Bauer, 2002, 2004, 2006; Bauer & Newman, 2004; Terossi *et al.*, 2008; Baeza *et al.*, 2009; Baeza *et al.*, 2010; Braga *et al.*, 2009, Braga *et al.*, 2016; Baeza, 2018).

Nossos experimentos evidenciam cópulas bem-sucedidas entre machos e fêmeas gonocóricos e a sequência no comportamento de acasalamento é de fato crucial para uma cópula bem-sucedida. Os quelípodés do primeiro par de pereiópodés, nesta espécie, apresenta um grande número de cerdas modificadas para a alimentação (filtração de alimento em suspensão na água) e não para lutar com outros indivíduos pela posse da fêmea receptiva ou de predar o alimento conforme pode ser observado no comportamento de acasalamento de camarões do gênero *Macrobrachium* (Chow *et al.*, 1982; Ra'anán & Sagi, 1985). Tais espécies apresentam morfotipos determinados pela relação do comprimento total do camarão e tamanho dos quelípodés e, neste caso, o apêndice possibilita ao macho segurar a fêmea e fixar o espermatóforo em seu esterno.

## Referências

- Alonso-Reyes, MA; Bortolini-Rosales, JL & Alvarez, F 2010. Análisis discriminante aplicado a los grupos sexuales de *Potimirim mexicana*, camarón hermafrodita protándrico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81: 187-192.
- Altmann, SA 1965. Sociobiology of rhesus monkeys. II: Stochastics of social communication. *Journal of Theoretical Biology*, 8: 490-522
- Anger, K & Moreira, GS 1998. Morphometric and reproductive traits of tropical caridean shrimps. *Journal of Crustacean Biology*, 18 (4): 823-838.
- Baeza, JA; Braga, AA; López-Greco, LS; Perez, E; Negreiros-Fransozo, ML & Fransozo, A 2010. Population dynamics, sex ratio and size at sex change in a protandric simultaneous hermaphrodite, the spiny shrimp *Exhippolysmata oplophoroides*. *Marine Biology*, 157: 2643–2653.
- Baeza, JA 2018. *Sexual systems in shrimps (Infraorder Caridea Dana, 1852), with special reference to the historical origin and adaptive value of protandric simultaneous hermaphroditism*. In: Leonard, J.L. (Ed.), *Transitions between sexual systems: understanding the mechanisms of and pathways between, dioecy, hermaphroditism and other sexual systems*. Springer Verlag, Heidelberg (in press).
- Barki, A & Karplus, I 1999. Mating behaviour and behavioural assay for female receptivity in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Crustacean Biology*, 19: 493–297.
- Bauer, RT 1976. Mating behaviour and spermatophore transfer in the shrimp *Heptacarpus pictus* (Stimpson) (Decapoda: Caridea: Hippolytidae). *Journal of Natural History*, 10: (4): 415-440.
- Bauer, RT 1992. Testing generalizations about latitudinal variation in reproduction and recruitment patterns with sicyoniid and caridean shrimp species. *Invertebrate Reproduction & Development*, 22(1-3): 193-202.

- Bauer, RT 1996. A test of hypotheses on male mating systems and female molting in decapod shrimp, using *Sicyonia dorsalis* (Decapoda: Penaeoidea). *Journal of Crustacean Biology*, 16: 429-437.
- Bauer, RT 2002. Reproductive ecology of a protandric simultaneous hermaphrodite, the shrimp *Lysmata wurdemanni* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae) *Journal of Crustacean Biology*, 22(4):742-749.
- Bauer, RT 2004. *Remarkable Shrimps: Natural History and Adaptations of the Carideans*. University of Oklahoma Press, Norman.
- Bauer, RT & Holt, GJ 1998. Simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae): an undescribed sexual system in the decapod Crustacea. *Marine Biology*, 132: 223–235.
- Bauer, RT & Abdalla, JH 2001. Male mating tactics in the shrimp *Palaemonetes pugio* (Decapoda, Caridea): precopulatory male guarding vs. pure searching. *Ethology*, 17:185-199.
- Bauer, RT & Newman, WA 2004. Protandric simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata californica* (Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology*, 24 (1): 131–139.
- Bolla Jr, EA 2014. **Aquecimento global e acidificação oceânica: efeitos da temperatura, salinidade e dióxido de carbono no desenvolvimento larval do caranguejo intertidal *Eriphia gonagra* (Crustacea, Decapoda, Eriphiidae)** 151p. Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu. Botucatu-São Paulo
- Braga, AA; López-Greco, LS; Santos, DC & Fransozo, A 2009. Morphological evidence for protandric simultaneous hermaphroditism in the caridean *Exhippolysmata oplophoroides*. *Journal of Crustacean Biology*, 29(1): 34–41.
- Braga, AA; Nunes, ET; López- Greco, LS; Camargo- Mathias; MI & Fransozo, V 2016. Histological and histochemical features of the oogenesis in the simultaneous protandric hermaphrodite shrimp *Exhippolysmata oplophoroides* (Decapoda: Caridea). *Micron*, 88: 60– 67.

- Chow, S; Ogasawara, Y & Taki Y 1982. Male Reproductive system and fertilization of the Palaemonid shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48(2): 177-183.
- Correa, C; Baeza, JA; Dupre E; Hinojosa, I.A & Thiel, M 2000. Mating behavior and fertilization success of three ontogenetic stages of male rock shrimp *Rhynchocinetes typus* (Decapoda: Caridea). *Journal of Crustacean Biology*, 20: 628-640.
- Correa, C; Baeza, JA; Dupre E; Hinojosa, I.A & Thiel, M 2003. Male dominance hierarchy and mating tactics in the rock shrimp *Rhynchocinetes typus* (Decapoda: Caridea). *Journal of Crustacean Biology*, 23(1): 33–45.
- Correa, C & Thiel, M 2003. Mating systems in caridean shrimp (Decapoda: Caridea) and their evolutionary consequences for sexual dimorphism and reproductive biology. *Revista Chilena de Historia Natural*, 76: 187-203.
- Gragati, RA; Fransozo, V; López-Greco, LS; Negreiros-Fransozo, ML & Bauer, RT 2014. Functional morphology of the reproductive system and sperm transfer in *Stenopus hispidus* (Crustacea: Decapoda: Stenopodidea), and their relation to the mating system. *Invertebrate Biology*, x(x) 1–13.
- Hazlett, BA & Bossert, WH 1965. A statistical analysis of the aggressive communications systems of some hermit crabs. *Animal Behavior*, 13: 357-373.
- Hoffman, DL 1972. The development of the ovotestis and copulatory organs in a population of protandric shrimp, *Pandalus platyceros* Brandt from Lopez Sound, Washington. *The Biological Bulletin*, 142: 251–270.
- Hoffmann, P & Negreiros-Fransozo, ML 2010. Reproductive cycle and fecundity of *Potimirim glabra* (Kingsley, 1954) (Caridea, Atyidae) from a littoral stream. *Invertebrate Reproduction & Development*, 54(3): 133-141
- Knowlton, N 1980. Sexual selection and dimorphism in two demes of a symbiotic, pair-bonding snapping shrimp. *Evolution*, 34: 161-173.
- Mortari, RC; Pralon, BGN & Negreiros-Fransozo, ML 2009. Reproductive biology of

- Palaemon pandaliformis* (Stimpson, 1871) (Crustacea, Decapoda, Caridea) from two estuaries in southeastern Brazil. *Invertebrate Reproduction & Development*, 54: 223-232.
- Nakashima, Y 1987. Reproductive strategies in a partially protandric shrimp, *Athanas kominatoensis* (Decapoda: Alpheidae): Sex change as the best of a bad situation for subordinates. *Journal of Ethology*, 5: 145-159.
- Pralon, BGN & Negreiros-Fransozo, ML 2006. Population biology of *Palaemon northropi* Rankin, 1898 (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) in a tropical South American estuary. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 18(1): 77-87.
- Ra'anan, Z & Sagi, A 1985. Alternative mating strategies in male morphotypes of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *The Biological Bulletin*, 169(3): 592-601.
- Rodrigues, FD 1992. **Crescimento relativo do camarão de água doce *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897) (Decapoda, Palaemonidae), no Ribeirão da Hortelã, Botucatu, São Paulo.** 82p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu. Botucatu-São Paulo, Brasil.
- Terossi, M; López Greco, LS & Mantelatto, FL 2008. *Hippolyte obliquimanus* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae): a gonochoric or hermaphroditic shrimp species? *Marine Biology (Berlin)*, 154: 127-135.
- Thiel, M & Correa, C 2004. Female rock shrimp *Rhynchocinetes typus* mate in rapid succession up a male dominance hierarchy. *Behavior Ecology & Sociobiology*, 57:62–68
- Thiel, M; Solomon, TCC & Dumont, CP 2010. Male morphotypes and mating behavior of the dancing shrimp *Rhynchocinetes brucei* (Decapoda: Caridea) *Journal of Crustacean Biology*, 30(4): 580-588.
- Valenti, WC 1985. Cultivo de Camarões de Água Doce. Editora Nobel, 2 ed., São Paulo, 82p.

## Capítulo II



Descrição do sistema reprodutor do camarão carídeo *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) — Esta espécie é realmente hermafrodita?

## Resumo

Camarões carídeos possuem vários tipos de sistemas sexuais. Embora a maioria das espécies conhecidas seja gonocórica, não é raro encontrar espécies, nas quais ocorre mudança de sexo. Este estudo teve como objetivo efetuar uma análise detalhada das características morfológicas e histológicas do sistema reprodutor feminino, masculino e de indivíduos indiferenciados do carídeo *P. potimirim*, com o propósito de identificar a existência ou não, de hermafroditismo. O sistema reprodutor feminino é uma estrutura par unida, anteriormente, uma a outra na altura do hepatopâncreas. Cada ovário é constituído por dois lobos espessos. O desenvolvimento ovariano foi classificado em três estágios: rudimentar, com ovócitos em pré-vitelogênese; em desenvolvimento, vitelogênese inicial e maduro, final da vitelogênese final, com o ovário ocupando inteiramente a cavidade dorsal do cefalotórax e primeiro terço do abdômen. O ovário apresenta ovogônias formando a zona germinativa e os ovócitos de imaturos a maduros formam a zona de crescimento. O sistema reprodutor masculino é constituído por um par de testículos em “H”, formando uma massa alongada ao eixo ântero-posterior do cefalotórax, quase totalmente unido um ao outro, conectado o vaso deferente dividido em três porções distintas, anterior, média e distal. O testículo é do tipo lobular e, em cada lóbulo, temos células quase no mesmo estágio de maturação. O vaso deferente proximal, com duas porções, anterior e posterior, esta última, contendo uma dobra em direção do lúmen, a tiflossole, agrupamento de células encontrados também na região média e na região distal do vaso deferente. O espermatozoide de *P. potimirim* consiste de um corpo principal em formato obvoide, contendo cinco a seis projeções laterais. Os espermatozoides encontram-se distribuídos de forma agregada, com 2 a 3 células agregadas. Seis dos indivíduos indiferenciados apresentaram ovários imaturos e apenas um apresentou primórdio do testículo. De acordo com os dados morfo-histológicos, *P. potimirim* apresenta um sistema reprodutor gonocórico bem definido, descartando qualquer dos cinco tipos de hermafroditismo descritos na literatura.

Palavras-chave: protândrico, sistema sexual, camarão miúdo, histologia.

## Introdução

Os camarões carídeos possuem vários tipos de sistemas sexuais. Embora a maioria das espécies conhecidas seja gonocórica (têm sexos separados), não é incomum encontrar espécies, nas quais ocorre mudança de sexo (Bauer, 2006). Protandria é comum entre espécies que pertencem a família Hippolytidae (Dohrn, 1950; Noel, 1976; Nakashima; Sukumaran, 1982, 1987; Gherardi & Calloni, 1993; Fielder, 1998; Simões *et al.*, 1998; Bauer & Holt, 1998; Bauer, 2002; Bauer & Newman, 2004; Bauer, 2006; Baeza *et al.*, 2009; Braga *et al.*, 2016; Bortoli & Bauer, 2016; Baeza, 2018) e outras famílias de carídeos, como por exemplo, Pandalidae (Jägersten, 1936; Mistakidis, 1957; Allen, 1959; Butler, 1964; Berreur-Bonnenfant & Charniaux-Cotton, 1965; Hoffman, 1972; Charnov, 1981), Crangonidae (Spitschakoff, 1912; Fréchette *et al.*, 1970; Boddeke *et al.*, 1991).

*Potimirim potimirim* (Müller, 1881), comumente conhecido como “camarão-miudo”, é uma espécie de Atyidae de água doce, geralmente encontrado associado à vegetação subaquática marginal. Existem vários estudos sobre a biologia reprodutiva, ocorrência e filogenia molecular do gênero no Brasil (Lima *et al.*, 2006; Hoffmann & Negreiros-Fransozo, 2010; Torati & Mantelatto, 2012; Rocha *et al.*, 2013; Grilli *et al.*, 2014; Moraes *et al.*, 2017; Machado *et al.*, 2020). No entanto, não existem informações histológicas publicadas sobre o sistema reprodutor desta espécie.

Até o presente, somente uma espécie, *Potimirim mexicana* (De Saussure, 1857), é considerada hermafrodita protândrica na publicação de Alonso-Reyes *et al.* (2010). Em tal estudo, os autores sugeriram que a protandria ocorre para esta espécie com base em distribuições de frequência de tamanho e alguma variação do apêndice masculino. No entanto, sem a evidência das características externas de reversão do sexo, como por

exemplo, o aumento no tamanho de machos ou, a alteração dos caracteres sexuais primários como a mudança de testículo para ovário. Desta maneira, o hermafroditismo não passa de uma suposição efetuada por tais autores.

Recentemente, a hipótese de que existiria um padrão comum de sistema sexual compartilhado para o gênero *Potimirim* e que ambas as espécies relatadas para o Brasil (*P. brasiliiana* Villalobos, 1959. e *P. potimirim*) seriam sequencialmente protândricas foi publicada por Grilli *et al.* (2014). Nesse estudo, a morfologia externa dos caracteres sexuais secundários de machos e fêmeas foram analisadas. Dessa forma, os autores concluem, com base na ausência de qualquer característica morfológica e histológica interna que possa ser interpretada como evidência de mudança de sexo, que tais espécies são gonocóricas. Embora, Grilli *et al.* (2014) mencionem a realização de análises morfológicas externas e internas de caracteres sexuais secundários, nenhuma imagem do sistema reprodutor foi apresentada na referida publicação. Deste modo, verifica-se uma carência de análise mais refinada do ponto de vista morfológico e histológico para os dois sexos de camarões do gênero *Potimirim*, principalmente, para indivíduos indiferenciados.

Este estudo teve como objetivo uma análise detalhada das características morfológicas do sistema sexual do camarão carídeo *P. potimirim*, incluindo a histologia do sistema reprodutor feminino, masculino e indivíduos indiferenciados, com o propósito de evidenciar o gonocorismo para a espécie ocorrente no Brasil.

## Material e Métodos

### Coleta dos espécimes

Os camarões foram coletados no Rio Ribeira de Iguape, município de Iguape, (24°41'11" S; 47°33'47" W) localizado na região sul do Estado de São Paulo. Cada amostragem teve a duração de 40 minutos, nos quais, as coletas foram determinadas acompanhando a curva do rio em locais que havia vegetação marginal. Dois coletores percorreram a extensão de cerca de 5 metros ao longo das margens do rio, passando peneiras (80 cm × 80 × 4 mm abertura) junto à vegetação marginal (Figura 1 A-B). Após as amostragens, os espécimes foram transportados, vivos em caixas térmicas, para o LABCRUST (Laboratório de Biologia e Cultivo de Crustáceos, UNESP Campus de Registro, SP, Brasil), no qual foram mantidos em caixas térmicas contendo água do local de coleta, com aeração constante, até serem transportados para o NEBECC (Núcleo de Estudos de Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos, UNESP Campus de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP, Brasil). Posteriormente, os camarões foram separados por sexo e mensurados, quanto ao comprimento do cefalotórax (CC), utilizando-se microscópio estereoscópico (provido de ocular micrométrica).

Os estágios do desenvolvimento ovariano foram classificados macroscopicamente, através da transparência da carapaça, por meio do volume ocupado ao longo do eixo cefalotorácico-abdominal e por coloração, após dissecação e fixação, com uso de escala Pantone® (Formula guide Solid Coated and Uncoated - GP1401).

## Análises histológicas, histoquímica e microscopia eletrônica de varredura

Fêmeas foram anestesiadas por choque térmico (5 min a  $-20^{\circ}\text{C}$ ), antes da retirada da carapaça na região dorsal do cefalotórax, permitindo, desse modo, a remoção do sistema reprodutor. Machos e indivíduos caracterizados como indiferenciados (sem caracteres sexuais secundários externos - masculino e/ou feminino) foram fixados com cefalotórax inteiro, porém sem abdômen para caracterização morfo-histológica e histoquímica em paraformaldeído 4%, em tampão fosfato 0,2M (pH 7,4) durante 24-48 horas e foram transportadas para o Laboratório de Morfologia de Invertebrados (FCAV, UNESP, Campus Jaboticabal, Jaboticabal, SP, Brasil. Após a fixação, as amostras foram lavadas em tampão fosfato de sódio 0,2M e desidratadas em séries crescentes de álcool de 70 a 90% durante 30 minutos e, ainda, duas sessões de 1 hora cada, em álcool 95%. A seguir, os materiais foram embebidos e incluídos em historesina glicol-metacrilato Leica®, seguindo rotina indicada pelo fabricante. Os cortes seriados ( $5\mu\text{m}$  de espessura) foram obtidos em micrótomo rotativo. Para descrição geral, o material foi corado com hematoxilina e eosina (Junqueira & Junqueira, 1983). Para as análises histoquímicas utilizou-se a técnica de Xylidine ponceau para proteínas (Mello & Vidal, 1980), ácido periódico de Schiff (PAS) e azul de Alcian 2,5% para polissacarídeos neutros e ácidos, respectivamente. As lâminas foram fotografadas e digitalizadas em microscópio de luz (Zeiss®, Axio Image Z2).

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), fixou-se a região ventral do cefalotórax de machos e fêmeas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,08M (pH 7,2) por 24 horas (Paschoal & Zara, 2018). Em seguida, o material foi lavado no mesmo tampão (três vezes de dez minutos). Posteriormente, as amostras foram desidratadas em séries crescentes de etanol (70 a 100%) e completamente secas, em ponto crítico EMS 850, com  $\text{CO}_2$  líquido. Logo após, as amostras foram montadas em suportes

apropriados (stubs) e vaporizadas com ouro no “sputtering” Denton vacuum desk II. O material foi observado e fotografado em Microscópio Eletrônico de Varredura (Zeiss Evo 10), com voltagens variando de 10-20 kV.

## Resultados

### Sistema reprodutor feminino de *Potimirim potimirim*

O ovário de *P. potimirim* é um órgão par, unido anteriormente um ao outro na altura do hepatopâncreas. Cada ovário é constituído por dois lobos espessos, sendo um anterior (cefalotórax) e outro, posterior (abdominal). Ambos são unidos por uma região mediana estreita na margem posterior do cefalotórax, claramente detectados em fêmeas maduras (Figuras 2 A-C). Os ovidutos partem do lobo cefálico e se abrem nos coxopoditos do terceiro par de pereiópodos.

Os estágios de desenvolvimento ovariano em fêmeas adultas de *P. potimirim*, vistos macroscopicamente (Figuras 2 A-C), foram classificados como segue:

1) **rudimentar** (RUD), com ovócitos em pré-vitelogênese (vitelogênese endógena), no qual os ovócitos estão pouco desenvolvidos, apresentam grânulos de vitelos imaturos (são incolores ou branco translúcidos fixado [sem código na escala Pantone®]) e em coloração verde claro (Pantone® 5875-5855 U/U) a fresco.

2) **em desenvolvimento** (ED), vitelogênese inicial (início da vitelogênese exógena), com ovócitos apresentando coloração amarelo pálido fixado (Pantone® 120-122 C/C), ocupando grande parte da cavidade dorsal e cefalotórax com coloração verde (Pantone® 5865-5845 U/U) a fresco.

3) **maduro** (MAD), final da vitelogênese final (fase exógena), coloração alaranjada fixado (Pantone® 123-124 C/C), com o ovário ocupando inteiramente a cavidade dorsal

do cefalotórax e primeiro terço do abdômen, com coloração verde escuro (Pantone® 450-449 U/C) a fresco.

Por meio da histologia, pode-se confirmar que cada ovário possui uma delgada conexão na porção média dos lobos anteriores, na altura do hepatopâncreas, sendo as porções anteriores e posteriores separadas uma da outra. Cada ovário é contínuo, com a região mediana estreita e apresentando lobos posteriores, direito e esquerdo (Figura 3 A). Cada ovário encontra-se envolvido por delgada camada de tecido conjuntivo e no interior, observam-se as zonas das ovogônias formando a zona germinativa e os ovócitos na zona de crescimento (Figuras 3 A-B). O ovário no estágio RUD apresenta a zona germinativa com a presença de ovogônias, as quais estão em diferentes fases da divisão mitótica, caracterizados pela condensação cromossômica (Figuras 3 B-C). As ovogônias estão dispostas em cordão na porção superior (dorsal) e central de cada ovário e tem grande volume nuclear em relação ao citoplasma (Figura 3 C). Próximos às ovogônias encontram-se os ovócitos primários em pré-vitelogênese, fase endógena ou vitelogênese primária, cujos grânulos de vitelo estão imaturos. Estes grânulos formam áreas pequenas, vesiculares e fracamente acidófilas circundadas pelo citoplasma basófilo (Figuras 3 C-D). Os ovócitos pré-vitelogênicos apresentam o citoplasma fortemente basófilo, no qual podem ser vistas algumas poucas gotas de lipídeos como vesículas lúcidas, enquanto o núcleo é menos intensamente marcado, mas basófilo com um ou dois nucléolos evidentes (Figura 3 D). Os ovócitos primários estão envoltos por células foliculares delgadas com grandes núcleos, os quais vão progressivamente circundando os ovócitos, estruturando os folículos ovarianos (Figuras 3 D-E). Percebe-se um incremento em relação ao tamanho dos ovócitos e o número de células foliculares aumenta, com núcleos volumosos arredondados, porém com redução da relação do volume nuclear ao citoplasma à medida que se afastam da zona germinativa (Figuras 3 C-E).

O início do estágio ED é marcado pelo começo da vitelogênese, exógena ou secundária levando ao aparecimento de grânulos de vitelo maduros, eosinófilos, reativos para proteínas e ainda isolados no citoplasma, sendo maiores, em relação ao vitelo endógeno ou imaturo (Figuras 3 F-H). No estágio ED, os ovócitos apresentam mais vesículas lícidas, as gotas de lipídeos, que no estágio anterior (Figuras 3 F-G). Com o desenrolar do estágio ED, o número de grânulos de vitelo maduros aumenta, ao mesmo tempo em que o volume celular cresce acentuadamente (Figuras 4 A-C). Os ovócitos ED continuam envoltos pelas células foliculares e os grânulos de vitelo maduros, os quais parecem sofrer fusão uns com os outros ao microscópio de luz, continuam reativos para proteínas e polissacarídeos neutros, portanto o vitelo é constituído por glicoproteínas (Figuras 4 B-C). Nos ovócitos MAD, os grânulos de vitelo encontram-se com o aspecto lembrando massas fundidas, acidófilo, glicoproteico, sendo os polissacarídeos ácidos ausentes em todos os estágios ovarianos (Figuras 4 D-G). O estágio MAD é caracterizado por muitas gotas de lipídeos e grânulos de glicogênio livres no citoplasma, intensamente marcados (Figura 4 F), aparecimento do delgado córeo glicoproteico e pelas células foliculares delgadas e com núcleos achatados (Figuras 4 D-F). Em fêmeas ovígeras, que recém exteriorizaram os óvulos, pode-se notar vários folículos atrésicos e muitos hemócitos reabsorvendo os ovócitos não ovulados. Além dos espaços deixados pelos ovócitos que foram liberados para o lúmen do ovário, ao mesmo tempo em que células em pré-vitelogenese são observadas, reiniciando o ciclo ovariano (Figura 4 H).

A abertura dos gonóporos femininos é saliente e alongada na coxa do 3o. pereiópodo direito e esquerdo. (Figuras 5 A-C). Os gonópodos são marcados por uma coroa de cerdas longas com base lisa (Figuras 5 C-D), as quais tem ápice plumosos (Figura 5 E). O esterno apresenta-se como uma câmara e é circundada por cerdas plumosas, arborescente inclusive, as quais ocorrem inclusive sobre a margem posterior ventral da carapaça cefalotorácica (Figuras 5 A-F).

## Sistema reprodutor masculino de *Potimirim potimirim*

O sistema reprodutor masculino é constituído por um par de testículos em “H”, formando uma massa alongada ao eixo antero-posterior do cefalotórax, quase totalmente unido um ao outro. Na região posterior, parte o vaso deferente (par), o qual tem uma pequena porção convoluta, a região proximal (PVD) contínua com um tubo reto, descendo ventralmente, formando a região média do vaso deferente (MVD). Em sua porção mais ventral do vaso deferente forma uma dilatação, caracterizando a região distal do vaso deferente (DVD). Esta dilatação da DVD caracteriza a ampola ou duto ejaculatório (Figura 6).

O testículo está localizado entre o hepatopâncreas e o coração. Do ponto de vista histológico, o testículo é do tipo lobular e em cada lóbulo temos células quase no mesmo estágio de maturação, como espermatogônia, espermatócitos primários e secundários (Figuras 7 A-B). No lúmen dos túbulos seminíferos, são observados os espermatozoides maduros livres imerso na secreção basófila do tipo I (Figuras 7 B-D). As espermatogônias estão situadas na periferia dos túbulos e estão associadas a células acessórias (Figura 8 D). São ovais ou redondas, com núcleo central e um ou dois nucléolos evidentes e blocos de heterocromatina. Os espermatócitos primários, são esféricos e são marcados pelas diferentes etapas da prófase meiótica (Figuras 7 B-C). No mesmo lóbulo contendo os espermatócitos secundários, os quais são caracterizados por núcleos menores com cromatina homogeneamente basófila, pode-se encontrar as espermátides iniciais, as quais tem a mesma característica dos espermatócitos, porém com volume nuclear significativamente menor e semelhante ao do espermatozoide (Figura 7 D). Os espermatozoides mostram-se com um espinho e várias expansões radiais, as quais fazem parte da estrutura da vesícula acrossomal, tendo no corpo principal a presença do núcleo (Figuras 7 D-E).

No vaso deferente o PVD é subdivido em porção anterior (PVDa) e porção posterior (PVDp). Para diferencia-los, a PVDa tem um aglomerado de células em uma das faces do vaso, as quais na PVDd tornam-se salientes formando uma dobra, a tiflossole (Figuras 7 E-F). A PVD apresenta um epitélio cúbico simples, núcleos irregulares e revestido por uma delgada camada muscular. Na porção anterior, a futuro tiflossole mostra-se como células altas e mais volumosas em uma só face do tubo (Figura 7 E). Os espermatozoides estão embebidos somente na secreção do tipo I, levemente basófila ocupando quase todo lúmen do PVD, sendo composta por proteínas, (Figuras 7 E-H). O espermatozoide de *P. potimirim* consiste de um corpo principal em formato obovoide, com núcleo volumoso, vesícula acrossomal contendo cinco a seis projeções laterais, o núcleo é fortemente basófilo. Os espermatozoides encontram-se em padrão agregado, com 2 a 3 células juntas principalmente no PDVp (Figuras 7 H-J). No PVDp, a tiflossole assume a forma de dobra em direção ao centro do tubo (Figura 7 G). A secreção do tipo I é reativa para polissacarídeos neutros e proteínas e a secreção do tipo II é fortemente reativa a polissacarídeos neutro e proteínas (Figuras 7 I-J), portanto, são secreções glicoproteicas O vaso deferente foi negativo a polissacarídeos ácidos em todas as regiões (Figura 7 K).

O MVD é mais dilatado que o PVD, com epitélio cúbico simples com células mais alongadas, núcleo mais denso, além de continuar apresentando a tiflossole (Figuras 8 A-B). Neste, observou-se um aumento da massa espermática e espermatozoides. O espermatozoide está imerso na secreção do tipo I, no qual, está envolto por uma camada acelular, a secreção do tipo II, e uma terceira camada adicional, a secreção do tipo III (Figuras 8 A-E). Do ponto de vista histoquímico, a secreção do tipo I é reativa para proteínas e polissacarídeos neutros, tal secreção tem função de manutenção da viabilidade dos espermatozoides durante o processo de armazenamento no vaso deferente, a secreção do tipo II é fortemente reativa para proteínas e polissacarídeos neutros, nos quais tem

função na manutenção da forma e rigidez do cordão espermático do vaso deferente e a secreção do tipo III é reativa para proteínas e fracamente reativa para polissacarídeos neutros, responsável pela adesão do espermatóforo na superfície do esterno da fêmea (Figuras 8 C-D).

O vaso deferente distal (DVD), também, apresenta epitélio cúbico simples e camada muscular espessas, na porção final do ducto ejaculatório há uma região dilatada, a ampola terminal com a tíflossole (Figura 8 E). A secreção do tipo III, apresenta-se volumosa, bem evidente. Do ponto de vista histoquímico, as secreções mantem a mesma característica da região anterior para proteínas, para polissacarídeos neutros a secreção do tipo I é fracamente positiva, a secreção do tipo I é positiva e a secreção do tipo III é fortemente positiva (Figura 8 F-J). A função das de secreções I, II e III foram descritas anteriormente.

A abertura dos gonópodos masculinos é saliente e alongada na coxa do 5 par de pereiópodo (Figuras 9 A-C). Os gonóporos são marcados pela sua abertura ligeiramente saliente, elíptica e com lúmen amplo, contendo poucas cerdas lisas na margem medial da abertura (Figuras 9 C-D). Sobre as margens do lúmen do gonóporo masculino, pode-se notar a presença de espermatozoides, nos quais possivelmente foram parcialmente ejaculados no momento da anestesia e fixação dos espécimes. Por meio da microscopia de varredura, pode-se confirmar a morfologia dos espermatozoides com corpo principal em formato ovoide, com núcleo volumoso, contendo cinco a seis projeções laterais e um espinho na vesícula acrossomal (Figuras 9 E-F).

## Sistema reprodutor de indivíduos indiferenciados

Indivíduos indiferenciados (sem caracteres secundários externos masculino e feminino) apresentaram ovários imaturos, com alguns ovócitos primários em pré-vitelogênese, sendo encontrados na região dorsal sobre o hepatopâncreas (Figura 10 A).

Em diferentes indivíduos, o número de ovócitos primários variou de poucos a muitos, mas todos em pré-vitelogenese (Figuras 10 B-D). Somente um de sete indivíduos analisados apresentou sistema reprodutor masculino rudimentar, sendo encontrado somente o primórdio do testículo em organização. Neste animal, os primórdios do testículo também se encontram na região dorsal sobre o hepatopâncreas e as futuras células testiculares guardam grande semelhança com as células germinativas femininas, porém menores com núcleos em atividade mitótica (espermatogônias), circundados por células acessórias em proliferação (Figuras 10 D-E). Neste indivíduo não foram encontrados os vasos deferentes com característica segura para sua descrição.

## Figuras

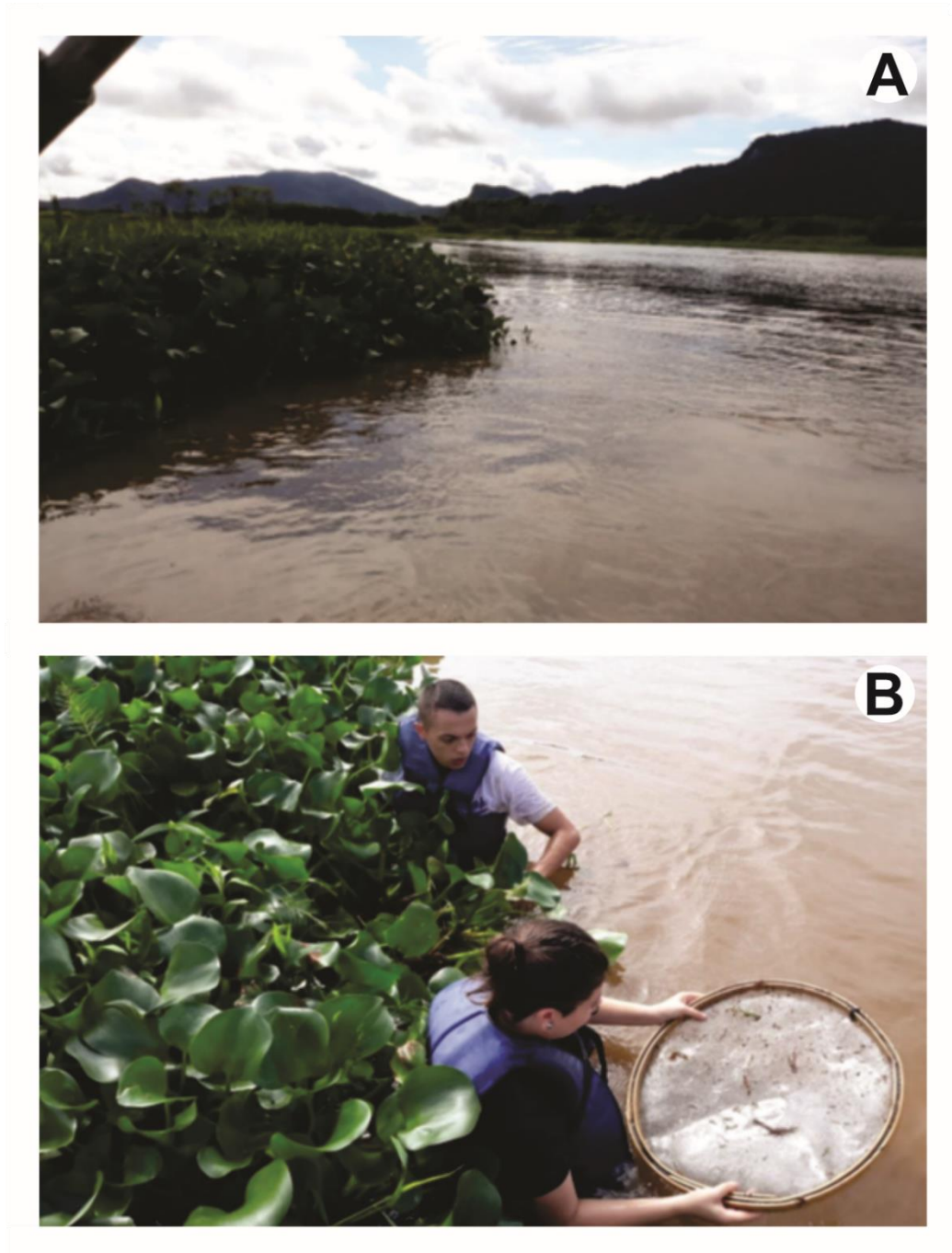


Figura 1. Área de coleta de *Potimirim potimirim* (Müller, 1881). **A.** Área de amostragem do rio no município de Iguape, São Paulo ao longo do rio junto à vegetação marginal; **B.** Amostragem ao longo das margens do rio junto à vegetação marginal por dois coletores.

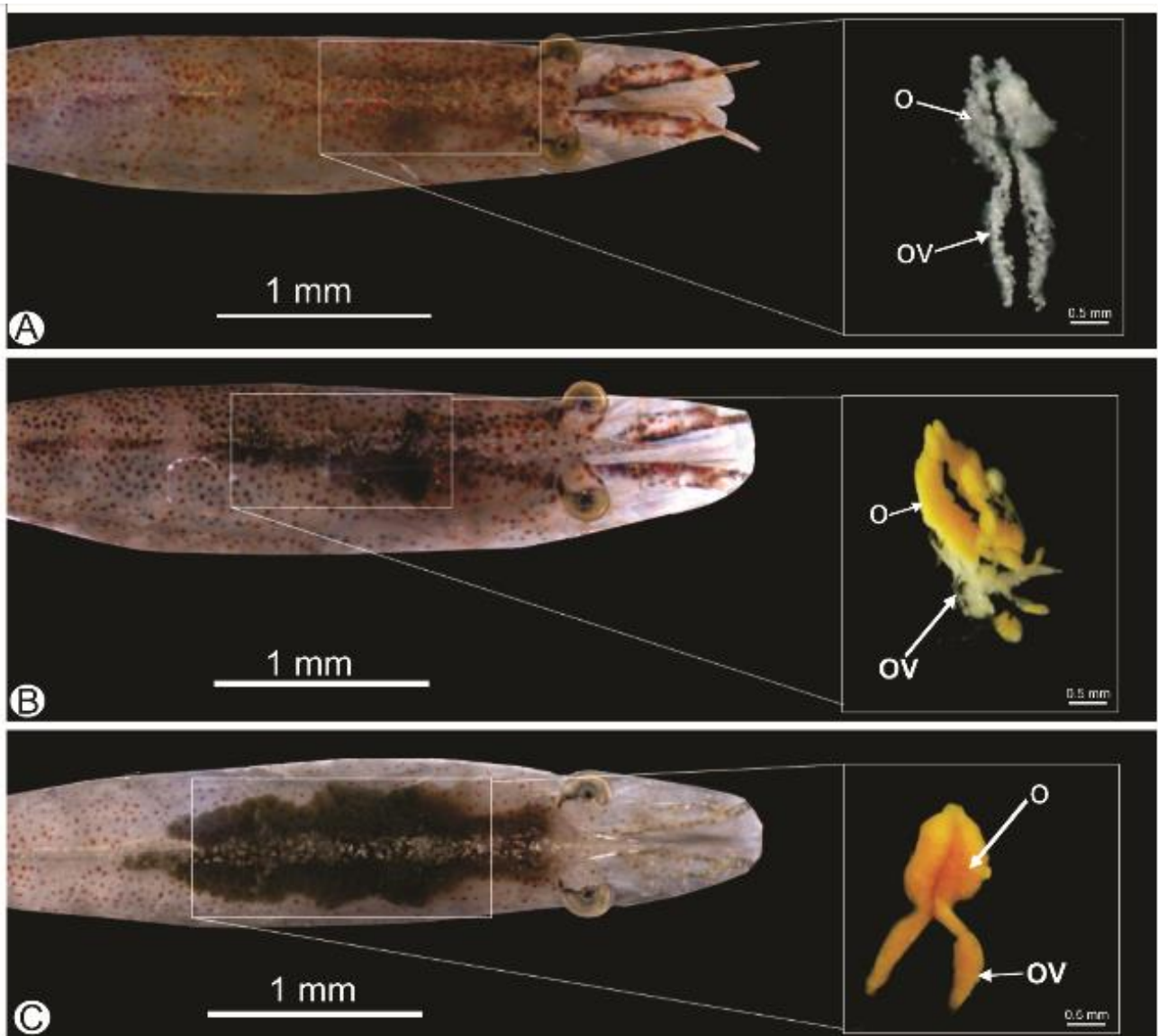


Figura 2. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Morfologia do ovário nos diferentes estágios de desenvolvimento macroscópico em fêmeas adultas. **A.** Ovário no estágio macroscópico rudimentar (RUD), característico da pré-vitelogênese ou vitelogênese endógena com coloração verde claro a fresco e esbranquiçada após a fixação após a fixação do material ovariano; **B.** Estágio ovariano em desenvolvimento (ED) durante a vitelogênese ou vitelogênese exógena devido a presença de coloração verde à fresco e amarelo pálido (Pantone® 120-122 C/C), após a fixação; **C.** Ovário, após fixação, no estágio maduro indicando o final da vitelogênese exógena, com coloração verde escuro à fresco e alaranjado intenso (Pantone® 123-124 C/C) após a fixação; O = ovário; OV = oviduto.

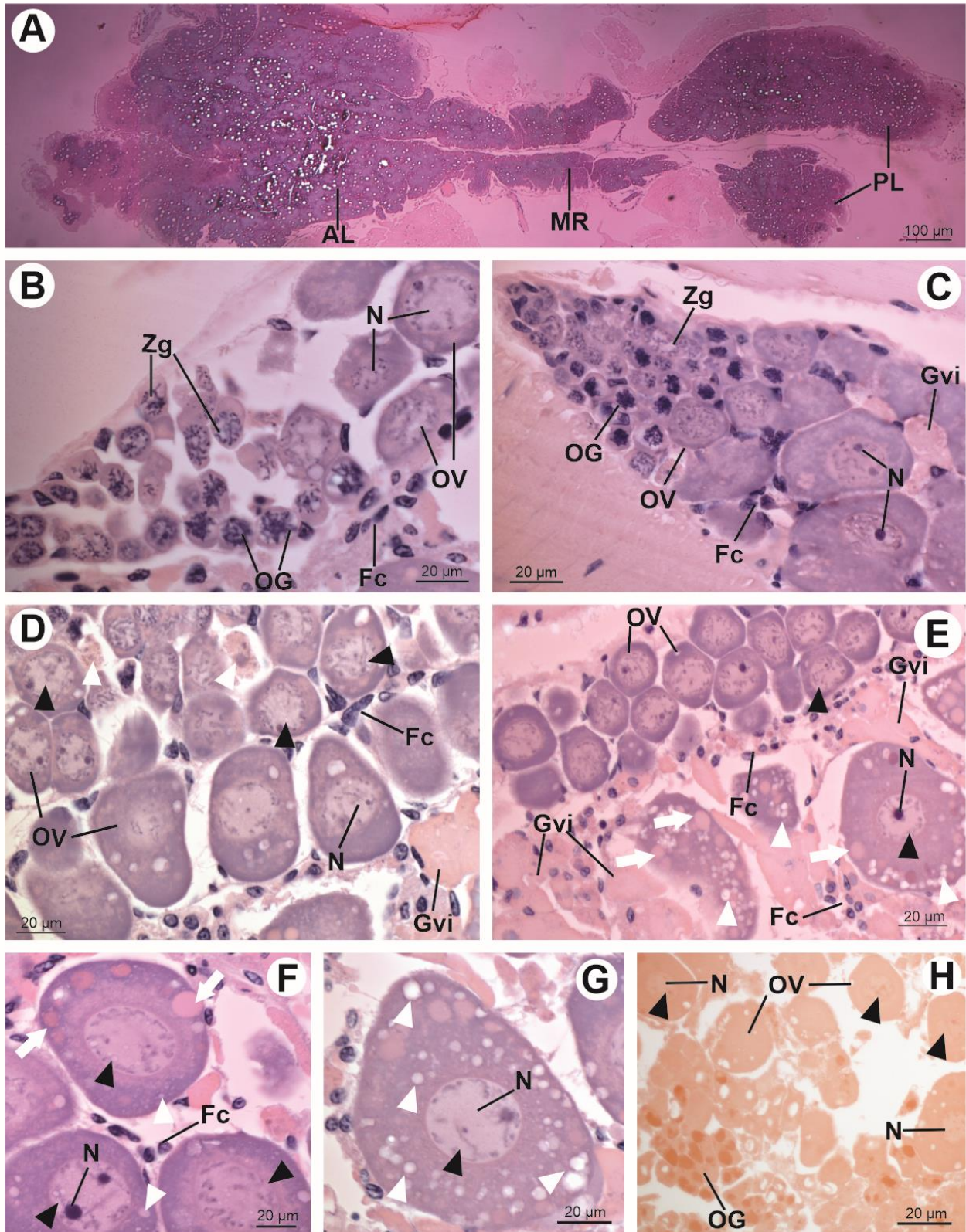


Figura 3. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Sistema reprodutor feminino nos estágios RUD e ED. A. Par de ovários dividindo-se em 2 lobos, anterior (cefálico) e posterior (abdominal), unidos pela região mediana estreita, terminando no lobo posterior; B-C. Ovário no estágio RUD, com a zona germinativa mostrando ovogônias em os cromossomos em diferentes estágios de condensação da divisão mitótica. Na periferia da zona germinativa encontram-se os ovócitos primários em vitelogênese endógena ou pré-

vitelogenese.; D. Ovócitos primários em pré-vitelogenese, com grânulos de vitelo imaturos (endógenos) formando áreas vesiculadas fracamente acidófilas (cabeça de seta branca) por entre o restante do citoplasma fortemente basófilo (cabeça de seta preta). Poucas gotas de lipídeos formam áreas lúcidas desde este estágio. O folículo ovariano no estágio RUD encontra-se em formação devido ao menor número de células foliculares, as quais não circundaram totalmente os ovócitos. E-G. Folículos ovarianos no início do estágio ED, com ovócitos primários apresentando grânulos de vitelo maduros fortemente acidófilos e individuais (cabeça de seta preta), principalmente quando comparado aos grânulos de vitelo imaturos (seta branca) perinucleolares. Nota-se incremento em volume em relação ao tamanho dos ovócitos, o número de gotas de lipídeos (cabeça de seta branca) e células foliculares são maiores, à medida que se afastam da zona germinativa; H. reação para proteínas ao Xylidine pounceau, no qual nota-se que os grânulos de vitelo maduro (cabeça de seta preta) são mais reativos que o restante do citoplasma. AL= lobo anterior; Fc= célula folicular; Gvi=grânulos de vitelo imaturo; ML=mediana estreita; N= núcleo; PL=lobo posterior; OG= ovogônias; OV= ovócitos; Zg= zona germinativa.

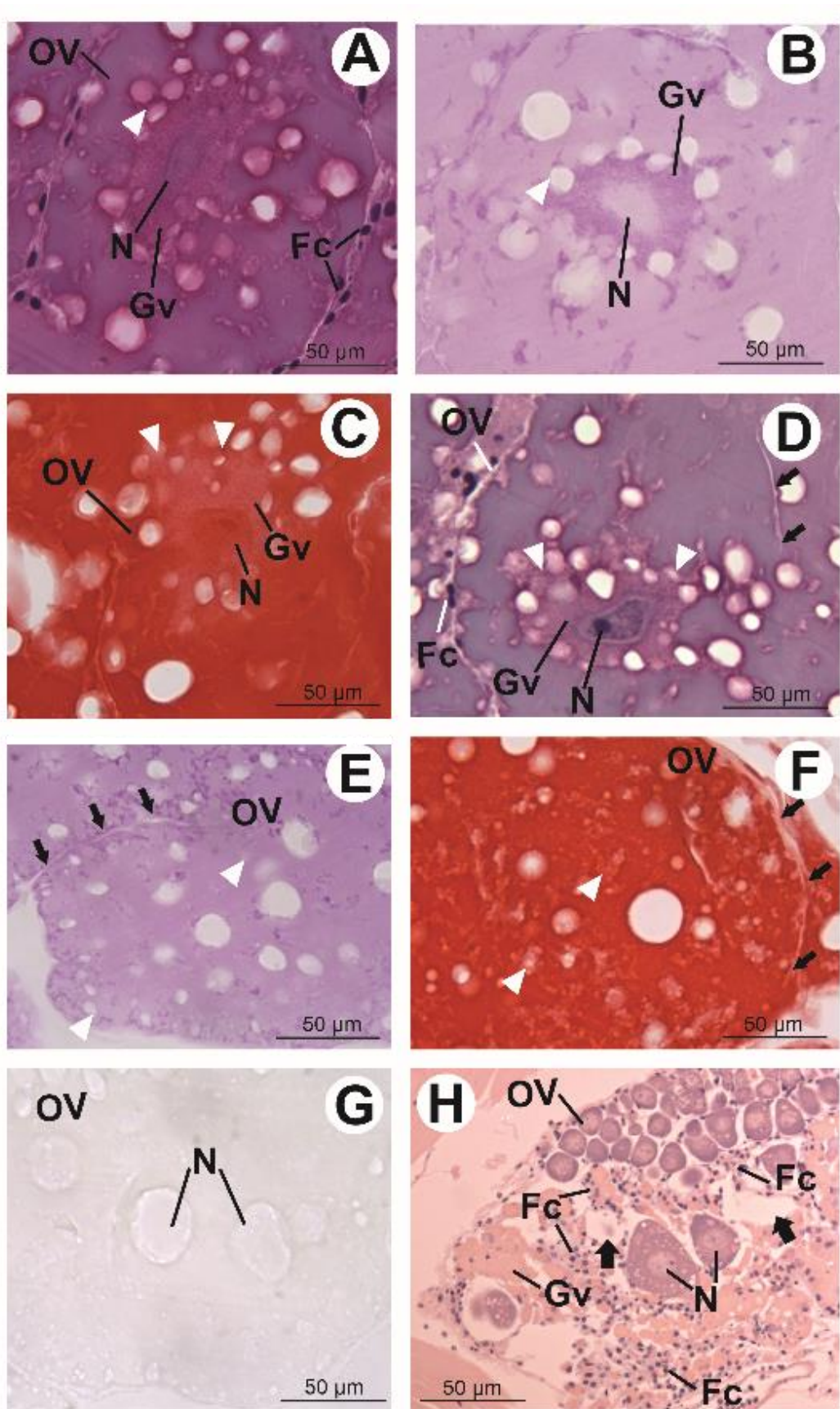


Figura 4. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Sistema reprodutor feminino nos estágios ovarianos ED e MAD. A. Nas fases mais avançadas do estágio ED, os folículos ovarianos são totalmente delimitados por células foliculares homogêneas e achatadas e o ovócito

apresenta maior número de grânulos de vitelo maduros, que parecem sofrer fusão; **B-C**. Ovócitos ED com grânulos de vitelo maduros reativos para polissacarídeos neutros e proteínas ao PAS e Xylidine de ponceau, respectivamente. Em B, pode-se notar várias áreas com grânulos de glicogênio intensamente reativos, principalmente ao redor do núcleo, além do citoplasma reduzido entre os grânulos de vitelo; **D-F**. Folículos ovarianos no estágio MAD, com muitas gotas de lipídeos (cabeça de seta branca) e citoplasma reduzido fundido com grânulos de vitelo maturo e caracterizado pelo aparecimento do delgado córeo glicoproteico (seta preta); **G**. Folículos ovarianos totalmente negativos para polissacarídeos ácidos ao azul de Alcian; **H**. Fêmeas ovígeras com ovos iniciais, apresentando vários folículos atrésicos e muitos hemócitos reabsorvendo os ovócitos não ovulados no interior do ovário. Nota-se que os ovócitos estão rudimentares ou pré-vitelogênese, reiniciando o ciclo ovariano; Fc= célula folicular; Gv= grânulos de vitelo maduros; N= núcleo; OV= ovócitos.

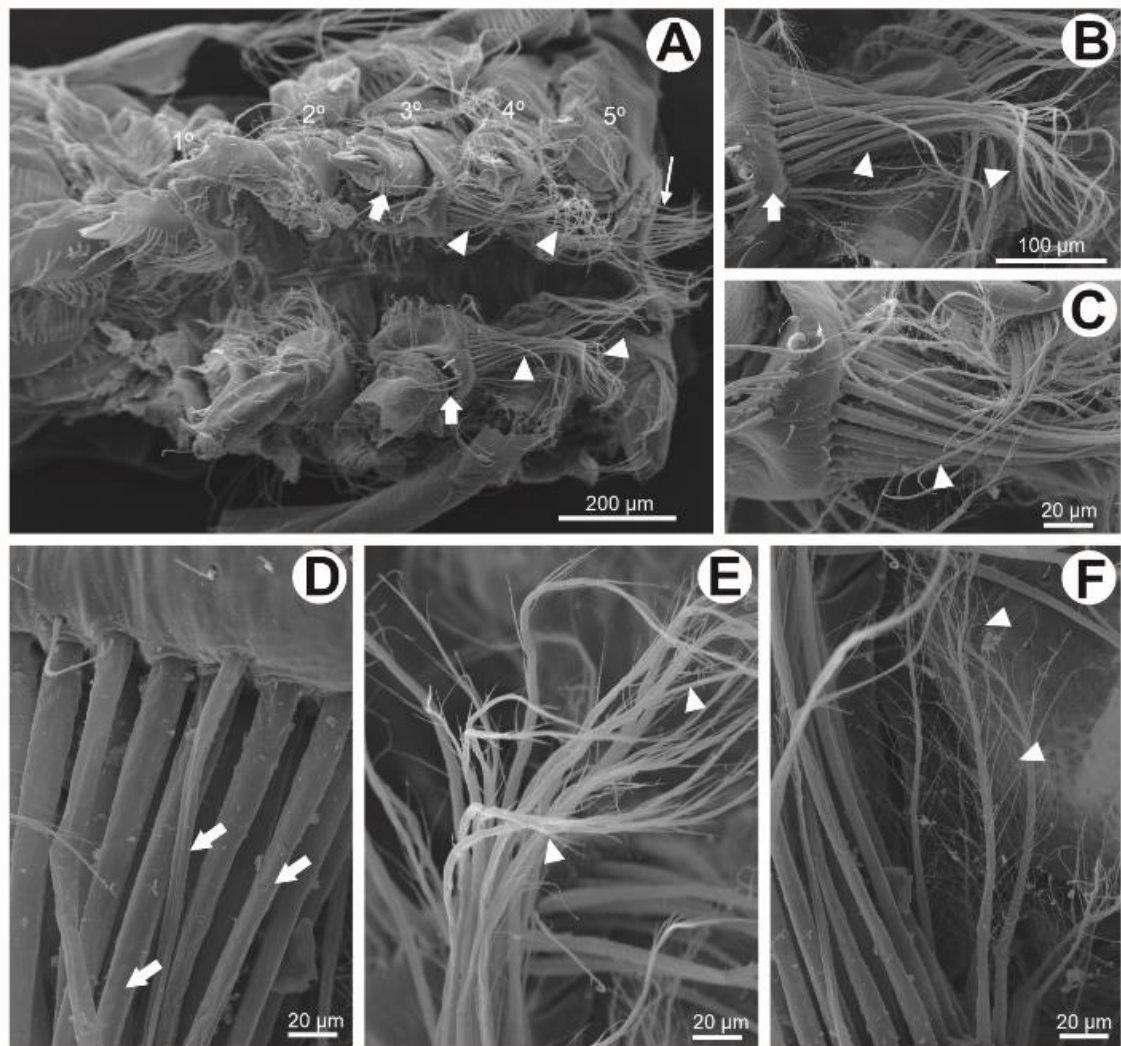


Figura 5. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) – Micrografias eletrônicas de varredura do esterno e gonóporos femininos; **A-C**. O gonóporo é saliente e alongada na coxa do 3 pereiópodo (direto e esquerdo), com vista ventral do esterno circundado por cerdas longas (cabeça de seta branca), as quais ocorrem também sobre a margem posterior ventral do esterno; **D-E**. Detalhe das cerdas plumosas na abertura do gonóporo, as quais possuem base espessa e lisa (seta), sendo o ápice plumosa (cabeça de seta); **F**. Cerdas da margem do esterno as quais mostram a base lisa e mais estreita sendo o ápice arborescente (cabeça de seta).

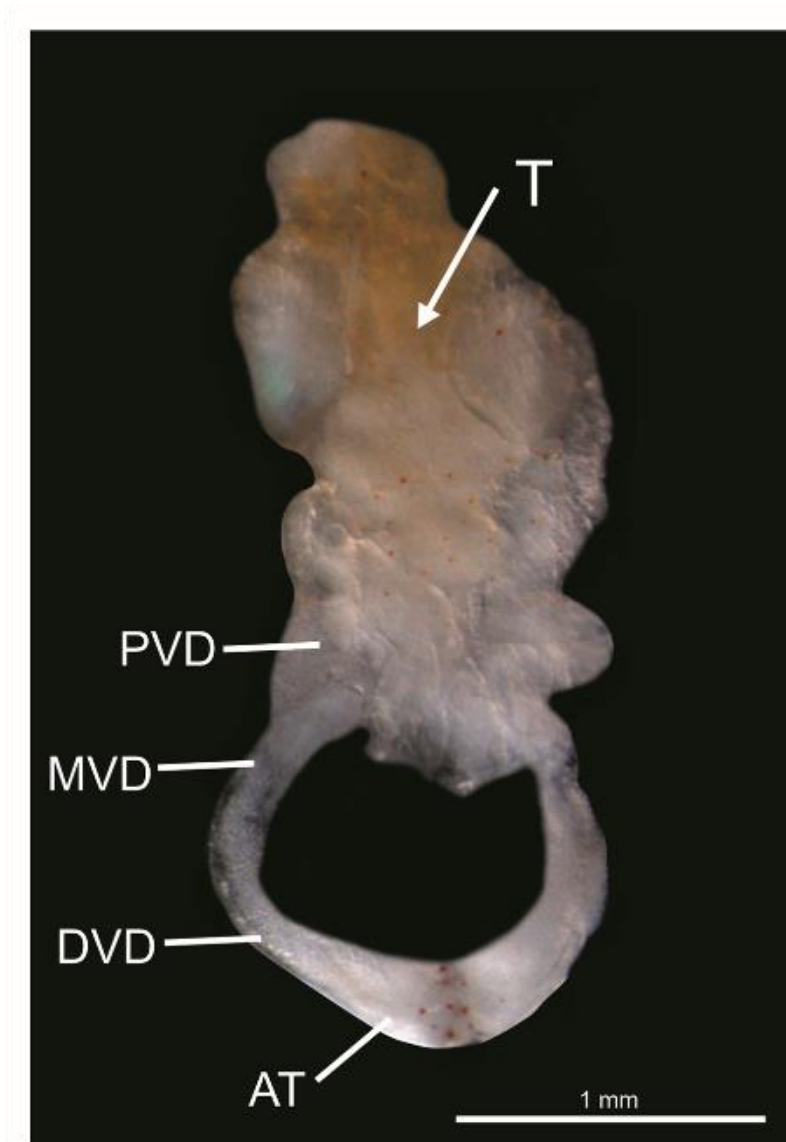


Figura 6. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Sistema reprodutor masculino macroscopicamente. Par de testículos em “H”, formando uma massa alongada ao eixo antero-posterior do cefalotórax, quase totalmente unido um ao outro, com vaso deferente par, dividido em: região proximal contínua com um tubo reto, região média do vaso deferente (MVD), que na sua porção mais ventral forma uma dilatação, caracterizando a região distal do vaso deferente (DVD) e dilatação da DVD caracterizando a ampola terminal ou duto ejaculatório. DVD = região distal do vaso deferente; MVD = região média do vaso deferente; PVD = região proximal do vaso deferente; T= testículo.

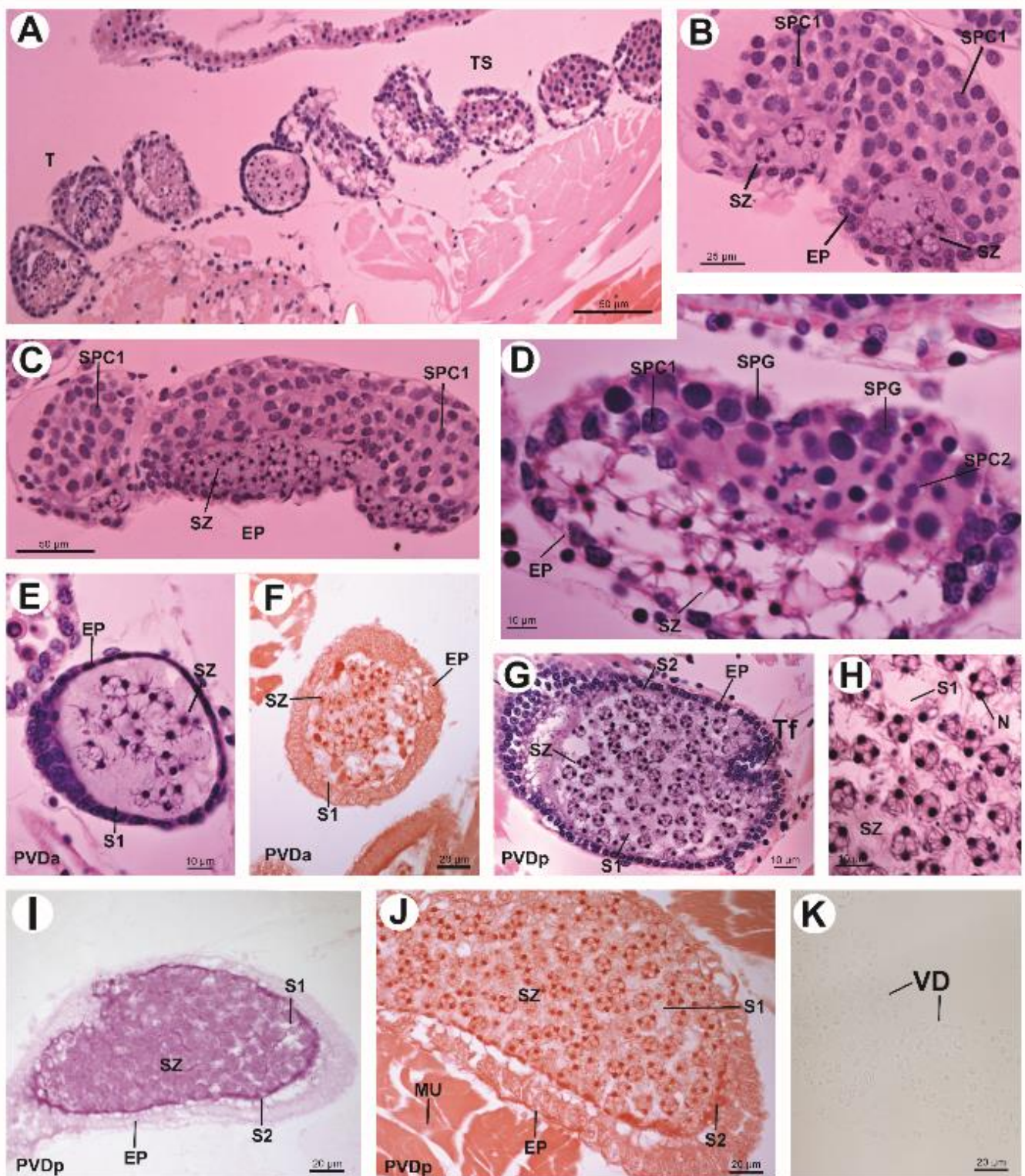


Figura 7. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Sistema reprodutor masculino. **A.** Aspecto geral dos lóbulos testiculares caracterizando o testículo tipo lobular ao H&E; **B-D.** Cada lóbulo delimitado por células acessórias, está preenchido por células germinativas quase no mesmo estágio da espermatogênese, como espermatogônia, espermatócito primário e secundário. No lúmen do túbulo seminífero nota-se os espermatozoides maduros; **E-F.** Porção anterior da região proximal do vaso deferente com células de uma face do vaso agrupadas com núcleos arredondados, a futura tiflossole,

sendo o restante do epitélio pavimentoso. No lúmen notam-se os espermatozoides livres imersos na secreção tipo I, positiva para proteínas ao Xylidine ponceau; **G.** Região proximal do vaso deferente na porção posterior, agrupamento de células em direção do lúmen formado a tiflossole (cabeça de seta branca); **H.** Espermatozoides livres - consiste em um corpo principal em formato obovoide, com núcleo volumoso, vesícula acrossomal contendo cinco a seis projeções laterais e um espinho. O corpo principal é fortemente marcado pelo núcleo arredondado e corado ao H&E; **I-J.** Secreção do tipo I reativa para polissacarídeos neutros ao PAS e proteínas ao Xylidine ponceau, sendo a secreção do tipo II fortemente positiva para ambos compostos; **K.** Todas as regiões do vaso deferente foram negativas para polissacarídeos ácidos ao azul de Alcian; EP= epitélio; MU=musculatura; PVDa= vaso deferente proximal anterior; PVDp= vaso deferente proximal; SPC1= espermatócito primário; SPC2= espermatócito secundário; SPG= espermatogônia; S1= secreção tipo I; S2= secreção tipo II; T=testículo; Tf= tiflossole; TS= tudo seminífero; VD= vaso deferente; SZ= espermatozoide

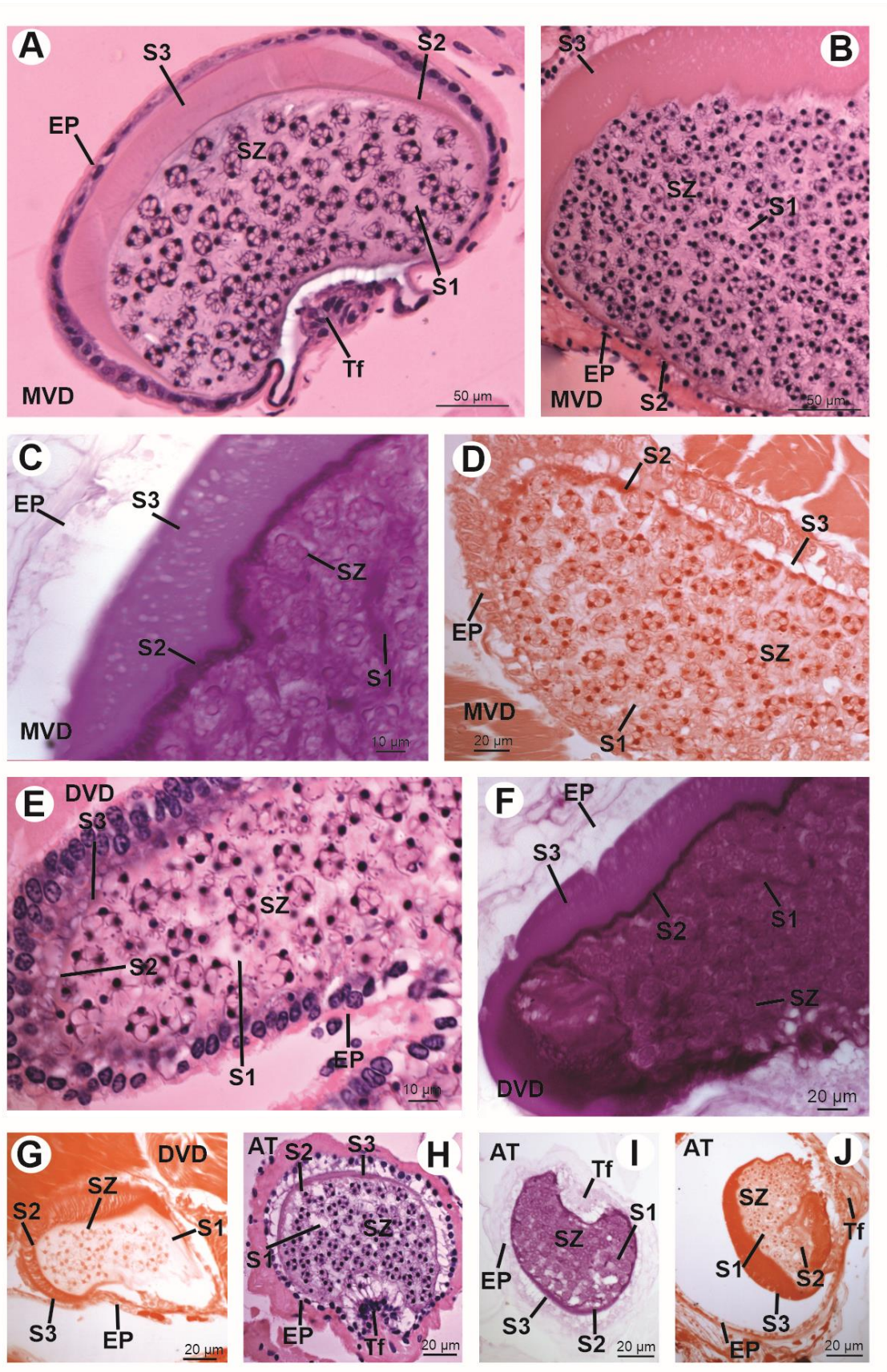


Figura 8. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Sistema reprodutor masculino. **A-B.** Região média do vaso deferente com epitélio variando de cúbico a pavimentoso simples. Em uma das faces do vaso deferente nota-se a presença da tifflosole. uma camada

adicional, secreção do tipo III ocorre sobre as camadas de secreção tipo II e I [H&E]; **C-D.** Secreção do tipo I reativa para polissacarídeos neutros ao PAS e a proteínas ao Xylidine ponceau. A secreção do tipo II fortemente reativa para polissacarídeos neutros e para proteínas. A secreção do tipo III é positiva para polissacarídeos neutros e intensamente reativa para proteínas; **E.** Região distal do vaso deferente e ampola terminal, com epitélio cúbico simples e camada muscular espessas; **F-J.** As secreções tipo I, II e III mantêm a mesma característica da MVD, porém a secreção do tipo III torna-se mais espessa sobre a secreção do tipo II; AT= ampola terminal; EP= epitélio; DVD= vaso deferente distal; MVD= vaso deferente médio; S1= secreção tipo I; S2= secreção tipo II; S3= secreção tipo III; SZ= espermatozoide; Tf= tiflossole.

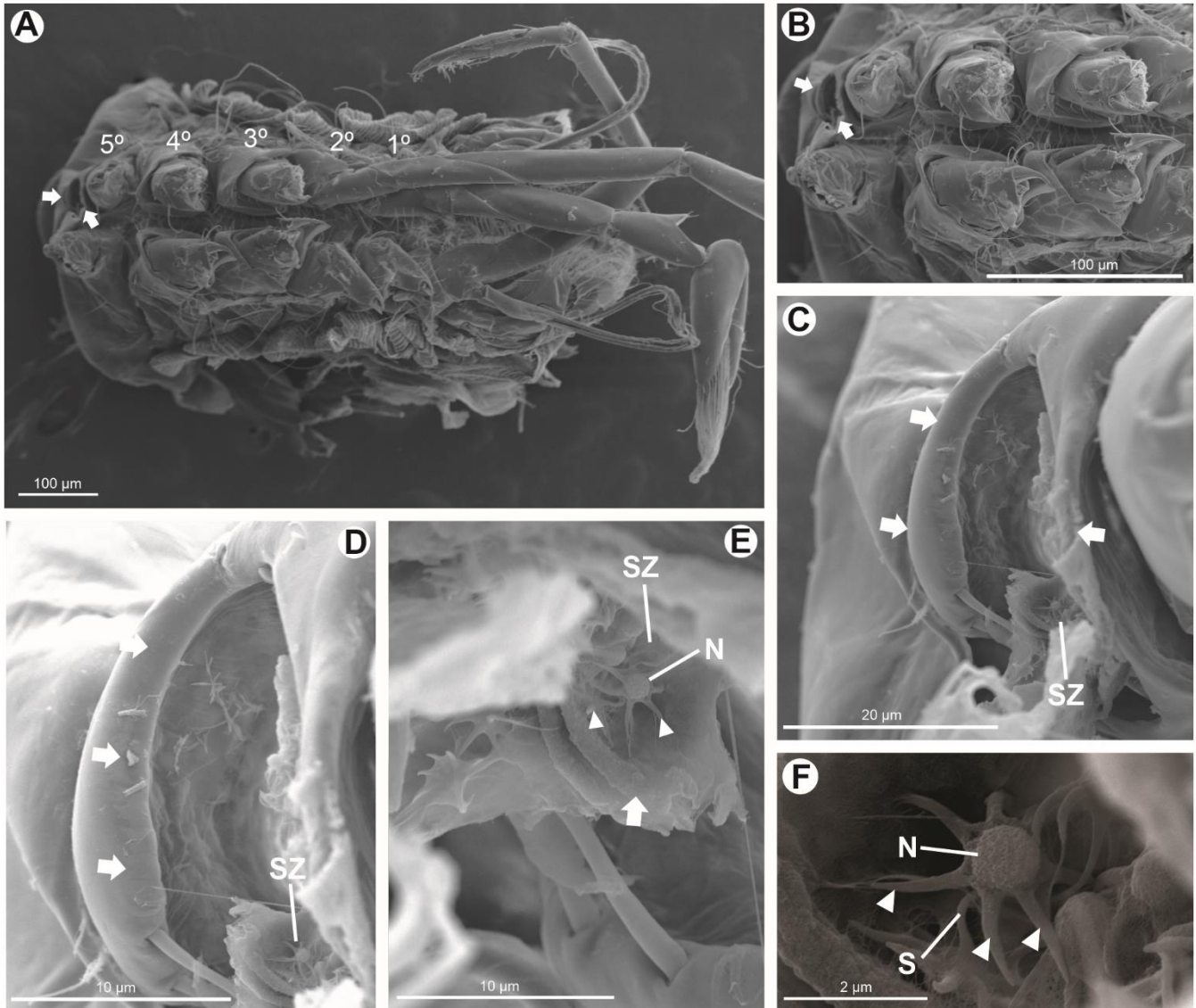


Figura 9. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) - Micrografia eletrônica de varredura da abertura dos gonóporos masculino. **A.** Externo de um macho, onde os números indicam os pares de pereiópodos, seta indica a abertura do gonóporo; **B.** Vista geral da coxa do quinto par de pereiópodos, setas indicando a abertura do gonóporo; **C-D.** Detalhe da abertura do gonóporo ligeiramente saliente, ampla e elíptica na coxa do 5 par de pereiópodos, com as margens arredondadas e espessadas de cutícula (setas); **E-F.** Espermatozoides na abertura do gonóporo, possuem o corpo principal em formato obovoide, com núcleo volumoso, contendo seis expansões (cabeça de seta) e um espinho na expansão lateral da vesícula acrossomal; N=núcleo; S=espinho; SZ=espermatozoide

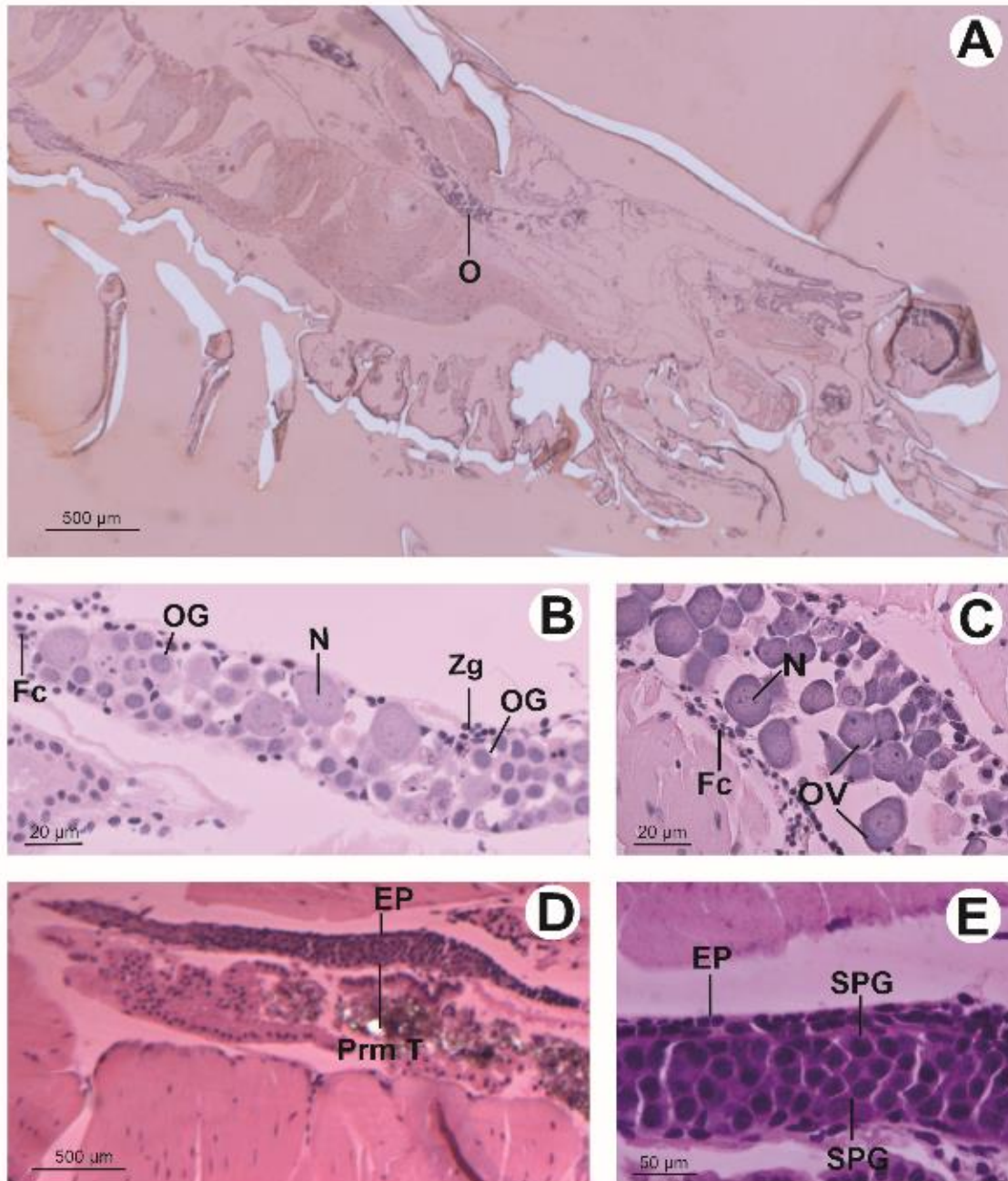


Figura 10. *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) – Sistema reprodutor de indivíduos indiferenciados corados com H&E. **A.** vista geral do ovário imaturo em indivíduos juvenis; **B-D.** Ovôgonias apresentando grandes núcleos dispostos na zona germinativa e ovócitos pré-vitelogênicos. Ovócitos apresentam núcleos contendo blocos de heterocromatina dispersos e um ou dois nucléolos; **D-E.** Primórdios de testículo em indivíduos indiferenciados, mostrando as células acessórias periféricas com as espermatogônias em proliferação, mais centrais, característico das fases iniciais de formação do testículo; EP= epitélio; Fc= células foliculares; N= núcleo; O= ovário; OG= ovogônias; OV= ovócitos; Prm T= primórdio de testículo; SPG= espermatogônias; Zg= zona germinativa.

## DISCUSSÃO

Embora a maioria das espécies de decápodes possua sexos separados (gonocorismo), a inversão de sexo de macho para fêmea (protandria) não é incomum em espécies de carídeos. Estudos anteriores, relatam sobre reversão sexual em carídeos, e outros estudos mostraram que as espécies que, tradicionalmente, foram descritas como hermafroditas protândricas, são consideradas atualmente, como hermafroditas simultâneas (Bauer & Holt, 1998; Bauer, 2000, 2002, 2004; Bauer & Newman, 2004; Cobos *et al.*, 2005, 2011; Terossi *et al.*, 2008; Braga *et al.*, 2009; Baeza *et al.*, 2010; Braga *et al.*, 2016; Baeza, 2018). Na maioria das publicações, a evidência de reversão sexual baseia-se no crescimento relativo do apêndice masculino e na estrutura populacional (tamanho e distribuição sexual) (Alonso-Reyes *et al.*, 2010), apenas alguns estudos são aprofundados em análises histológicas detalhadas do sistema reprodutor (Reverberi, 1950; Hoffman, 1972; Noël, 1976; Sukumaran, 1982; Cobos *et al.*, 2005; Braga *et al.*, 2016; Paschoal & Zara, 2016).

O sistema reprodutor das fêmeas é constituído por um par de ovários (dois lobos espessos, anterior, cefálico e posterior, abdominal), os quais são unidos por uma região mediana estreita na margem posterior do cefalotórax. Tal órgão, pode estender-se da cavidade dorsal do cefalotórax até o primeiro terço do abdômen, dependendo do grau de maturidade sexual, incluindo a mudança de coloração (de incolores ou translúcidos à intensas). Em *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) foram identificados cinco estágios de desenvolvimento (colorimétricos e volumétricos), de iniciais a maduro, não ultrapassando o cefalotórax (Paschoal, 2017). Segundo Cobos *et al.* (2005), que analisaram o sistema reprodutivo feminino do camarão carídeo *Hippolyte inermis* Leach 1815, o ovário ocupava um volume diferente do cefalotórax, podendo estender-se da

região anterior (primeiro segmento abdominal) para região posterior (até dois terços do comprimento cefalotorácico), dependendo do grau de maturação do ovário. Entretanto, estágios de desenvolvimento ovariano não foram apresentados.

A maturação do ovário de *P. potimirim* pode ser separado (ou classificado) em macro e histologicamente, em três estágios: RUD (rudimentar), ED (em desenvolvimento) e MAD (maduro). Nas análises macroscópicas, os três estágios foram identificados por meio da observação do tamanho e coloração do ovário. No estágio RUD, o ovário tem grande número de ovogônias com núcleos volumosos e nucléolos com a presença de ovócitos, sendo estes envoltos por células foliculares. Tal processo é semelhante ao das espécies de Penaeidae Rafinesque, 1815, Palaemonidae Rafinesque, 1815, Atyidae de Haan, 1849 (Campos *et al.*, 2009; Soonklang *et al.*, 2012; Paschoal, 2017; Tomas *et al.*, 2019) e, também, de Majoidea Samouelle, 1819, Portunidae Rafinesque, 1815 e Ocypodidae Rafinesque, 1815 (Lanteigne *et al.*, 1996; Castiglioni *et al.*, 2007; Rotllant *et al.*, 2007; Zara *et al.*, 2013).

O estágio ED é marcado pela vitelogênese exógena ou secundária levando ao aparecimento de grânulos de vitelo maduros e os ovócitos apresentam gotas de lipídeos, em abundância. O estágio MAD trata-se da vitelogênese final (fase exógena), composta pelo aparecimento do córeo delgado e glicoproteico, além das células foliculares delgadas. Os grânulos de vitelo e as gotas de lipídeo serão utilizados como reservas energéticas pelos ovócitos e preencherão quase que totalmente os ovócitos maduros, reduzindo significativamente seu citoplasma (Sarojini *et al.*, 1981; Chang & Shih, 1995; Rotllant *et al.*, 2007; Ravi *et al.*, 2012; Soonklang *et al.*, 2012; Zara *et al.*, 2013; Braga *et al.*, 2016; Molleberg *et al.*, 2017).

De acordo com os testes histoquímicos, ovogônia e ovócitos possuem citoplasma basofílico composto por proteínas, polissacarídeos neutros (glicogênio) e ausência polissacarídeos ácidos em todas as fases do desenvolvimento, como observado em espécies de camarões do gênero *Macrobrachium* (Paschoal, 2017) e em caranguejos da superfamília Majoidea (Lanteigne *et al.*, 1996; Mollemborg *et al.*, 2017). No entanto, em braquiúros estudados anteriormente sob o mesmo aspecto apresentam reação positiva a polissacarídeos ácidos nas fases iniciais do desenvolvimento ovariano (Zara *et al.*, 2013; Shinozaki-Mendes *et al.*, 2012).

A morfologia geral do sistema reprodutor masculino de *P. potimirim* é semelhante à descrita, anteriormente, para outros camarões carídeos como segue: representantes dos gêneros *Macrobrachium* Spence Bate, 1868, *Hippolyte* Leach, 1814, *Palaemon* Weber, 1795 e da família Atyidae de Haan, 1849 (Sandifer & Lynn, 1980; Bauer, 2004; Cobos *et al.*, 2011; Paschoal 2017; Paschoal & Zara, 2017; Tomas *et al.*, 2019; Nogueira, 2019). Contudo, algumas diferenças são observadas, como as descritas para *Macrobrachium rosenbergii* de Man, 1879, cujo testículo está conectado apenas na região anterior do órgão (Chow *et al.*, 1982).

Do ponto de vista histológico, o sistema reprodutor machos de *P. potimirim* pertence ao tipo lobular e em cada lóbulo contendo células quase no mesmo estágio de maturação (espermatogônias, espermatócitos primários e secundários), situados na periferia dos túbulos. Deste modo, este sistema reprodutor é semelhante ao dos camarões carídeos gonocóricos ou hermafroditas, estudados previamente (Chow *et al.*, 1982; Sagi *et al.*, 1988; Braga *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2009; Nunes *et al.*, 2010; Poljaroen *et al.*, 2010; Cobos *et al.*, 2011; Paschoal, 2017; Paschoal & Zara, 2017).

A região proximal do vaso deferente em machos de *P. potimirim* é composta por um epitélio simples com atividade secretoras e pequeno número de espermatozoides. Tal região, é dividida em anterior e posterior, com a presença da tiflossole em uma das regiões para diferencia-las. À medida que o vaso deferente aumenta, passando para região média do vaso até chegar na porção final (DVD), a tiflossole produz maior quantidade de secreção e tal estrutura foi observada em todas as porções do vaso deferente no presente estudo e ausente em uma ou duas das porções do vaso deferente em estudos anteriores realizados com carídeos e palemonídeos (Chow *et al.*, 1982; Sagi *et al.*, 1988; Braga *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2009; Nunes *et al.*, 2010; Poljaroen *et al.*, 2010; Cobos *et al.*, 2011; Paschoal, 2017; Paschoal & Zara, 2017; Tomas *et al.*, 2019).

A região media do vaso deferente (MVD), com o aparecimento da secreção do tipo III, possivelmente pela presença da tiflossole. A quantidade de espermatozoides e secreções tipo I, II e III, aumentam nesta região do vaso e o volume da secreção produzida pode estar associada à deposição do espermatóforo no externo da fêmea. No camarão carídeo *Neocaridina davidi* Bouvier, 1904 a dobra de células (tiflossole) é diagnosticada apenas na porção média do vaso deferente (Tomas *et al.*, 2019) e a secreção do tipo III foi relatada apenas na porção final do vaso deferente.

Na porção final do vaso deferente (DVD), há uma região dilatada, a ampola terminal com a presença da tiflossole, com os espermatozoides concentrados na secreção do tipo I com função de manutenção da viabilidade dos espermatozoides, nos quais está envolto pelas camadas da secreção do tipo II com funcionalidade na manutenção da forma e rigidez da camada espermática e secreção do tipo III, responsável pela adesão do espermatóforo no externo da fêmea durante a cópula. As diferentes secreções possuem papéis distintos, que vão desde a maturação até o momento da cópula e foram relatadas por Tomas *et al.* (2019) com funcionalidade semelhante para o camarão atídeo *N. davidi*.

Ao contrário dos espermatozoides de outros carídeos, os espermatozoides de *P. potimirim* e *N. davidi* estão organizados em um agrupamento de três ou quatro células na secreção do tipo I. Esses pequenos grupos de espermatozoides persistem ao longo do desenvolvimento e parecem ser exclusivos para essa família (Tomas *et al.*, 2019).

Os resultados do presente estudo defendem o reconhecimento do gonocorismo para espécie, indicando a presença de ovários e testículos rudimentares em indivíduos com caracteres morfológicos externos masculino e feminino ausentes, não relatando a existência de ovotestis (gônadas tanto com aspectos testiculares como ovarianos) nos camarões estudados independentemente do seu tamanho, não se enquadrando em nenhum dos cinco tipos de protandria, descritos por Bauer (2000, 2001) e Baeza (2018).

O sistema sexual de machos e fêmeas de *P. potimirim* são semelhantes aos descritos para outros camarões carídeos dióicos. Nos quais, no presente estudo, indivíduos indiferenciados também apresentaram sistema reprodutor gonocórico rudimentar. Estes resultados são comparáveis aos de Grilli *et al.* (2014), que demonstraram que machos e fêmeas eram gonocóricas, porém ainda carecia de uma análise mais refinada da morfologia e histologia, principalmente dos indivíduos indiferenciados, a qual não foi apresentada por estes autores. Embora em carídeos incluam gêneros protândricos, como por exemplo, aqueles pertencentes aos gêneros *Thor* Kingsley, 1878 e *Lysmata* Risso, 1816, os quais foram estudados por Bauer & Van Hoy (1996), Bauer (2000), Baeza *et al.* (2009) e de forma mais inclusa a espécie *Exhippolysmata oplophoroides* (Holthuis, 1948) estudados por Braga *et al.* (2009), Baeza *et al.* (2010) e Braga *et al.* (2016) e Baeza (2018), nos quais, são referência quando o assunto é hermafroditismo protândrico simultâneo. O camarão *P. potimirim* apresenta todas as evidências que são organismos dióicos, independentemente da ausência de caracteres morfológicos secundários como

apresentado em indivíduos indiferenciados, comprovado por meio da histologia, sendo a ferramenta chave para não gerar incógnitas futuras.

## Referências

- Allen JA 1959. On biology of *Pandalus borealis* Kroyer, with reference to a population off the Northumberland coast. *Journal of the Marine Biological Association UK*, 38:189–220.
- Alonso-Reyes, P; Bortolini-Rosales, JL & Álvarez, F 2010. Análisis discriminante aplicado a los grupos sexuales de *Potimirim mexicana*, camarón hermafrodita protándrico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81: 187–192
- Baeza, JA; Schubart, CD; Zillner, P; Fuentes, S & Bauer, RT 2009. Molecular phylogeny of shrimps from the genus *Lysmata* (Caridea: Hippolytidae): the evolutionary origins of protandric simultaneous hermaphroditism and social monogamy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 96: 415– 424.
- Baeza, JA; Braga, AA; López-Greco, LS; Perez, E; Negreiros-Fransozo, ML & Fransozo, A 2010. Population dynamics, sex ratio and size at sex change in a protandric simultaneous hermaphrodite, the spiny shrimp *Exhippolysmata oplophoroide*. *Marine Biology*, 157: 2643–2653.
- Baeza, JA 2018. Sexual systems in shrimps (Infraorder Caridea Dana, 1852), with special reference to the historical origin and adaptive value of protandric simultaneous hermaphroditism. In: Leonard, J.L. (Ed.), *Transitions between sexual systems: understanding the mechanisms of and pathways between, dioecy, hermaphroditism and other sexual systems*. Springer Verlag, Heidelberg (in press).
- Bauer, RT 1986. Sex change and life history pattern in the shrimp *Thor manningi* (Decapoda: Caridea): a novel case of partial protandric hermaphroditism. *Biological Bulletin* 170, 11–31.
- Bauer, RT 2000. Simultaneous hermaphroditism in caridean shrimps: a unique and puzzling sexual system in the Decapoda. *Journal of Crustacean Biology*, 20(2): 116–128.
- Bauer, RT 2001. Hermafroditismo en camarones: el sistema sexual y su relación con atributos socio-ecológicos. *Interciencia*, 26(10): 434–439.

- Bauer, RT 2002. Reproductive ecology of a protandric simultaneous hermaphrodite, the shrimp *Lysmata wurdemanni* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology*, 22(4):742-749.
- Bauer, RT 2004. *Remarkable shrimps. Adaptations and Natural History of the Carideans*. 1st ed. Oklahoma: University of Oklahoma Press, 282 p.
- Bauer, RT 2006. Same sexual system but variable sociobiology: evolution of protandric simultaneous hermaphroditism in *Lysmata* shrimps. *Integrative and Comparative Biology*, 46: 430–438.
- Bauer, RT & Van Hoy, R 1996. Variation in Sexual Systems (Protandry, Gonochorism) and reproductive biology among three Species of the shrimp genus *Thor* (Decapoda: Caridea). *Bulletin of Marine Science*, 59(1): 53-73.
- Bauer, RT & Holt, GJ 1998. Simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae): an undescribed sexual system in the decapod Crustacea. *Marine Biology*, 132: 223–235.
- Bauer, RT & Newman, WA 2004. Protandric simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata californica* (Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology*, 24(1): 131–139.
- Berreur-Bonnenfant J & Charniaux-Cotton H 1965. Hermaphrodisme protérandrique et fonctionnement de la zone germinative chez la crevette *Pandalus borealis* Kröyer. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 90: 240–259.
- Boddeke, R; Bosschieter, JR & Goudswaard, PC 1991. Sex change, mating, and spermtransfer in *Crangon crangon* (L.). In: Bauer RT, Martin JW (eds) *Crustacean sexual biology*. Columbia University Press, New York, pp 164–182.
- Bortolini, JL & Bauer, RT 2016. Persistence of reduced androgenic glands after protandric sex change suggests a basis for simultaneous hermaphroditism in a caridean shrimp. *The Biological Bulletin*, 230(2): 110-9.
- Braga, AA; López-Greco, LS; Santos, DC & Fransozo, A 2009. Morphological evidence for protandric simultaneous hermaphroditism in the caridean *Exhippolysmata oplophoroides*. *Journal of Crustacean Biology*, 29: 34-41.
- Braga, AA; Nunes, ET; López-Greco, LS; Camargo-Mathias; MI & Fransozo, V 2016. Histological and histochemical features of the oogenesis in the simultaneous protandric hermaphrodite shrimp *Exhippolysmata oplophoroides* (Decapoda: Caridea). *Micron*, 88: 60– 67.

- Campos, BR; Dumont, LLC; D’Incao, F & Branco, JO 2009. Ovarian development and length at first maturity of the sea-bob-shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) based on histological analysis. *Nauplius*, 17: 9–12.
- Castiglioni, DS; Negreiros-Fransozo, ML; López Greco, LS; Silveira, AF & Silveira, SO 2007. Gonad development in females of fiddler crab *Uca rapax* (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) using macro and microscopic techniques. *Iheringia, Série Zoologia*, 97: 505–10.
- Chang, CF & Shih, TW 1995. Reproductive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate Reproduction & Development*, 27(1):11-20.
- Charniaux-Cotton, H 1980. Experimental studies of reproduction in Malacostraca Crustaceans. Description of vitellogenesis and its endocrine control. pp. 177–186. *In: Adam TS & Clark WH, eds., Advances in Invertebrates Reproduction*. Elsevier North-Holland, New York.
- Charnov EL 1981. Sex reversal in *Pandalus borealis*: effect of a shrimp fishery? *Marine Biology Letters*, 2:53–57.
- Chow, S; Ogasawara, Y & Taki, Y. 1982. Male reproductive system and fertilization of the palaemonid shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48: 177–183.
- Cobos, VD; Raso, JEG & Manjón-Cabeza ME 2005. Insights on the female reproductive system in *Hippolyte inermis* (Decapoda, Caridea): is this species really hermaphroditic? *Invertebrate Biology*, 124(4): 310–320.
- Cobos, VD; Raso, JEG & Manjón-Cabeza ME 2010. The male reproductive system of *Hippolyte inermis* Leach 1815 (Decapoda, Caridea) *Helgoland Marine Research*, 65: 17–24.
- Duffy, JE & Thiel M 2007. *Evolutionary Ecology of Social and Sexual Systems: Crustaceans as Model Organisms*. Oxford: Oxford University Press.
- Dohrn PFR 1950. Studi sulla *Lysmata seticaudata* Risso (Hippolytidae) Iecondizioni normali della sessualita in natura. *Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli*, 22: 257–272

- Fréchette JG, Corriveau GW & Couture R 1970 Hermaphroditisme protérandrique chez une crevette de la famille des crangonidés, *Argis dentata* Rathbun. *Nat Can*, 97: 805–822.
- Gherardi, F & Calloni, C 1993. Protandrous hermaphroditism in the tropical shrimp *Athanas indicus* (Decapoda: Caridea), a symbiont of sea urchins. *Journal of Crustacean Biology*, 13:675–689.
- Grilli, NM; Terossi, M & Mantelatto, FL 2014. Sexual system of the freshwater shrimps of the genus *Potimirim* Holthuis (Decapoda: Caridea: Atyidae): is there a pattern in this genus? *Marine and Freshwater Research*, 65: 759–765.
- Hoffman, DL 1972. The development of the ovotestes and copulatory organs in a population of protandric shrimp, *Pandalus platyceros* Brandt from Lopez Sound, Washington. *The Biological Bulletin*, 142: 251–270.
- Jägersten G 1936. Über die Geschlechtsverhältnisse und das Wachstum bei *Pandalus*. *Arkiv för Zoologi*, 28: 26.
- Hoffmann, P & Negreiros-Fransozo, ML 2010. Reproductive cycle and fecundity of *Potimirim glabra* (Kingsley, 1954) (Caridea, Atyidae) from a littoral stream. *Inv. Rep. & Development*, 54(3): 133-141.
- Junqueira, LCU & Junqueira LMMS. 1983. *Técnicas Básicas de Citologia e Histologia*. 1ed. São Paulo: Ed. Santos, 123 p.
- Lanteigne, C; Beninger, PG & Gionet, C 1996. Ontogeny of female primary sexual characters in the Majid crabs *Chionoecetes opilio* and *Hyas coarctatus*. *Journal of Crustacean Biology*, 6: 501–14.
- Lima, GV; Silveira, CM & Oshiro, LMY 2006. Estrutura populacional dos camarões simpátricos *Potimirim glabra* e *Potimirim potimirim* (Crustacea, Decapoda, Atyidae) no rio Sahy, Rio de Janeiro, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, 96(1): 81-87.
- Machado, MC; Hoffmann, P; Gonçalves, GRL & Negreiros-Fransozo, ML 2020. Sexual maturity of the small shrimp *Potimirim brasiliiana* Villalobos, 1959 (Crustacea, Atyidae), from the southeastern coast of Brazil. *Journal of Neotropical Biology*, 17(1): 1-14.
- Mello, MLS & Vidal, BC 1980. *Práticas de biologia celular*. 1 ed. Campinas: Funcamp, 71p.
- Mistakidis, MN 1957. The biology of Leach. *Fish and Invertebrates London*, 21(2): 52

- Mollemberg, M; Zara, FJ & Santana, W 2017. Morphology and ultrastructure of the adult ovarian cycle in Mithracidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Majoidea). *Helgoland Marine Research*, 71: 1-14.
- Moraes, AB; Moraes, DCS; Alencar, CERD, Silva, WP & Freire, FAM 2017. First record of *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) (Crustacea, Decapoda, Atyidae) from Rio Grande do Norte, Northeastern Brazil. *Check List*, 13(2): 2060.
- Nakashima, Y 1987 Reproductive strategies in partially protandrous shrimp, *Athanas kominatoensis* (Decapoda: Alpheidae): sex change as the best of a bad situation for subordinates. *Journal of Ethology*, 5:145–159.
- Noël, P 1976. L'évolution des caracteres sexuels chez *Processa edulis* (Risso) (Decapode, Natantia). *Vie et Milieu*. Vol. XXVI (fasc. 1, ser. A): 65–104.
- Nogueira, CS 2019. **Caracterização morfológica e ultraestrutural de *Macrobrachium brasiliense* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) e a discussão sobre a influência nas relações intraespecíficas.** 45p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu. Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Paschoal, LRP 2017. **Biologia e ecologia de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda: Palaemonidae) e sua importância em reservatórios neotropicais.** 308p. Tese de doutorado (Zoologia) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Rio Claro. Rio Claro, São Paulo, Brasil.
- Paschoal, LRP & Zara, FJ 2017. First record of intersexuality in the Amazon River shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Caridea: Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology*, 37(4): 507–511.
- Poljaroen, J; Vanichyiriyakit, R; Tinikul, Y; Phoungpetchara, I; Linthong, V; Weerachatanukul, W & Sobhon, P 2010. Spermatogenesis and distinctive mature sperm in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *Zoologischer Anzeiger - Journal of Comparative Zoology*, 249(2): 81-94.
- Reverberi, G 1950. La situazione sessuale di *Hippolyte viridis* e le condizioni che la reggono. *Bollettino di Zoologia*, 4: 91–94.
- Rocha, SS; Bueno, SLS; Shimizu, RM & Mantelatto, FL 2013. Reproductive biology and population structure of *Potimirim brasiliensis* Villalobos, 1959 (Decapoda, Atyidae) from a littoral fast-flowing stream, Sao Paulo State, Brazil. *Crustaceana*, 86: 67–83.

- Rotllant, G; González-Gurriarán, E; Fernández, L; Benhalima, K & Ribes, E 2007. Ovarian maturation of the multi-spawning spider crab *Maja brachydactyla* (Decapoda: Majidae) with special reference to yolk formation. *Marine Biology*, 152: 383–94.
- Sagi, A; Milner, Y & Cohen, D 1988. Spermatogenesis and sperm storage in the testes of the behaviorally distinctive male morphotypes of *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda, Palaemonidae). *Biological Bulletin*, 174: 330-336.
- Sandifer, PA & Lynn, JW 1980. *Artificial insemination of caridean shrimp*, in: Clark Jr., W.H., Adams, H.S. (Eds.): *Recent Advances in Invertebrate Reproduction*. Elsevier, Amsterdam, pp 271-288.
- Sarojini, R; Mirajkar, MS & Nagabhushanam, R 1981. Histochemistry of the ovary of *Macrobrachium kistnensis*. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Animal Sciences)*, 90(5): 577-583.
- Shinozaki-Mendes, RA; Silva, JRF; Sousa, LP & Hazin, FHV 2012. Histochemical study of the ovarian development of the blue land crab *Cardisoma guanhumi* (Crustacea: Gecarcinidae). *Invertebrate Reproduction & Development*, 56: 191–9.
- Silva, GMF; Ferreira, MAP; Von Ledebur, EICF & Rocha, RM 2009. Gonadal structure analysis of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) from a wild population: a new insight into the morphotype characterization. *Aquaculture Research*, 40: 798–803.
- Soonklang, N; Wanichanon, C; Stewart, MJ; Stewart, P; Meeratana, P; Hanna, PJ & Sobhon, P 2012. Ultrastructure of differentiating oocytes and vitellogenesis in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Microscopy Research and Technique*, 75(10): 1402–1415.
- Spitschakoff TH 1912. *Lysmata seticaudata* Risso, als Beispiel eines echten hermaphroditismus bei den Decapoden. *Z Wiss Zool*, 100: 109–209.
- Sukumaran, KK 1982. On the gonad of the protandric prawn *Hippolytina ensirostris* Kemp. *Indian Journal of Fisheries*, 28: 195–198.
- Terossi, M; López Greco, LS & Mantelatto, FL 2008. *Hippolyte obliquimanus* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae): a gonochoric or hermaphroditic shrimp species? *Marine Biology (Berlin)*, 154: 127-135.
- Tomas, AL; Garcia Bento, MA; Mutti, LD; Zara, FJ & López Greco, LS 2019. New insights in the male anatomy, spermatophore formation, and sperm structure in

Atyidae: the red cherry shrimp *Neocaridina davidi*. *Invertebrate Biology*, 138: 17–28.

Torati, LS & Mantelatto, FL 2012. Ontogenetic and evolutionary change of external morphology of the neotropical shrimp *Potimirim* (Holthuis, 1954) explained by a molecular phylogeny of the genus. *Journal Crustacean Biology*, 32: 625–640.

Zara, FJ; Gaeta, HH; Costa, TM; Toyama, MH & Caetano, FH 2013. The ovarian cycle histochemistry and its relationship with hepatopancreas weight in the blue crab *Callinectes danae* (Crustacea: Portunidae). *Acta Zoologica (Stockholm)*, 94(2): 134-146.

## Considerações finais

Os resultados apresentados contribuem para uma melhor caracterização morfológica, histológica e comportamental do camarão *Potimirim potimirim*, esclarecendo que esta espécie é gonocórica, sendo importante para futuros estudos sobre a biologia comparada entre os representantes da família Atyidae.

Apesar da controvérsia presente na literatura em relação ao sistema sexual, *P. potimirim* trata-se de uma espécie gonocórica. O desenvolvimento ovariano é composto por transformações colorimétricas e volumétricas, com três estágios definidos para fêmeas e o acúmulo progressivo de grânulos de vitelo promove essas transformações. Nos quais, essas fêmeas de pequeno porte possam deslocar mais energia para formação de ovócitos/ovos maiores e para a produção de reservas lipídicas para larvas.

Em machos, os vasos deferentes são divididos em três regiões: proximal, medial e distal. Estas regiões apresentam diferenças histológicas e histoquímicas entre si, principalmente no aumento da espessura do vaso em sentido distal. A produção e concentração do espermatóforo é composta por três secreções de caráter glicolipoprotéico, nos quais, propusemos que cada uma com apresente função específica na maturação, transporte, proteção dos espermatozoides e fixação do espermatóforo no esterno da fêmea. Estes, estão organizados em um agrupamento de três ou quatro células em conjunto, indicando diferentes tipos de estratégia de reprodução.

Apesar do comportamento de acasalamento de *P. potimirim* não seguir um padrão em sua sequência, a cópula apresentou um padrão. A tática de cópula apresentada é a busca pura (“pure searching”), a qual é comum para camarões de pequeno porte, aparentando ser um mecanismo mais eficiente para estes indivíduos do que a guarda de parceiros.

Estudos futuros que avaliem a transferência e a deposição do espermatóforo são viáveis para melhor entendimento do comportamento de acasalamento e sistema reprodutivo em questão. Também estudos futuros relacionados aos espermatozoides dessa família, como por exemplo o padrão de três a quatro espermatozoides agregados.

Acredita-se que avanços foram alcançados contribuindo com informações importantes sobre a biologia básica, pouco descrita para representantes da família Atyidae, salientando a importância do uso de diferentes ferramentas na abordagem desse tipo de problemática.