

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 23/02/2019.

Análise do comportamento reprodutivo, ultraestrutura do sistema reprodutor e viabilidade de cultivo do caranguejo *Stenorhynchus seticornis* (Herbst, 1788) (Decapoda, Majoidea, Inachoididae)

Mariana Antunes

Orientadora: Profa. Dra. Maria Lucia Negreiros Fransozo

Co-orientador: Prof. Dr. Rafael Augusto Gregati

Tese apresentada ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas – Área de Zoologia, do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas – Área de Zoologia.

Botucatu – SP

2017

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

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Silva, Mariana Antunes da.

Análise do comportamento reprodutivo, ultraestrutura do sistema reprodutor e viabilidade de cultivo do caranguejo aranha *Stenorhynchus seticornis* (Brachyura: Inachoididae) / Mariana Antunes da Silva. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Maria Lucia Negreiros Fransozo
Coorientador: Rafael Augusto Gregati
Capes: 20400004

1. Decapode (Crustaceo). 2. Caranguejo - Reprodução.
3. Comportamento sexual dos animais. 4. Espermateca.
5. Cópula.

Palavras-chave: Cópula; Cultivo; Histologia; Receptáculo seminal; Vaso deferente.



NEBECC

**Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia
e Cultivo de Crustáceos**

“Jamais exigirei que você acredite em qualquer coisa, o importante é quanto à evidência é convincente pra você.”

(Neil deGrasse Tyson)

“Se enxerguei mais longe, foi porque me apoiei sobre os ombros de gigantes”.

(Isaac Newton)

DEDICATÓRIA

*À minha querida vó Clarice (in memorian), meu exemplo de força e fé,
que tanto contribuiu para minha formação e que sempre se orgulhou
das minhas conquistas.*

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Maria Lucia Negreiros Fransozo, pela inestimável orientação e pela maneira carinhosa que sempre me tratou durante todos esses anos. Sempre preocupada com o meu bem estar e com o melhor para o meu futuro. Faltam-me palavras para expressar toda minha gratidão.

Ao Prof. Dr. Rafael Augusto Gregati, por me apresentar ao mundo da aquariorfilia e me instigar a essa fascinante linha de pesquisa, por acreditar na minha capacidade para realização deste trabalho e sempre me apoiar em todos os momentos, além da amizade que persiste apesar da distância.

À Prof^a. Dr^a. Laura Suzana López Greco, pela honra de trabalhar ao seu lado, por todos os seus ensinamentos, pelo seu exemplo de competência e profissionalismo, pela hospitalidade carinhosa com que me recebeu em seu laboratório, juntamente com todos os seus alunos. Em especial ao Hernán e sua família que cederam sua casa, na qual fui tão bem acolhida.

Ao Prof. Dr. Fernando José Zara, pela amizade construída, por todas as condições oferecidas, pela paciência com que me ensinou princípios básicos de histologia e microscopia, pelo entusiasmo e conhecimento fundamentais, sem os quais não seria possível redigir grande parte desta tese. Aos amigos integrantes do IML, Tavani, Márcia, Maria Alice, Jean, Guilherme, Fernanda e Camila, sempre prestativos e solícitos, além de tornarem os dias de trabalho muito mais prazerosos.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa de estudo concedida e pelo apoio financeiro mediante os projetos: (CAPES-MINCYT #217/2012) e (CAPES-CIMAR #23038.004309/2014-51), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelos recursos concedidos (CNPq-Universal #481435/2011-5) e (CNPq-Universal #486337/2013-8), a FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo financiamento do material utilizado (Biota #2010/50188-8) e ao NEBECC (Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos), pela infraestrutura dos laboratórios e materiais disponíveis.

Ao ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade) e a Polícia Federal, por concederem a licença para a coleta do material nas áreas estudadas.

Às operadoras de mergulho Omnimare, NDS, Orion Dive e as embarcações Primavera e Ubatuba Adventure dos amigos Passarinho e Daniel, respectivamente, pelo apoio logístico e excelente profissionalismo durante as coletas.

Ao meu amigo, agora Prof. Dr. Eduardo Bolla Jr, por me socorrer em todos os momentos de dúvida e agonia em relação ao cultivo, aquários, esquemas do corel, fotos, análises... Não caberia na tese tudo que você me ensinou!

Aos queridos amigos e excelentes profissionais Douglas e Samara, pela prazerosa parceria no início deste trabalho, que perdurou, apesar da distância, até o fim da redação desta tese, além da indispensável ajuda nas coletas, juntamente com o Daniel, que pacientemente aturava minha demora em abrir saquinhos e minha péssima flutuabilidade.

Às minhas amigas Daniela Pimenta (Valderrama) e Natália Salles (Cidinha) pela hospedagem e por todo apoio durante minha estadia em Jaboticabal.

Aos amigos Jairon C. Moura e Jamile Queiroz pelo empréstimo das câmeras para as filmagens descritas no terceiro capítulo desta tese.

Ao prof. Dr. Antônio Leão Castilho que não mediu esforços em me ajudar diante tantas adversidades climáticas e financeiras que enfrentamos durante a elaboração deste trabalho, juntamente com meus queridos amigos e parceiros de coleta Prof. Dr. Valter J. Cobo, Thiago M. Davanso e Isabela Moraes.

A todos os amigos do Nebecc e “Laborantonio”, em especial ao Raphael (Big hair) e Alexandre (Dino) pelos auxílios com a língua inglesa, as amigas Ges, Milena e Joyce por toda ajuda no cultivo, e pela parceria de todas as horas da amiguinha Isabela (Periquisa).

Ao Prof. Dr. Rogério C. da Costa (Cebola), por todo apoio e amizade e a todos os integrantes do LABCAM, pela amizade, parceria e momentos divertidos nas disciplinas, coletas e congressos. Em especial ao Abner, pela hospedagem sempre divertida na rep. do amor.

Ao Departamento de Zoologia e a Seção de Pós-Graduação em Ciências Biológicas pelo apoio e estrutura disponibilizada, em especial aos seus funcionários: Juliana Ramos, Flávio da Silva, Hamilton A. Rodrigues, Silvio C. Almeida, Hervaldo M. Santos e Davi B.O. Müller por todo o auxílio, competência e profissionalismo.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e a minha família “botucuda” sempre presente e atuante... Aline, Priscila, Jairon, Jamile, Isabela, Nadayca e Bel.

Muito obrigada!

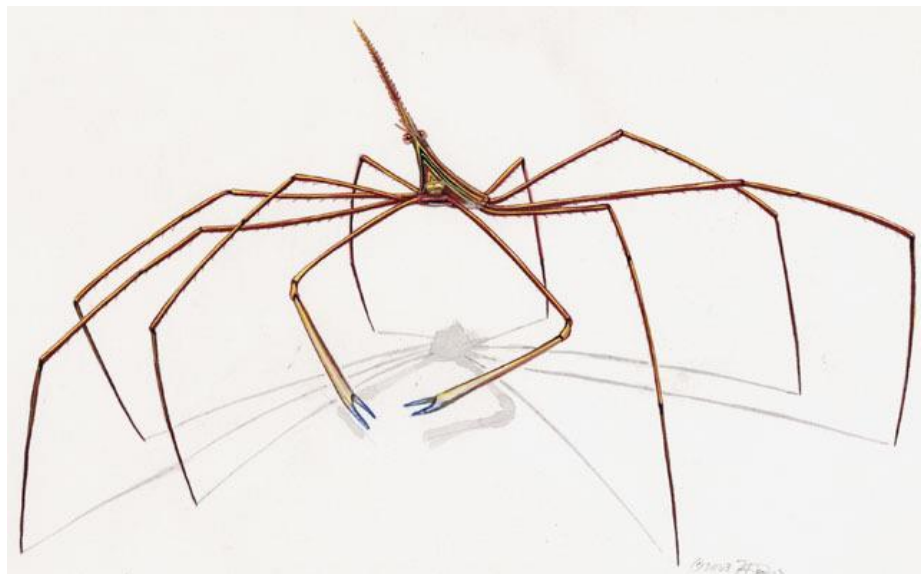
SUMÁRIO

Considerações Iniciais	1
Referências	7
 Capítulo I: Morphological analysis of the females reproductive system of <i>Stenorhynchus seticornis</i> (Brachyura: Inachoididae) and comparisons with other Majoidea (Invertebrate Biology 135(2): 75–86. 2016)	9
 Capítulo II: Morfologia do sistema reprodutor masculino e mecanismos de deiscência dos espermatóforos de <i>Stenorhynchus seticornis</i> (Herbst, 1788) (Decapoda, Majoidea, Inachoididae)	
Resumo	21
Introdução	22
Material e Métodos	24
Resultados	26
Discussão	34
Referências	39
 Capítulo III: Análise do comportamento de cópula do caranguejo ornamental <i>Stenorhynchus seticornis</i> (Herbst, 1788) (Decapoda, Majoidea, Inachoididae) em laboratório	
Resumo	44
Introdução	45
Material e Métodos	48
Resultados	50
Discussão	55
Referências	60

Capítulo IV: Efeitos da temperatura e salinidade na sobrevivência larval do caranguejo ornamental *Stenorhynchus seticornis* (Herbst, 1788) (Decapoda, Majoidea, Inachoididae): em laboratório com manejo de reprodutores e obtenção de larvas em um novo sistema recirculante

Resumo	66
Introdução	67
Material e Métodos	70
Resultados	74
Discussão	82
Referências	87
Considerações Finais	94

CONSIDERAÇÕES INICIAIS



CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os crustáceos estão entre os principais organismos marinhos comercializados com fins ornamentais, juntamente com os peixes e corais. As espécies recebem o status de “ornamentais”, principalmente, por possuírem uma coloração intensa e chamativa, além de apresentarem rusticidade para sua manutenção em aquários. Algumas espécies apresentam características que as tornam alvos ainda maiores de exploração, como hábitos de camuflagem, comportamentos complexos de associação com outras espécies, ou são responsáveis por alguma função específica no aquário. Invertebrados que se alimentam de algas indesejáveis ou de ectoparasitas são exemplos de organismos interessantes na aquariofilia. Tal interesse está concentrado, principalmente, em camarões carídeos, estenopodídeos, nos ermitões e nos caranguejos-aranha (Calado *et al.*, 2003a; 2003b; Gasparini *et al.*, 2005).

Desse modo, com o grande número de espécies exploradas, cujos valores no mercado são elevados, as tentativas em desenvolver técnicas de cultivo têm aumentado para as espécies mais populares. Esses cultivos, além de muito rentáveis e que podem ser desenvolvidos por unidades pequenas de produção, poderiam diminuir o impacto negativo da extração de organismos na natureza. Entretanto, existem ainda vários estrangulamentos para que o cultivo desses organismos possa ser realizado em uma escala comercial, de forma economicamente viável (de modo a competir com o preço dos organismos selvagens obtidos diretamente da natureza). Entre eles, a total dependência da coleta de fêmeas ovígeras selvagens para obtenção de larvas é um desses estrangulamentos, chamados popularmente como “gargalos de garrafa” (Calado *et al.*, 2008).

No entanto, o cultivo dessas espécies, ainda, depende da coleta de fêmeas ovígeras do ambiente natural, utilizadas como reprodutores. Contudo, se os acasalamentos realizados em laboratório e as desovas subsequentes exteriorizadas pelas fêmeas mantidas em cativeiro resultarem em larvas viáveis, haveria a redução do número de progenitores necessários para cultivo. Tal técnica reduziria o custo da atividade e promoveria a preservação desses recursos altamente valorizados, assegurando a sustentabilidade na indústria da aquariofilia (Tlusty, 2002; Penha-Lopes *et al.*, 2006).

O braquiúro *Stenorhynchus seticornis* (Herbst, 1788) (figura 1A), popularmente conhecido como “yellowline arrow crab” nos Estados Unidos e “caranguejo-aranha” no Brasil, foi a espécie utilizada para os registros comportamentais e avaliação da capacidade de reprodução em cativeiro devido, principalmente, à sua grande popularidade no mercado. Esta espécie de caranguejo possui alto interesse no mercado ornamental marinho mundial, ocorrendo com abundância em quase toda a costa brasileira. Além disso, já foi avaliada mediante a possibilidade de cultivo e demonstrou sucesso, com alta densidade de estocagem e altas taxas de sobrevivência e crescimento durante as fases de zoea e megalopa (Calado *et al.*, 2008; Mendes & Valença, 2008; Hernández *et al.*, 2012).

Adicionalmente, *S. seticornis* é muito resistente à vida em aquários, comumente recomendado para *hobistas* iniciantes (Debelius, 1999); não atacam peixes nem outros invertebrados em sistemas fechados e possuem uma coloração exuberante, com faixas amarelas brilhantes sobre um fundo escuro, bem como quelípodos azulados. A espécie tem ampla distribuição mundial, ocorrendo pelo Atlântico Oriental, desde Madeira até Ilhas Canárias e Angola e Atlântico Ocidental, desde a costa dos Estados Unidos (Florida), Golfo do México, Antilhas, Colômbia, Venezuela, Guianas até o Brasil (do Amapá ao Rio Grande do Sul), Uruguai e Argentina (Melo, 1996).



Figura 1 - *Stenorhynchus seticornis* (Herbst, 1788). Popularmente conhecido como “caranguejo aranha” ou “caranguejo seta”, esta é a espécie nativa de caranguejo marinho com interesse ornamental, selecionada para o presente estudo. (<http://www.gettyimages.com/photos/arrowcrab>).

Sistemas sexuais e padrões comportamentais são caracteres filogeneticamente informativos e podem auxiliar no entedimento sobre o agrupamento de espécies em determinadas famílias. Entre os representantes da superfamília Majoidea, os acasalamentos ocorrem, predominantemente, com machos e fêmeas com a carapaça calcificada, divergindo do padrão geral; enquanto a maioria dos caranguejos aquáticos acasala, estando a fêmea em estado de pós-ecdise recente (Jones & Hartnoll, 1997).

Neste contexto, a presente tese intitulada “Análise do comportamento reprodutivo, ultraestrutura do sistema reprodutor e viabilidade de cultivo do caranguejo aranha *Stenorhynchus seticornis* (Brachyura: Inachoididae)” pretende contribuir com informações básicas sobre o comportamento reprodutivo de uma espécie de caranguejos marinhos nativos, com interesse ornamental; além de ampliar o conhecimento a cerca da biologia reprodutiva da mesma espécie, a qual pertencente à superfamília Majoidea.

O primeiro e segundo capítulos visam o estudo detalhado das características morfo-funcionais, incluindo análise macro e microscópia dos sistemas reprodutor feminino e masculino, com o uso de microscopia de luz e eletrônica. Tais descrições possuem o intuito de avaliar a capacidade de estocagem de espermátóforos por fêmeas adultas, mantidas em condição de reprodutoras (tecnicamente chamadas matrizes), verificar a existência de espermátóforos no vaso deferente de machos em tamanho, ainda considerados imaturos e o entendimento dos mecanismos de deiscência dos espermátóforos.

No terceiro capítulo, os esforços foram direcionados à avaliação da capacidade de cópula e a reprodução, em laboratório da espécie em foco, utilizando-se técnicas observacionais para inferir sobre possíveis padrões.

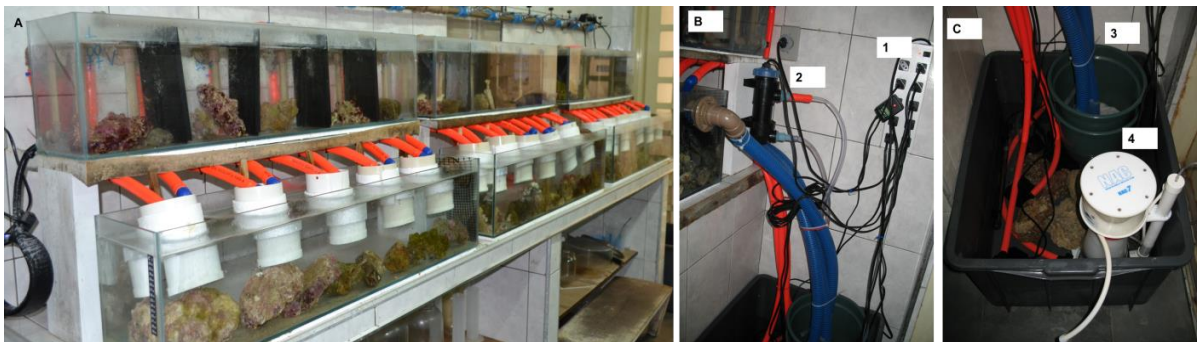
O quarto capítulo descreve e testa um modelo de larvicultura de pequeno porte, com baixo custo e avalia o efeito da combinação dos parâmetros salinidade e temperatura, ideal para aplicação na larvicultura de *S. seticornis* para a costa sudeste do Brasil.

Para a realização deste trabalho estabeleceu-se uma parceria entre dois laboratórios de pesquisa da UNESP: O Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos - NEBECC, com sede principal no Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Campus de Botucatu (SP) e o *Invertebrate Morphology Laboratory* – IML, com sede no Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, com sede em Jaboticabal (SP). As

atividades relacionadas ao terceiro e quarto capítulos foram desenvolvidas no laboratório de cultivo do NEBECC; enquanto que, todos os procedimentos laboratoriais do primeiro e segundo capítulos foram realizados no IML.

Para a fase de larvicultura e de observação do comportamento de cópula, foram utilizados sistemas recirculante diferenciados. As fêmeas coletadas ovígeras na natureza foram mantidas no sistema desenvolvido para captação larval, descrito no quarto capítulo desta tese (Figura 2). Após a eclosão, as larvas foram transferidas para recipientes de vidro com diferentes tratamentos (Figura 3). Enquanto que, os casais selecionados para os acasalamentos foram mantidos no sistema desenvolvido por Bolla Jr. (2014), quando esse autor avaliou os efeitos da acidificação oceânica no desenvolvimento larval do caranguejo intertidal *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781) (Figura 4).

Figura 2 - (A) Sistema recirculante para manutenção de fêmeas ovígeras e captação



larval. (B) e (C) *Sump* de recirculação. 1- quadro elétrico; 2- filtro ultravioleta; 3- filtragem mecânica e biológica, composta por lã acrílica, carvão ativado, e cerâmica, para fixação de bactérias nitrificantes; 4- *Skimmer* de proteínas.

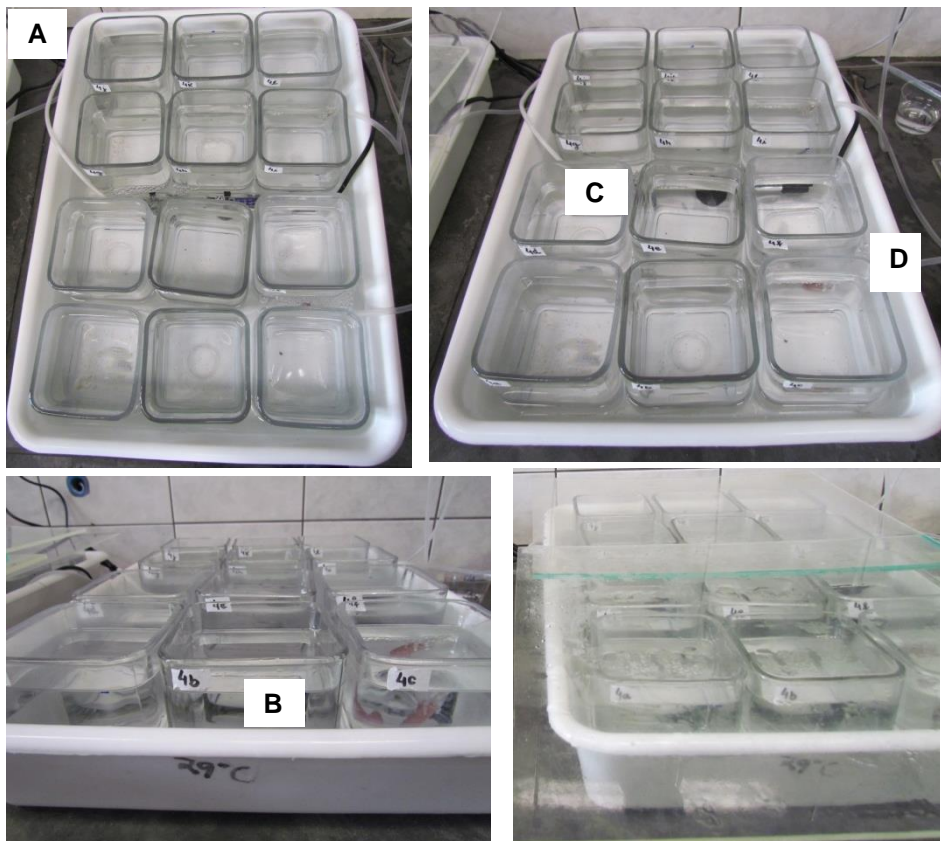


Figura 3 - (A) Sistema para criação de larvas de caranguejos marinhos ornamentais. (B) Recipientes de vidro (500 ml). (C) Aquecedor com termostato. (D) Pedra porosa acoplada em mangueira de silicone para aeração e recirculação da água nas bandejas.



Figura 4 - recirculante
manutenção dos casais selecionados para observação do comportamento de cópula.

Sistema
para

Referências

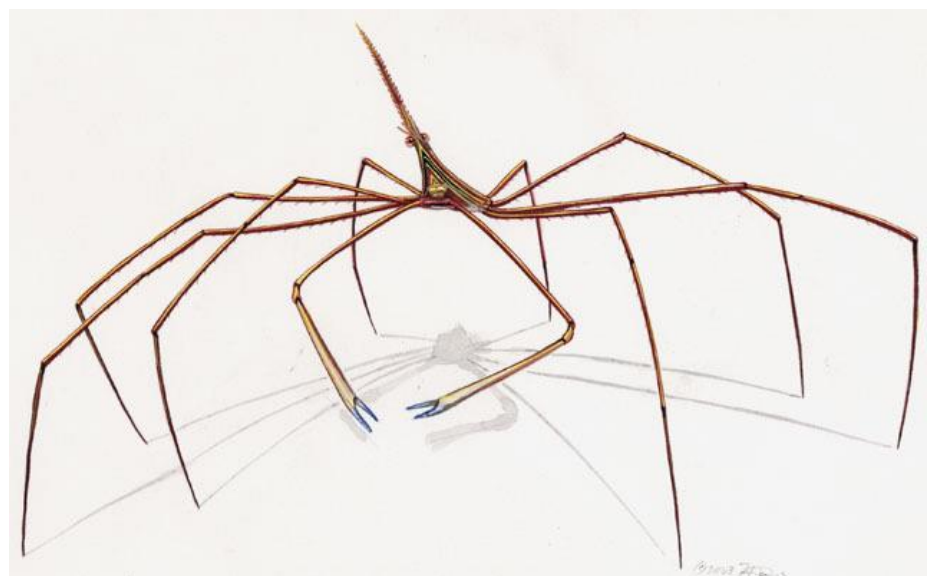
- Bolla Jr., E. A. 2014. Aquecimento global e acidificação oceânica: efeitos da temperatura, salinidade e dióxido de carbono no desenvolvimento larval do caranguejo intertidal *Eriphia gonagra* (Crustacea, Decapoda, Eriphiidae). Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil. 151 p.
- Calado, R.; Lin, J.; Rhyne, A.L.; Araújo, R. & Narciso, L. 2003a. Marine ornamental decapods-popular, pricey, and poorly studied. *Journal of Crustacean Biology*, 23(4): 963-973.
- Calado, R.; Narciso, L.; Araújo, R. & Lin, J. 2003b. Overview of marine ornamental shrimp aquaculture. pp. 221-230 In: Cato, J. C. & Brown, C. L. (Eds.) *Marine Ornamental Species: Collection, Culture & Conservation*. Iowa State Press,
- Calado, R.; Pimentel, T.; Vitorino, A.; Dionísio, G. & Dinis, M. T. 2008. Technical improvements of a rearing system for the culture of decapod crustacean larvae, with emphasis on marine ornamental species. *Aquaculture*, 285: 264-269.
- Debelius, H. 1999. *Guía de crustáceos del mundo: gambas, cangrejos, anfípodos, langostas, gambas mantis*. Grupo Editorial M&G Difusión, 321 p.
- Gasparini, J.L.; Floeter, S.R.; Ferreira, C.E.L. & Sazima, I. 2005. Marine ornamental trade in Brazil. *Biodiversity and Conservation*, 14: 2883-2899.
- Hernández, J.E.; Palazón-Fernández, J.L.; Hernández, G. & Bolaños, J. 2012. The effect of temperature and salinity on the larval development of *Stenorhynchus seticornis* (Brachyura: Inachidae) reared in the laboratory. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 92(3): 505-513.
- Jones D.R. & Hartnoll R.G. 1997. Mate selection and mating behavior in spider crabs. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44: 185-193.
- Melo, G.A.S. 1996. *Manual de Identificação dos Brachyura (Caranguejos e Siris) do Litoral Brasileiro*. São Paulo, Plêiade/FAPESP. 603p.
- Mendes, G. N. & Valença, A. R., 2008. Observações preliminares sobre o desenvolvimento larval do caranguejo aranha *Stenorhynchus seticornis* (Herbst, 1788) (Decapoda: Brachyura: Majidae) em laboratório. *Boletim do Instituto de Pesca*, 34: 325-329.
- Penha-Lopes, G.; Rhyne, A.L.; Lin, J. & Narciso, L. 2006. Effects of temperature, stocking density and diet on the growth and survival of juvenile *Mithraculus*

forceps (A. Milne Edwards) (Decapoda: Brachyura: Majidae). *Aquaculture Research*, 37: 398-408.

Thlusty, M. 2002. The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade. *Aquaculture*, 205: 203-219.

CONSIDERAÇÕES

FINAIS



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando-se em conta que os crustáceos decápodos marinhos possuem papéis insubstituíveis em diversos ecossistemas, como por exemplo, nos recifes de coral, e ainda assim, estão sujeitos à exploração excessiva ou até mesmo à extinção, o cultivo torna-se uma boa alternativa para satisfazer a demanda por estas espécies.

Os resultados inéditos, aqui apresentados, apontam que *S. seticornis* pode ser um bom modelo para estudos de competição espermática. Analisando-se o receptáculo seminal de fêmeas recém-copuladas, verificou-se que o arranjo dos pacotes espermáticos observados nas fêmeas pode ser resultado de estratificação espermática, formada pelas secreções produzidas pela glândula acessória do vaso deferente dos machos. Além disso, o papel dos gonopódios dos machos nos mecanismos de competição espermática deve ser analisado, com maior detalhe, em outros estudos.

Entre as características que favoreceram a realização do presente estudo, podemos citar: a facilidade com que *S. seticornis* acasalou em condições laboratoriais, independente da estação do ano, com todos os indivíduos em período de intermuda; a capacidade do macho em copular mais de uma fêmea e com fêmeas diferentes; as fêmeas ovígeras, oriundas de ambiente natural, exteriorizarem até quatro desovas sem interferência de cópula; além da obtenção constante de larvas viáveis. Estas características constatadas aqui podem contribuir na ampliação dos esforços para o desenvolvimento do cultivo de *S. seticornis*, em cativeiro.

No entanto, algumas questões necessitam, ainda, de ensaios mais aprofundados para serem esclarecidas, tais como: a poliandria e promiscuidade das fêmeas; o padrão de comportamento agonístico exibido pelos machos; a capacidade de cópula de machos,

que ainda não sofreram a muda da puberdade; e a razão do canibalismo exibido em alguns eventos de cópula.

O conhecimento sobre todos esses parâmetros reprodutivos de espécies exploradas é essencial para o desenvolvimento de planos de manejo, seja em ambiente natural ou cativeiro. Neste contexto, os resultados obtidos nesta tese conferem melhor compreensão sobre a estratégia reprodutiva de *S. seticornis*, inclusive do ponto de vista taxonômico, tendo em vista, controvérsias sobre sua posição devido a certas características larvais distintas quando comparadas com outras espécies da mesma subfamília. Ainda, as informações resultantes deste estudo proverão subsídios para o cultivo em escala comercial, contribuindo na redução do impacto sobre a diversidade nativa, seja pelo fornecimento de espécimes produzidos para o mercado da aquarofilia ou sua utilização como fonte para projetos de reintrodução da espécie, em locais no qual possa ocorrer declínio da população, devido à ocorrência de impacto de origem antrópica (resíduos urbanos e/ou industriais).