



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ – UESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

MÁRIO VITOR OLIVEIRA DA SILVA

SISTEMA SEXUAL E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES NO CAMARÃO ESTUARINO
***SALMONEUS CARVACHOI* ANKER, 2007 (CRUSTACEA: DECAPODA:**
ALPHEIDAE)

ILHÉUS – BAHIA
2018

MÁRIO VITOR OLIVEIRA DA SILVA

**SISTEMA SEXUAL E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES NO CAMARÃO ESTUARINO
SALMONEUS CARVACHOI ANKER, 2007 (CRUSTACEA: DECAPODA:
ALPHEIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Zoologia da
Universidade Estadual de Santa Cruz
para a obtenção do título de mestre em
Zoologia.

Área de concentração: Zoologia aplicada

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo Mariano
Lopes

Co-orientador: Alexandre Oliveira de
Almeida

ILHEÚS – BAHIA

2018

MÁRIO VITOR OLIVEIRA DA SILVA

**SISTEMA SEXUAL E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES NO CAMARÃO ESTUARINO
SALMONEUS CARVACHOI ANKER, 2007 (CRUSTACEA: DECAPODA:
ALPHEIDAE)**

Ilhéus, 17/04/2018

Professor Dr. Rodolfo Mariano Lopes da Silva
UESC
(Orientador)

Professor Dr. Alexandre Oliveira Almeida
UFPE
(Co-orientador)

Professor Dr. Fabrício Lopes de Carvalho
UFSB

Professora Dr. Guisla Boehs
UESC

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre ter me guiado em bons caminhos e por ter me proporcionado a oportunidade de realizar mais esta importante etapa da minha vida.

Ao meu pai, Lúcio Mário, pelo cuidado, carinho, incentivo e todo suporte que precisei.

A minha mãe e grande mulher da minha vida, Marineide, por toda a minha formação pessoal, por sua presença em todos os momentos da minha vida, por todo o carinho, amor, cuidado e direcionamento. Palavras não seriam suficientes pra expressar toda a minha gratidão.

A minha avó e segunda mãe, Maria França (em memória), que participou da minha criação estando sempre presente e me proporcionando todo carinho e suporte. Sou eternamente grato.

A minha irmã Letícia, pela união, carinho, troca de experiências, incentivo e por se dispor a me ajudar sempre que precisei.

Aos meus segundos pais, Edson e tia Vitória, que sempre se mostraram presentes, se preocupando e me dando todo apoio, o que contribuiu bastante, não só para que eu alcançasse esse objetivo, mas também para minha formação pessoal.

As minhas primas Suellen e Laise, pelo companheirismo, carinho e apoio.

A todos os demais integrantes da minha família, por terem contribuído de forma direta ou indireta para a minha formação.

Aos meus amigos, pela motivação e presença nos momentos bons e ruins, Eriton, Bruno, Nicola, Betinha, Juliana (em memória), Edirlan e Ronaldinho.

Aos meus tios de consideração, Boca, Maria, Hilda, Arlete, Edésio, Zenaide, e Andreia, pelo acolhimento e motivação.

Ao professor Alexandre, pela orientação, paciência, ensinamentos e acima de tudo, pela sua amizade. Sua contribuição foi importante para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

Ao professor Rodolfo, pelo acolhimento, amizade e por sempre estar disposto a me ajudar no que precisei. A todos os demais integrantes do laboratório de organismos aquáticos, por todo companheirismo.

Aos integrantes do Laboratório Zoologia de Crustáceos da UFPE, Andressa, Guidomar, Patricia, Ana, Renata, Pedro, Fernanda, Rodrigo e Gabriel, pelo carinho, suporte e pelos ótimos momentos de descontração e aprendizagem. Muito mais que colegas, são parceiros de caminhada.

Em especial aos meus grandes amigos Andressa, Guidomar, Patrícia e Ana, sou grato pelo suporte e parceria em todos os momentos, pessoais e profissionais.

Aos integrantes do Laboratório de Carcinologia do Museu de Oceanografia Professor Petrônio Alves Coelho, ao coordenador, Dr. Jessor Fidelis de Souza Filho, Débora, Catarina, Flávio e Ricardo, por me ajudarem em alguns momentos de meu projeto.

Aos meus colegas da turma de zoologia 2016.1, por crescermos juntos ajudando uns aos outros e sempre mantendo o bom senso e humor.

A todos as pessoas legais que tive a oportunidade de conhecer em Recife, em especial à Raquel, por todo o carinho, cuidado, descontração e suporte durante minha estada fora de casa.

A Luiza e “Nego Freeza”, pelo carinho e apoio.

Ao Programa de Pós-Graduação em zoologia e todos os membros.

Ao prof. Dr. Fernando José Zara, do laboratório IML na UNESP de Jaboticabal, pelo suporte nos procedimentos de visualização morfológica, histológica e de microscopia eletrônica de varredura.

Ao prof. Dr. José Roberto Botelho de Souza do Laboratório de Comunidades Marinhas, por me conceder o uso de seu microscópio óptico.

À todos os funcionários da Universidade Federal de Pernambuco.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, pela concessão da bolsa de estudo.

Aos funcionários da UESC.

Enfim, a todos que não mencionei aqui, mas que em determinados momentos também contribuíram durante minha caminhada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 Objetivo geral.....	3
1.2 Objetivos específicos.....	3
2. REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL.....	4
3. CAPÍTULO 1.....	7
3.1 Sistema sexual do camarão <i>Salmones carvachoi</i> Anker, 2007 (Crustacea: Decapoda: Alpheidae): gonocorismo ou hermafroditismo?.....	7
3.1 Resumo.....	7
3.2 Introdução.....	8
3.3 Material e Métodos.....	12
3.4 Resultados.....	16
3.5 Discussão.....	19
3.6 Referências.....	25
3.7 Figuras.....	32
4 ANEXOS.....	40
4.1 Normas para submissão de manuscritos para a revista Journal of Crustacean Biology	40
5. CAPÍTULO 2.....	52
5.1 Fecundity, embryo size and embryo loss in the estuarine shrimp <i>Salmones carvachoi</i> Anker, 2007 (Crustacea: Alpheidae) from a tidal mudflat in northeastern Brazil.....	52
5.2 Resumo.....	52
5.3 Introdução.....	53
5.4 Material e métodos.....	55
5.5 Resultados.....	57
5.6 Discussão.....	58
5.7 Conclusão.....	61
5.8 Agradecimentos.....	61
5.9 Referências.....	62
5.9.1 Tabelas.....	67
5.9.2 Figuras.....	68
6 ANEXOS.....	72

6.1 Normas para submissão de manuscritos para a revista Papéis Avulsos de Zoologia	72
---	----

INTRODUÇÃO GERAL

O hermafroditismo é uma estratégia reprodutiva predominantemente apresentada por plantas e considerada comum em animais (de Jong & KLINKHAMER et al., 2005; GHISELIN, 1969; MUNDAY et al., 2006). De modo geral, a mudança de sexo nesse tipo de sistema sexual ocorre de forma direcional, ou seja, de um sexo inicial masculino para feminino (protandria) ou de um sexo inicial feminino para o masculino (protoginia) (WARNER, 1975). Um outro modo, considerado mais raro, é a mudança de sexo bidirecional. Nessa modalidade um indivíduo pode mudar de sexo mais de uma vez ao longo de sua vida (MUNDAY, 1998; NAKASHIMA et al., 1995). De acordo com GHISELIN (1969), o hermafroditismo é previsto para ocorrer em espécies que se reproduzem mais eficientemente em um dos dois sexos quando ainda são menores e aumentam sua eficiência reprodutiva ao mudarem para outro sexo, à medida que crescem e envelhecem (GHISELIN, 1969).

Nos crustáceos, o hermafroditismo do tipo protândrico é mais comum, sendo registrado nas classes Cirripedia, Copepoda e em Malacostraca ocorre em nove famílias de Decapoda, duas de Amphipoda e quatro de Isopoda (BROOK et al., 1994). Já a protoginia tem sido registrada apenas em Malacostraca, nas ordens Tanaidacea e Isopoda (BROOK et al., 1994). Dentro da ordem Decapoda, a infraordem Caridea é reconhecida por apresentar uma grande diversidade de sistemas sexuais (BAUER, 2000), onde a protandria apresenta variações (CORREA & THIEL, 2003). De acordo com BROOK et al. (1994), as duas modalidades de hermafroditismo no filo Crustacea possivelmente se originaram em vários momentos e de forma independente.

Entre os carídeos da família Alpheidae, *Salmones* Holthuis, 1955 é considerado o terceiro maior gênero, com mais de 50 espécies distribuídas desde o sul do Mediterrâneo até latitudes tropicais (ANKER, 2011a; ANKER, 2012; ANKER & LAZARUS, 2015; DE GRAVE & FRANSEN, 2011; DURIS & HORKÁ, 2016; KOMAI et al., 2015; KOMAI & ANKER et al., 2014). Os estudos relacionados a essas espécies, com exceção de *S. carvachoi*, resumem-se à aspectos taxonômicos e breves informações ecológicas de seus habitats. Apesar da escassez de estudos, o gênero destaca-se como um dos mais ricos em espécies (ANKER, 2007, 2010), ocupando o terceiro lugar dentro da família Alpheidae, depois de *Alpheus* Fabricius, 1798 e *Synalpheus* Spence Bate, 1888 (ANKER, 2007). A dificuldade de realização de estudos e escassez de informações biológicas e ecológicas, dentre outras, deve-se

principalmente ao fato destas espécies apresentarem hábito críptico, coloração pouco notável, tamanho geralmente inferior a 15 mm de comprimento total (com registros de algumas espécies cujos adultos são menores que 10 mm) e habitarem ambientes de difícil acesso, como substrato coberto por rochas, cascalho de coral e tocas escavadas por outros crustáceos (ANKER, 2007, 2010; DE GRAVE, 2004).

Impossibilidade de identificação do sexo em representantes de *Salmaneus* têm sido relatada em vários trabalhos, tendo como justificativa a observação de um *appendix masculina* bem desenvolvido no segundo par de pleópodos de todos os espécimes analisados (incluindo os ovígeros) (ANKER & MARIN, 2006; ANKER, 2007, 2010, 2011a, b; CARVACHO, 1989; CHRISTOFFERSEN, 1982; HOLTHUIS, 1990; FRANSEN, 1991). Este apêndice é um caráter sexual secundário comumente utilizado para o reconhecimento do sexo em camarões carídeos, sendo sua presença restrita aos indivíduos do sexo masculino (BAUER, 2004; CARVACHO, 1989). Tal peculiaridade tem levado alguns autores a sugerirem que esse traço pode indicar algum tipo de hermafroditismo (CARVACHO, 1989; ANKER, 2011b, OLIVEIRA et al., 2015).

Para a elucidação dessa problemática, torna-se extremamente importante a realização de um estudo sobre o sistema sexual desses representantes. No capítulo 1, os caracteres sexuais primários e secundários de *Salmaneus carvalhoi* Anker, 2007 foram estudados com o intuito de testar a hipótese de hermafroditismo (Oliveira et al., 2015).

Além da ampla diversidade de sistemas sexuais apresentada pelos camarões carídeos, uma variedade de estratégias reprodutivas também é reportada (HARTNOLL, 1985). Parâmetros como fecundidade, volume embrionário e investimento reprodutivo são os principais aspectos reprodutivos estudados para inferir sobre a estratégia adotada pelos representantes desse grupo (ANGER & MOREIRA, 1998; COREY & REID, 1991; HATTORI & PINHEIRO, 2003). Tais estratégias variam tanto em nível interespecífico quanto a intraespecífico e podem ser fortemente influenciadas por fatores ambientais e genéticos (ANGER & MOREIRA, 1998; SASTRY, 1983).

Nos camarões carídeos, um padrão reprodutivo comumente observado é o aumento da fecundidade (potencial reprodutivo) atrelada ao aumento do tamanho da fêmea (comprimento da carapaça) (ANGER & MOREIRA, 1998; BALASUNDARAM & PANDIAN, 1982; BAUER, 1991) e perda de embriões, decorrente do aumento do volume embrionário ao longo desenvolvimento (ANGER & MOREIRA, 1998; BALASUNDARAM & PANDIAN, 1982; COREY & REID, 1991). Na família Alpheidae, esse padrão tem sido relatado na maioria das espécies de *Alpheus* Fabricius,

1798, *Betaeus* Dana, 1852 e *Synalpheus* Spence Bate, 1888 (BALASUNDARAM & PANDIAN, 1982; COREY & REID, 1991; ANGER & MOREIRA, 1998).

No capítulo 2, a produção de embriões em *S. carvachoi* foi estudada com o intuito de saber se o mesmo padrão relatado na infraordem (correlação positiva entre fecundidade e tamanho da fêmea, aumento do volume embrionário e perda de embriões ao longo desenvolvimento) também ocorre nessa espécie. Em adição, foi investigado se a fecundidade pode apresentar relação com o tamanho de outras estruturas, além do comprimento de carapaça, como por exemplo, a largura do segundo somito abdominal, e largura e altura da pleura do segundo somito abdominal. Essa é a primeira espécie do gênero a ser estudada quanto ao sistema sexual e produção de embriões.

OBJETIVO GERAL

Testar a hipótese de hermafroditismo e investigar se *Salmones carvachoi* Anker, 2007 apresenta o mesmo tipo de estratégia reprodutiva, como os da maioria dos representantes de Caridea.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a morfologia dos caracteres sexuais primários, como gônadas e dutos genitais;
- Estudar a morfologia dos caracteres sexuais secundários como gonóporos, e *appendix masculina*;
- Buscar outros caracteres externos que possam auxiliar no reconhecimento das formas sexuais (e.g., comprimento da carapaça, morfologia do *appendix masculina* e dos dois primeiros pares de pleópodos).
- Verificar se existe relação entre comprimento da carapaça vs fecundidade, largura e altura da pleura do segundo somito abdominal vs fecundidade e largura do segundo somito abdominal vs fecundidade;
- Comparar o volume médio e número de embriões entre os estágios de desenvolvimento embrionário.

REFERÊNCIAS

- ANGER, K. & MOREIRA, G.S. Morphometric and reproductive traits of tropical caridean shrimps. **Journal of Crustacean Biology**, v. 18, p. 823-838, 1998.
- ANKER, A. New species and records of alpheid shrimps, genera *Salmones* Holthuis and *Parabetaeus* Coutie`re, from the tropical western Atlantic (Decapoda, Caridea). **Zootaxa**, v. 1653, p. 21-39. 2007.
- _____. The shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Crustacea, Decapoda, Alpheididae) in the tropical western Atlantic, with description of five new species. **Zootaxa**, v. 2372, p. 177–205. 2010.
- _____. Three new species of the alpheid shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Crustacea, Decapoda) from the tropical western Pacific. **Zootaxa**, v. 2839, p. 67-84. 2011a.
- _____. Two new species of *Salmones* Holthuis, 1955 with a deep dorsal depression on the carapace (Crustacea, Decapoda, Alpheididae). **Zootaxa**, v. 3041, p. 39-50. 2011b.
- ANKER, A., FIRDAUS, M. & PRATAMA, I.S. *Salmones yoyo* nov. sp., a peculiar new infaunal shrimp from Lombok, Indonesia (Decapoda, Caridea, Alpheididae). **Zootaxa**, v. 3852, p. 489-495. 2014.
- ANKER, A. & LAZARUS, J.F. On two new species of the shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Decapoda, Caridea, Alpheididae) from the tropical eastern Pacific. **Zootaxa**, v. 3957, p. 520-534. 2015.
- ANKER, A. & MARIN, I.N. New records and species of Alpheididae (Crustacea: Decapoda) from Vietnam. Part I. genus *Salmones* Holthuis, 1955. **Raffles Bulletin of Zoology**, v. 54, p. 295–319. 2006.
- BALASUNDARAM, C. & PANDIAN, T. Egg loss during incubation in *Macrobrachium nobilii* (Henderson & Mathai). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 59, p. 289-299. 1982.
- BAUER, R.T. Analysis of embryo production in a caridean shrimp guild from a tropical seagrass meadow. In: **Crustacean Egg Production** (Wenner, A. & Kuris, A. eds.), p. 181-191. August Aimé Balkema, Rotterdam. 1991.
- BAUER, R.T. Simultaneous hermaphroditism in caridean shrimps: a unique and puzzling sexual system in the Decapoda. **Journal of Crustacean Biology**, v. 20, p. 116-128. 2000.
- BAUER, R.T. **Remarkable shrimps: natural history and adaptations of the carideans**. University of Oklahoma Press, Norman, USA. 2004.

BROOK, H.J., RAWLINGS, T.A. & DAVIES, R.W. Protogynous sex change in the intertidal isopod *Gnorimosphaeroma oregonense* (Crustacea: Isopoda). **Biological Bulletin**, v. 187, p. 99-111. 1994.

CARVACHO, A. Sur l'appendix masculina chez *Salmones* (Decapoda, Alpheidae). **Crustaceana**, v. 57, p. 253-256. 1989.

CHRISTOFFERSEN, M.L. Distribution of warm water alpheid shrimps (Crustacea, Caridea) on the continental shelf of eastern South America between 23° and 35° Lat. S. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v. 31, p. 93-112. 1982.

COREY, S. & REID, D.M. Comparative fecundity of decapods crustaceans, I. The fecundity of thirty-three species of nine families of caridean shrimps. **Crustaceana**, v. 60, p. 270-294. 1991.

CORREA, C. & THIEL, M. Mating systems in caridean shrimp (Decapoda: Caridea) and their evolutionary consequences for sexual dimorphism and reproductive biology. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 76, p. 187-203. 2003.

DE GRAVE, S. A new species of *Salmones* (Crustacea: Decapoda: Alpheidae) from Palau. **Biologie**, v. 74, p. 41-48. 2004.

DE GRAVE, S. & FRANSEN, C.H.J.M. Carideorum catalogus: the recent species of the dendrobrachiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda). **Zoologische Mededelingen**, v. 85, p. 195-588. 2011.

DE JONG, T. J. & KLINKHAMER, P.G.L. **Evolutionary ecology of plant reproductive strategies**. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. 2005.

DURIS, Z. & HORKÁ, I. *Salmones chadwickae*, a new alpheid shrimp (Crustacea: Decapoda: Alpheidae) from the Red Sea, with remarks on related or regional congeners. **Marine Biodiversity**, v. 46, p. 773-793. 2016.

FRANSEN, C.H.J.M. *Salmones sketi*, a new species of alpheid shrimp (Crustacea: Decapoda: Caridea) from a submarine cave in the Adriatic. **Zoologische Mededelingen**, v. 65, p. 171-179. 1991.

GHISELIN, M.T. The evolution of hermaphroditism among animals. **Quarterly Review of Biology**, v. 44, p. 189-208. 1969

HARTNOLL, R.G. Growth, sexual maturity and reproductive output. In: **Factors in adult growth** (Wenner A. ed.), p. 101-128. Crustacean Issues, August Aimé Balkema, Rotterdam. 1985.

HARTTORI, G.Y & PINHEIRO, M.A.A. Fertilidade do caranguejo de mangue *Ucides cordatus* (Linnaeus) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), em Iguape (São Paulo, Brasil). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, p. 309-313. 2003.

HOLTHUIS, L.B. Notes on *Salmones arubae* (Schmitt, 1936) (Crustacea, Decapoda, Caridea). **Beaufortia**, v. 41, p. 109-113. 1990.

KOMAI, T. & ANKER, A. A distinctive new species of the alpheid genus *Salmonius* Holthuis, 1955 (Crustacea: Decapoda: Caridea) from the northwestern Pacific. **Zootaxa**, v. 3344, p. 60-68. 2012.

KOMAI, T., YAMADA, Y. & YUNOKAWA, K. A new cave-dwelling species of the alpheid shrimp genus *Salmonius* Holthuis, 1955 (Crustacea: Decapoda: Caridea) from the Ryukyu Islands, southern Japan. **Zootaxa**, v. 4028, p. 413-420. 2015.

MUNDAY, P.L., BUSTON, P.M. & WAGNER, R.R. Diversity and flexibility of sex-change strategies in animals. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, p. 89–95. 2006.

MUNDAY, P.L., CALEY, M.J. & JONES, G.P. Bi-directional sex change in a coral-dwelling goby. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 43, p. 371–377. 1998.

NAKASHIMA, Y., KUWAMURA, T. & YOGO, Y. Why be a both-ways sex changer. **Ethology**, v. 101, p. 301-307. 1995.

OLIVEIRA, M.V. et al. Observation on the life history of a rare shrimp, *Salmonius carvalhoi* (Crustacea: Caridea: Alpheidae), a possible simultaneous hermaphrodite. **Marine Biodiversity Records**, v. 8, p. e141. 2015.

SASTRY, A.N. Ecological Aspects of Reproduction. In: **The Biology of Crustacea. Environmental Adaptations** (Vernberg, F.J. & Vernberg, W.B., eds.), vol. 8, p. 179-270. Academic Press, New York, NY. 1983.

WARNER, R.R. The adaptive significance of sequential hermaphroditism in animals. **American Society of Naturalists**, v. 109, p. 61-82. 1975.

CAPÍTULO 1

MÁRIO V. OLIVEIRA ET AL., SISTEMA SEXUAL DO CAMARÃO *SALMONEUS*
CARVACHOI: GONOCORISMO OU HERMAFRODITISMO?

Sistema sexual do camarão *Salmonus carvachoi* Anker, 2007 (Crustacea:

Decapoda: Alpheidae): gonocorismo ou hermafroditismo?

Mário V. Oliveira¹, Fernando J. Zara³, Ana C. Costa-Souza², Rodolfo Mariano¹ e

Alexandre O. Almeida²

¹Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil, ²Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Av. Moraes Rêgo, 1235, Cidade Universitária. 50670-901 Recife, Pernambuco, Brazil, ³Departamento de Biologia Aplicada, Invertebrate Morphology Laboratory (IML) and Aquaculture Center (CAUNESP), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Via de Acesso Prof. Donato Castellane, S/N, Jaboticabal 14884-900, SP, Brasil

Correspondence: M.V. Oliveira; e-mail: mario_biovitor@hotmail.com

RESUMO

O *appendix masculina* é um caráter sexual secundário comumente utilizado para o reconhecimento do sexo em camarões carídeos, sendo sua presença restrita aos indivíduos do sexo masculino. A observação da presença deste apêndice bem desenvolvido no segundo par de pleópodos de todos os espécimes de *Salmonus* (incluindo os ovígeros) analisados até o momento, tem impossibilitado a identificação do sexo e levado alguns autores a sugerirem a presença de hermafroditismo. O presente estudo teve como objetivo testar a hipótese de hermafroditismo protândrico simultâneo no camarão *Salmonus carvachoi*. Para tal, foi estudado o sistema sexual dessa espécie (caracteres sexuais primários e secundários), a partir de análises morfológicas, histológicas e de microscopia eletrônica de varredura. As coletas foram realizadas no

nordeste do Brasil, no estuário do Rio Paripe, Ilha de Itamaracá, Pernambuco. De um total de 272 indivíduos coletados durante o verão 2016/2017, 80 foram utilizados para dissecação. Três formas sexuais foram identificadas: fase masculina ($n = 33$); transicional ($n = 1$) e fase hermafrodita simultânea ($n = 46$). Indivíduos na fase masculina apresentaram um tamanho médio ($2,66 \pm 0,31$ mm) menor que os hermafroditas simultâneos ($3,71 \pm 0,43$). A análise histológica da gônada de um hermafrodita simultâneo revelou a presença de gametas masculinos e femininos. A análise de microscopia eletrônica de varredura revelou a presença de gonóporos masculinos em machos e gonóporos masculinos e femininos em hermafroditas simultâneos. Diferente das espécies que apresentam esse tipo de sistema sexual, em *S. carvachoi*, após a mudança de forma sexual, não ocorre qualquer alteração na forma ou tamanho do *appendix masculina*. As evidências obtidas nesse estudo suportam a hipótese de hermafroditismo protândrico simultâneo em *S. carvachoi*, sendo o primeiro caso registrado na família Alpheidae.

Palavras-chave: *Appendix masculina*, fase masculina, fase hermafrodita simultânea, ovotestículo.

INTRODUÇÃO

O sistema sexual em camarões carídeos é bastante diversificado (Bauer, 2000; 2004; Correa & Thiel, 2003). As espécies dessa infraordem são predominantemente gonocóricas, ou seja, indivíduos reproduzem-se apenas como macho ou fêmea ao longo do seu ciclo de vida (Correa & Thiel, 2003). Apesar de relativamente raro em crustáceos, mais de trinta espécies de carídeos apresentam hermafroditismo (Policansky, 1982; Bauer, 2000; 2004). Nesse tipo de sistema sexual, um indivíduo pode se reproduzir através dos dois sexos, em diferentes períodos de sua vida ou em um mesmo período, através da produção simultânea de gametas masculinos e femininos (Policansky, 1982; Baeza, 2009). Quando o sexo inicial é masculino esta condição chama-se protandria e quando o sexo inicial é feminino chama-se protoginia (Warner,

1975). Diferentemente da protandria, a protoginia é menos comum nos crustáceos, sendo registrada somente na classe Malacostraca (Brook *et al.*, 1994; Bauer, 2000).

De acordo com Correa & Thiel (2003), em Caridea a protandria pode ser do tipo completa (todos os machos da população mudam de sexo), parcial (apenas alguns machos da população mudam de sexo), parcial com machos e fêmeas primárias (a população é composta por machos que mudam de sexo e alguns machos e fêmeas que permanecem no mesmo sexo durante seu tempo de vida), parcial com fêmeas primárias (a população é composta por machos que mudam de sexo e fêmeas que nunca passaram por mudança de sexo) e simultânea (a população é composta por indivíduos que atuam inicialmente como machos e depois tornam-se hermafroditas simultâneos, ou seja, atuando como os dois sexos, simultaneamente).

Nos camarões carídeos da família Alpheidae Rafinesque, 1815, o hermafroditismo protândrico completo foi registrado em *Arete acanthocarpus* (Miya & Miyake, 1968) e *A. dorsalis* Stimpson, 1860 (Suzuki, 1970, como *Athanas acanthocarpus* e *Athanas dorsalis*, respectivamente). No mesmo gênero, hermafroditismo protândrico parcial ocorre em *A. indicus* Coutière, 1903 (Nakashima, 1987, como *Athanas kominatoensis* Kubo, 1942; Gherardi & Calloni, 1993, como *Athanas indicus*). Hermafroditismo protândrico parcial, com machos e fêmeas primárias, foi registrado na família Thoridae Kingsley, 1879, em *Thor manningi* Chace, 1972 (Bauer, 1986). Hermafroditismo protândrico parcial, com fêmeas primárias, está relatado na família Crangonidae Haworth, 1825, em *Crangon crangon* Linnaeus, 1758 (Boddeke *et al.*, 1991; Schatte & Saborowski, 2006). Na família Lysmatidae Dana, 1852, também está relatada a ocorrência de hermafroditismo protândrico simultâneo em todas as espécies de *Lysmata* Risso, 1816 estudadas até o momento e *Exhippolysmata oplophoroides* Holthuis, 1948 (Baeza, 2009; Braga *et al.*, 2009). Na família

Barbouriidae Christoffersen, 1987, esse mesmo sistema sexual ocorre em *Parhippolyte misticia* J. Clark, 1989 (Onaga et al., 2012).

Em camarões carídeos, o reconhecimento do sexo é feito, de um modo geral, através da observação dos caracteres sexuais secundários como o *appendix masculina* e poros genitais. O *appendix masculina* está localizado no endopodito do segundo par de pleópodos (apêndices natatórios) dos machos e está ausente nas fêmeas (Bauer, 2004). Esta estrutura é utilizada durante a cópula e está associada à transferência de espermatóforos do macho para a fêmea (Bauer, 1976; 2013). Os poros genitais são aberturas terminais dos ductos genitais masculinos ou femininos, por onde saem os gametas, que são transportados da gônada para a região externa (Bauer, 2004). Quando presentes na base das coxas do terceiro par de pereiópodos (apêndices ambulatórios), indicam que o indivíduo é fêmea, enquanto nos machos, localizam-se na base das coxas do quinto par de pereiópodos (Bauer, 2004).

A impossibilidade de identificação do sexo tem sido relatada para as espécies de camarões carídeos do gênero *Salmoneus* Holthuis, 1955 (pertencentes à família Alpheidae) devido ao fato de todos os indivíduos analisados apresentarem *appendix masculina* bem desenvolvido, até mesmo os ovígeros (Christoffersen, 1982; Carvacho, 1989; Holthuis, 1990; Fransen, 1991; Anker e Marin, 2006; Anker, 2007, 2010, 2011a, b; Oliveira *et al.*, 2015). De acordo com Anker e Marin (2006), a única forma de determinar o sexo destas espécies é dissecando as gônadas para identificar o ducto feminino e/ou masculino, que terminam nos gonóporos situados perto da base da coxa do terceiro ou quinto par de pereiópodos, respectivamente.

Salmoneus carvachoi Anker, 2007 é um camarão estuarino distribuído no Atlântico Ocidental, podendo ser encontrado no México, Guadalupe, Venezuela e no Brasil (da Paraíba até São Paulo). Esta espécie está presente desde a região do

entremarés até 22 m de profundidade, onde vive sob rochas e cascalho e em planícies de lama de estuários e mangues, comumente habitando o interior de galerias escavadas por outros crustáceos (Christoffersen, 1982; Almeida *et al.*, 2012; Anker, 2010, 2007). Os estudos existentes relacionados a esta espécie resumem-se a aspectos taxonômicos (Anker 2010; 2007), observações sobre sua história de vida (Oliveira *et al.*, 2015) e produção de embriões (Oliveira *et al.*, 2018, em revisão). Diferentemente dos demais representantes do gênero, Oliveira *et al.* (2015) relataram alguns indícios do sistema sexual em *S. carvachoi*.

Anker (2007; 2010), Oliveira *et al.* (2015) e Vera-Caripe *et al.* (2015) relataram a impossibilidade de identificação do sexo das amostras de *S. carvachoi* com base na observação apenas do *appendix masculina*. Apesar dos poros genitais também serem um caráter indicador de sexo, não é possível visualizá-los com clareza através de um estereomicroscópio ou mesmo de um microscópio óptico devido ao pequeno tamanho dessa espécie (Oliveira *et al.*, 2015), assim como também ocorre com outras espécies de *Salmonaeus* (Anker & Marin, 2006).

Em um estudo realizado por Oliveira *et al.* (2015), foram coletados casais de *S. carvachoi*, sendo que em alguns dos pares, ambos os indivíduos encontravam-se portando embriões. Anker e Marin (2006) também já haviam observado essa mesma condição de pareamento em *S. pussilus* Anker & Marin, 2006 e em *S. rostratus* Barnard, 1962. A formação de pares compostos por dois indivíduos ovígeros parece ser particularmente apresentado em populações de hermafroditas protândricos simultâneos, conforme foi registrado em *Lysmata pedersenii* Rhyne & Lin, 2006 (Baeza, 2010). Tendo em vista essas características sexuais observadas em *S. carvachoi*, foi sugerida a hipótese de hermafroditismo protândrico simultâneo (Oliveira *et al.*, 2015), assim como já havia sido sugerido para outras espécies desse gênero (Anker, 2011b).

No hermafroditismo protândrico simultâneo, o indivíduo inicialmente atua como macho e apresenta caracteres sexuais secundários masculinos bem desenvolvidos e ovotestículo (isto é, uma gônada capaz de produzir gametas femininos e masculinos) com apenas a porção testicular bem desenvolvida (Bauer e Holt, 1998; Bauer, 2000; Bauer e Newman, 2004). Ao atingir um determinado tamanho, o indivíduo torna-se um hermafrodita simultâneo, apresentando ovotestículo com porções testicular e ovariana bem desenvolvidas e podendo se reproduzir alternadamente como macho e fêmea, porém, sem autofecundar-se (Charnov, 1982; Bauer e Holt, 1998, Bauer, 2000, Baeza, 2009). Nessa forma sexual geralmente ocorre uma redução total ou parcial dos caracteres sexuais secundários (Bauer e Holt, 1998; Bauer, 2000, 2002a; Bauer e Newman, 2004).

Tendo em vista a impossibilidade de identificação do sexo em *S. carvachoi* através da observação da presença do *appendix masculina* e o relato da ocorrência de indivíduos ovígeros pareados, o presente estudo teve como objetivo testar a hipótese de hermafroditismo protândrico simultâneo nessa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas em dezembro de 2016 e em fevereiro de 2017 durante a maré baixa (em períodos de sizígia), numa planície de lama da região mesolitoral do estuário do Rio Paripe, Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil (7°48'38.0"S 34°51'22.1"W). Para a obtenção dos exemplares, foi realizado o método de pisoteio sobre a lama. Para este procedimento, três pessoas pisotearam um local da planície (sem padronização de tempo e esforço de captura) com aberturas de tocas escavadas pelo camarão *Alpheus estuariensis* Christoffersen, 1984, com o qual *S. carvachoi* é comumente encontrada em associação (Almeida *et al.*, 2012). Devido à

ação do pisoteio, os camarões desabrigados deslocam-se em poças de água formadas no substrato, onde podem ser visualizados e capturados com uma pequena rede de mão. Após a captura, os indivíduos foram colocados em potes plásticos com água do estuário, transportados para o laboratório, anestesiados em gelo e fixados em formalina a 10%. Para o conhecimento do sistema sexual, foram estudados os caracteres sexuais primários e secundários, a partir de análises morfológicas, histológicas e de microscopia eletrônica de varredura.

Com base em Bauer (2004), esperou-se encontrar os menores indivíduos na fase masculina, os de tamanho intermediário na fase transicional e os maiores na fase de hermafroditas simultâneos. Assim, para o estudo morfológico dos caracteres sexuais internos (gônadas e ductos), 80 indivíduos de diferentes tamanhos (com comprimentos de carapaça inferior a 2,5 mm, variando entre 2,5 e 3,5 mm e superior a 3,5 mm, o qual é representativo para a variação de tamanho total) foram selecionados para dissecação.

As gônadas foram removidas com o uso de pinça e agulha histológica de ponta fina. Em seguida, foram analisadas sob o microscópio estereoscópico, onde foi verificada a presença do tecido ovariano e/ou testicular e dutos genitais femininos (ovidutos) e/ou masculinos (vasos deferentes) terminando nas coxas do terceiro e/ou quinto par de pereiópodos, respectivamente. Também foi observado o tamanho, coloração e formato das gônadas, a fim de identificar diferenças nos graus de desenvolvimento. Por fim, estas foram fotografadas no microscópio estereoscópico com sistema de captura de imagem.

Gônadas de indivíduos de variados tamanhos foram destinadas à microscopia eletrônica de varredura e à histologia. O mesmo foi feito para indivíduos inteiros, os quais foram destinados apenas à microscopia eletrônica de varredura a fim de identificar

a presença de poros genitais femininos e/ou masculinos presentes na base da coxa do terceiro e/ou quinto par de pereiópodos, respectivamente.

Para a preparação histológica, as gônadas fixadas em formalina a 10%, foram lavadas em tampão fosfato 0,2M (pH 7,4) e os tecidos tamponados foram desidratados em séries crescentes de álcool (70-95%), embebidos e incluídos em resina glicol-metacrilato Leica®, seguindo recomendação do fabricante. Uma vez polimerizados, os blocos foram seccionados em micrótomo rotativo Leica® RM 2245 e os cortes de 4 a 7 µm foram recolhidos em lâminas. Para a análise histológica convencional, os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (Junqueira & Junqueira, 1983). Para a análise histoquímica dos tecidos, os cortes foram submetidos à coloração de Xylidine ponceau, para proteínas totais (Melo & Vidal, 1980), ácido periódico de Schiff (PAS) e azul de Alcian para polissacarídeos neutros e ácidos, respectivamente (Junqueira & Junqueira, 1993). Todas as imagens foram obtidas e digitalizadas no fotomicroscópio Leica®DM 2000, por meio do software Leica® IM50.

Para a diferenciação das formas sexuais, as amostras foram classificadas em ovígeras e não ovígeras. Foi medido o comprimento da carapaça e do *appendix masculina* e observada a morfologia dos dois primeiros pares de pleópodos. Os indivíduos foram fotografados em um microscópio estereoscópico com sistema de captura de imagem e em seguida as fotografias obtidas foram analisadas no software ImageJ 1.45s (Rasband, 2006) para obtenção das medidas do comprimento da carapaça (CC) (distância entre a extremidade do rostro e a margem posterior da carapaça) e comprimento do *appendix masculina* (CAM) (distância entre a base e a extremidade do apêndice).

Foi utilizada a análise de crescimento relativo para verificar se existe alguma mudança no padrão de crescimento do *appendix masculina* (CAM) em função do

comprimento da carapaça (CC), conforme tem sido observado nas espécies que apresentam hermafroditismo protândrico simultâneo (Bauer & Holt, 1998, Bauer, 2000; Bauer & Newman, 2004, Pescinelli *et al.*, 2017). Para isso, foi usada a equação alométrica linearizada ($\log y = \log a + b \log x$), sendo y a variável dependente (*appendix masculina*), x a variável independente (CC), b o coeficiente alométrico e c o ponto onde a linha cruza o eixo y . A condição alométrica de b foi determinada como $b = 1$: isometria, $b < 1$: alometria negativa e $b > 1$: alometria positiva (Hartnoll, 1978; Huxley, 1950). Os indivíduos foram separados em dois grupos com base na análise das gônadas: fase masculina – Grupo 1 (gônada com apenas porção testicular desenvolvida) e fase hermafrodita simultâneo – Grupo 2 (gônada com porção testicular e ovariana desenvolvidas). Os valores de b foram testados usando test t de Student ($H_0 = 1$; $H_0 \neq 1$, $\alpha = 1\%$) (Zar, 1996). Diferenças na inclinação (b) e intercepto (a) entre os dois grupos foram comparadas usando análise de covariância ANCOVA. Além disso, foi verificada a existência de diferenças morfológicas desse mesmo apêndice nos dois grupos.

Para a análise de microscopia eletrônica de varredura das gônadas e poros genitais, as amostras foram lavadas em tampão fosfato 0,2M (pH 7,4) e em seguida pós-fixadas com tetróxido de ósmio 1% tamponado, desidratadas em série crescente de acetona (30-100%), permanecendo 15 minutos em cada série e tendo repetição de três banhos na concentração de 100% e em seguida completamente secas no aparelho de ponto crítico EMS 850 com CO_2 . Após a secagem, as amostras foram aderidas à “stubs” metálicos por meio de fita dupla-face, recoberta com carbono. As amostras foram então vaporizadas com uma delgada camada (50 nm) de ouro no “sputtering” Dayton Vacum, sendo posteriormente observadas e fotografadas no MEV Zeiss EVO 10 com feixe eletrônico de 15 KV.

RESULTADOS

Foram obtidos, no total, 272 indivíduos, sendo 220 não ovígeros e 52 ovígeros. A variação total do CC foi de 1,81 a 5,26 mm ($3,47 \pm 0,66$ mm). Foi possível identificar três formas sexuais: fase masculina ($n = 33$) – gônada apenas com porção testicular visivelmente desenvolvida e um par de vasos deferentes (Figura 1A); transicional ($n = 1$) – ovotestículo com porção testicular desenvolvida, um par de vasos deferentes e porção feminina pouco desenvolvida, formada por uma fina camada de tecido transparente (Figura 1B); fase hermafrodita simultâneo ($n = 46$) – ovotestículo com porção testicular desenvolvida, um par de vasos deferentes e porção feminina bem desenvolvida e com um par de ovidutos (Figura 1C). O CC dos indivíduos na fase masculina variou de 1,98 a 3,24 mm ($2,66 \pm 0,31$ mm), o indivíduo em fase de transição com 2,72 mm e os hermafroditas simultâneos de 2,5 a 4,48 mm ($3,71 \pm 0,43$ mm).

Tendo em vista que as formas sexuais classificadas diferem principalmente quanto ao CC e características das gônadas, foi possível classificar, através da análise visual, todos os demais indivíduos obtidos com base nesses dois elementos. Um total de oitenta e quatro indivíduos foram classificados como fase masculina, com CC variando de 1,81 a 3,33 mm ($2,64 \pm 0,35$ mm), 188 hermafroditas simultâneos, com CC variando de 2,5 a 5,26 mm ($3,85 \pm 0,36$ mm) e um indivíduo transicional com CC de 2,72 mm. O CC de indivíduos hermafroditas simultâneos não ovígeros variou de 3,23 a 4,64 mm ($3,83 \pm 0,27$) e hermafroditas simultâneos ovígeros de 2,5 a 5,26 mm ($3,85 \pm 0,39$). As menores classes de tamanho foram compostas apenas por indivíduos em fase masculina, enquanto que as maiores, por hermafroditas simultâneos. Observou-se uma zona de sobreposição de tamanho entre as duas formas sexuais (Figura 2).

Foram observadas diferenças anatômicas entre as porções ovariana e testicular do ovotestículo. Não foi observado tecido ovariano na gônada de indivíduos em fase masculina e no indivíduo transicional, este era pouco desenvolvido e transparente (Figura 1 A,B). Em hermafroditas simutâneos essa porção está notavelmente localizada na região anterior do ovoteste, sobre o hepatopâncreas e caracteriza-se por apresentar dois lobos compridos e dispostos longitudinalmente. Cada lobo apresenta um oviduto achatado e de coloração transparente, o qual se estende até a coxa do terceiro par de pereiópodos (Figura 1C e figura 3). A porção testicular, tanto nos indivíduos em fase masculina, quanto em hermafroditas simultâneos, está localizada na região posterior do ovotestículo, situada na região posterior do tórax, próxima do primeiro somito abdominal. Esta porção caracteriza-se por apresentar dois lobos de formato arredondado, cada uma com um vaso deferente de formato tubular e coloração esbranquiçada, se estendendo até a coxa do quinto par de pereiópodos (Figura 1C e figura 3). Em um indivíduo hermafrodita simultâneo foi observada a presença de glândula androgênica na parede distal do vaso deferente (Figura 4). A porção ovariana em indivíduos FHS é notavelmente muito maior que a testicular. Uma detalhada caracterização morfológica da porção masculina e feminina do ovoteste de um hermafrodita simultâneo é representada na figura 5.

A porção ovariana das gônadas de indivíduos hermafroditas simultâneos (ovígeros e não ovígeros) apresentou diferentes graus de desenvolvimento, de acordo com o tamanho e coloração. Foram observados indivíduos com porção ovariana em desenvolvimento inicial, médio e avançado (visualizado através da transparência da carapaça), sendo eles ovígeros ou não (Figura 6). A coloração amarela dessa porção se intensifica à medida que o tecido cresce e se desenvolve (devido ao aumento da quantidade de oócitos vitelogênicos). Em contrapartida, a porção masculina não

apresentou qualquer variação anatômica, tanto na fase masculina quanto em hermafroditas simultâneos.

A análise histológica do ovoteste de um indivíduo hermafrodita simultâneo indicou a presença de gametas femininos na porção ovariana e masculinos na porção testicular, em processo de maturação. Na porção feminina foram observadas células foliculares e oócitos vitelogênicos (Figura 7A). Na porção testicular e nos vasos deferentes foram observados espermatócitos, espermátides e espermatozóides revestidos por uma matriz protetora (Figura 7B). Os espermatozóides apresentaram um formato de “guarda-chuva invertido”.

Todos os indivíduos apresentaram *appendix masculina* bem desenvolvido no endopodito do segundo par de pleópodos (Figura 8). O comprimento do *appendix masculina* variou de 0,13 a 0,66 mm ($0,27 \pm 0,05$ mm). Nas duas formas sexuais (fase masculina e hermafrodita simultânea) foi observado um crescimento alométrico negativo do CAM em relação ao CC. Além disso, a porcentagem de variação no crescimento do *appendix masculina* (machos $R^2 = 0.27$; hermafrodita $R^2 = 0.23$) é muito pouco explicada (relacionada) pela variação do desenvolvimento do CC, indicando que este apêndice provavelmente não sofre qualquer redução de tamanho à medida que o indivíduo cresce e muda de forma sexual (Figura 9).

Não foi possível a diferenciação das formas sexuais com base na morfologia e comprimento do *appendix masculina* e nem através da morfologia dos dois primeiros pares de pleópodos, pois essas estruturas mostraram-se invariáveis em indivíduos na fase masculina e hermafrodita simultânea. Os poros genitais (visualizados apenas em alguns indivíduos destinados à microscopia eletrônica de varredura) foram os únicos caracteres sexuais secundários que apresentaram diferenças entre as formas sexuais. Um indivíduo na fase masculina apresentou apenas gonóporos masculinos (Figura 10),

enquanto que os indivíduos hermafroditas simultâneos apresentaram os gonóporos masculinos e femininos, simultaneamente (Figura 11A). Em um indivíduo hermafrodita simultâneo que estava portando embriões, foi observada a presença de espermatozóides nas aberturas dos poros genitais masculinos (Figura 11C), indicando uma funcionalidade dessa forma sexual.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através da análise dos caracteres sexuais primários e secundários suportam a hipótese de que *S. carvachoi* é um hermafrodita protândrico simultâneo (HPS). A população é composta por indivíduos que inicialmente atuam como machos (fase masculina) e à medida que crescem tornam-se hermafroditas simultâneos, agindo como macho e fêmea ao mesmo tempo. Este é o primeiro registro de hermafroditismo protândrico simultâneo em Alpheidae. O HPS tem sido raramente registrado na infraordem Caridea e era restrito, até o momento, aos camarões Lysmatídeos, dos gêneros *Lysmata* (todas as espécies estudadas até o momento) e *Exhippolysmata* Stebbing, 1915 (em *Exhippolysmata oplophoroides*) (Braga et al., 2009) e Barbouriídeo do gênero *Parhippolyte* Borradaile, 1900 (em *Parhippolyte misticia*) (Baeza, 2009; Braga et al., 2009; Onaga et al., 2012).

Três formas sexuais foram identificadas: fase masculina, transicional e hermafrodita simultânea. Dissecções e análises anatômicas e histológicas de indivíduos de uma população que apresenta HPS comumente revelam essas mesmas formas sexuais, conforme também foi observado em *E. oplophoroides* (Braga et al., 2009), *Lysmata wurdemanni* Gibbes, 1850 (Bauer & Holt, 1998), *L. californica* Stimpson, 1866 (Bauer & Newman, 2004) e *P. misticia* (Onaga et al., 2012). Nas espécies citadas acima, os indivíduos transicionais comumente apresentam uma combinação de características

sexuais primárias e secundárias masculinas e femininas. Em *S. carvachoi*, o indivíduo transicional apresentou porção masculina no ovotestículo e início do desenvolvimento da porção feminina. A observação de um indivíduo transicional no presente estudo é um forte indicador da ocorrência de mudança de sexo.

Indivíduos na fase masculina apresentaram um tamanho médio inferior aos hermafroditas simultâneos. Essa marcante diferença na distribuição da frequência de tamanho entre as formas sexuais é caracteristicamente observada em espécies protândricas (Ghiselin, 1969; Warner 1975; Bauer & VanHoy, 1996; Bauer, 2004). Este resultado corrobora com o modelo da vantagem de tamanho descrito por Ghiselin (1969) e ampliado por Warner (1975). De acordo com esse modelo, a protandria é favorecida em espécies nas quais a vantagem reprodutiva masculina é maior em tamanhos menores e o das fêmeas maior em tamanhos maiores. Dessa forma, em uma população em que não há guarda pré copulatória, por exemplo, os machos pequenos teriam vantagem em evitar predadores durante a procura por fêmeas e investir menos energia em crescimento, enquanto que fêmeas grandes teriam menor mobilidade e poderiam investir maior energia na produção de uma maior quantidade de embriões (Ghiselin, 1969; Warner, 1975). De acordo com Oliveira *et al.*, (2015), indivíduos de *S. carvachoi* possivelmente movem-se entre tocas a procura de parceiros sexualmente receptivos. No entanto, para comprovar se a vantagem adaptativa do HPS em *S. carvachoi* pode ser explicada através modelo da vantagem de tamanho, é necessário conhecer a estratégia de acasalamento dessa espécie.

A ocorrência de uma faixa de sobreposição de tamanho entre indivíduos na fase masculina e hermafroditas simultâneos indica que existe uma variação na duração da fase masculina e ocorrência da mudança de forma sexual. Esse mesmo resultado foi observado em *L. wurdemanni* (Bauer, 2000, 2001). Estudos baseados em experimentos

laboratoriais e observações de populações naturais têm revelado que fatores ambientais, interações sociais e circunstâncias demográficas podem influenciar no tempo em que essa mudança ocorre (Bauer, 2001, 2002a; Baeza & Bauer, 2004; Bauer, 2006). Futuros estudos sobre alocação do sexo em *S. carvachoi* são necessários para conhecer quais fatores poderiam influenciar no tempo da mudança de sexo nessa espécie.

Foram observados três diferentes graus de desenvolvimento da porção ovariana dos hermafroditas simultâneos. Tal observação possivelmente indica a existência de um ciclo de desenvolvimento dessa porção, a qual cresce e se preenche de oócitos vitelogênicos em cada ciclo reprodutivo e sofre uma regressão após cada postura. Já a porção masculina, tanto em indivíduos na fase masculina, quanto hermafroditas simultâneos, mostrou-se sempre bem desenvolvida e invariável quanto à forma e coloração, sugerindo que essa porção está constantemente voltada para a produção de espermatozóides durante as duas formas sexuais. Essa mesma observação foi registrada em *L. wurdemanni*, *L. amboinensis* de Man, 1888, *L. californica*, *L. hochi* Baeza & Anker, 2008 e *E. oplophoroides* (Bauer & Holt, 1998; Fiedler 1998; Bauer & Newman, 2004; Baeza & Anker, 2008, Braga et al., 2009).

Através da análise histológica das gônadas de um hermafrodita simultâneo, foi possível identificar a presença de células gaméticas masculinas e femininas em variados estágios de maturação. Tais evidências indicam a funcionalidade dos hermafroditas simultâneos em agir como macho e fêmea ao mesmo tempo. Essas mesmas evidências foram observadas em espécies de *Lysmata*, *Exhippolysmata* e *Parhippolyte* (Baeza, 2009; Braga et al., 2009; Onaga et al., 2012), onde algumas espécies tiveram a funcionalidade das formas sexuais comprovada com base em experimentos laboratoriais (Bauer & Holt, 1998; Bauer, 2002b; Laubenheimer & Rhyne, 2008; Baeza, 2008a, b, 2009; Onaga et al., 2012). Embora tenham sido obtidas uma série de evidências

morfológicas da existência de HPS em *S.carvachoi*, futuros estudos experimentais poderiam fornecer evidências sobre a funcionalidade das fases masculina e hermafrodita simultânea nessa espécie.

A dificuldade em se realizar a diferenciação sexual em camarões alfeídeos é menos comum quando comparado a outros grupos de carídeos e frequentemente é associada à suspeita de hermafroditismo (Carvacho, 1989). Nos camarões do gênero *Automate* de Man, 1888 e *Synalpheus* Spence Bate, 1888, por exemplo, o *appendix masculina* está ausente em todos os indivíduos (Banner & Banner, 1973; Felder, 1982; Dardeau, 1984; Carvacho, 1989; Bauer & Tóth, 2007). Ao contrário dos dois gêneros citados acima, em *Salmonesus* e *Yagerocaris* Kensley, 1988, o *appendix masculina* está presente em todos os indivíduos (Christoffersen, 1982; Carvacho, 1989; Holthuis, 1990; Fransen, 1991; Anker e Marin, 2006; Anker, 2007, 2010, 2011a, b; Vera-Caripe et al., 2015).

Após a mudança de sexo, não ocorre redução de tamanho ou alterações na forma do *appendix masculina*. Este resultado é uma exceção ao padrão comumente observado nas espécies com HPS, onde o *appendix masculina* sofre uma regressão parcial ou total, assim como alterações na forma (como no número de espinhos da porção distal) após a mudança de sexo, como ocorre nas espécies de *Lysmata*, *Exhippolysmata* e *Parhippolyte* (Bauer, 2006; Baeza, 2009; Onaga et al., 2012; Pescinelli et al., 2017). Tal peculiaridade confronta a sugestão de Carvacho (1989), o qual afirmou que se a presença do *appendix masculina* em *Salmonesus* fosse uma expressão de protandria, deveria se esperar uma regressão gradual desta estrutura após a inversão sexual, caso contrário, essa estrutura poderia não ser um indicador de sexo nesse gênero. Conforme foi observado no presente estudo, evidências apontam HPS nessa espécie, porém, não ocorre regressão desse apêndice na fase hermafrodita simultânea, indicando que essa estrutura não funciona como um indicador de forma sexual.

Foi observada a presença de glândula androgênica na parede distal do vaso deferente de um hermafrodita simultâneo. Nos crustáceos, a determinação sexual é mediada pela presença ou ausência dessa glândula, a qual é responsável pela produção do hormônio responsável pela diferenciação sexual masculina (caracteres sexuais primários e secundários e comportamento), o andrógeno (Charniaux-Cotton & Payen, 1985; Ventura et al., 2011a, b). Em espécies protândricas completas ou parciais, a glândula androgênica sofre um processo de degeneração completa em machos que estão prestes a mudar de sexo, dando início ao processo de feminização (Hoffman, 1969; Gavio et al., 2006; Kim et al., 2006). Bortolini & Bauer (2016) observaram que nos hermafroditas simultâneos de *L. wurdemanni* há persistência da glândula androgênica, embora ocorra certo grau de degeneração. Os autores associaram a existência da fase de hermafrodita simultânea nesse sistema sexual com a persistência da glândula androgênica e a continuada produção de andrógeno. Em *S. carvachoi*, a permanência das características sexuais primárias e secundárias durante a fase hermafrodita simultânea também parece estar relacionada à persistência da glândula androgênica após a mudança de sexo. Tal observação é mais uma evidência morfológica adicional que suporta a existência de HPS em *S. carvachoi*.

A diferenciação das formas sexuais com base nos caracteres sexuais secundários somente foi possível através da visualização dos poros genitais. Indivíduos na fase masculina apresentam poros genitais masculinos, enquanto que os hermafroditas simultâneos apresentam os poros genitais masculinos e femininos. Esse mesmo padrão foi observado nas espécies de *Lysmata*, *Exhippolysmata* e *Parhippolyte* (Bauer & Holt, 1998; Bauer, 2006; Baeza, 2009; Braga et al., 2009; Onaga et al., 2012). O reduzido tamanho dessa espécie impossibilita a visualização dos poros genitais através do

microscópio estereoscópio e óptico, o que impossibilita a identificação sexual a partir de procedimentos simples comumente utilizados em carídeos.

Apesar de o hermafroditismo ser conhecido desde a antiguidade, pouco se sabe sobre sua origem evolutiva. Bauer (2000) propôs a hipótese da “contingência histórica” com o intuito de explicar como se deu o surgimento do HPS nos camarões carídeos do gênero *Lysmata*. De acordo com essa hipótese, o surgimento do HPS seria vantajoso em um ancestral protândrico simbiótico, que por algum evento histórico (invasão de um novo habitat ou mudanças no próprio habitat, dentre outros) teve sua densidade populacional e mobilidade reduzida (Bauer, 2000; 2006; Baeza, 2009). Estudos com abordagem filogenética têm sido realizados a fim de testar a hipótese de “contingência histórica” em *Lysmata* (Baeza, 2009, 2010). Apesar dos esforços, ainda é necessária a realização de futuros estudos sobre o sistema sexual e história de vida dos representantes de grupos próximos, para que haja melhores esclarecimentos. Até o momento, o conhecimento sobre a possível origem evolutiva do HPS em carídeos permanece desconhecida.

Os indícios morfológicos obtidos no presente estudo suportam a existência de hermafroditismo protândrico simultâneo em *S. carvachoi*, o primeiro representante do gênero a ser estudado quanto ao seu sistema sexual. Diferente das outras espécies com HPS, não há alterações no *appendix masculina* após a mudança de sexo. Futuros estudos sobre o sistema sexual em outras espécies de *Salmones* são necessários para saber se o HPS é um traço comum a todos os representantes desse gênero. Os resultados obtidos nesse trabalho poderão ser utilizados em futuros estudos direcionados ao conhecimento da distribuição do HPS na infraordem Caridea, bem como sobre sua história evolutiva.

REFERÊNCIAS

- Almeida, A.O., Boehs, G., Araújo-Silva, C.L. & Bezerra, L.E.A. 2012. Shallow-water caridean shrimps from southern Bahia, Brazil, including the first record of *Synalpheus* (Ríos & Duffy, 2007) (Alpheidae) in the southwestern Atlantic Ocean. *Zootaxa*, **3347**: 1–35.
- Anker, A. 2007. New species and records of alpheid shrimps, genera *Salmones* Holthuis and *Parabetaeus* Coutière, from the tropical western Atlantic (Decapoda, Caridea). *Zootaxa*, **1653**: 21–39.
- Anker, A. 2010. The shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Crustacea, Decapoda, Alpheidae) in the tropical western Atlantic, with description of five new species. *Zootaxa*, **2372**: 177–205.
- Anker, A. 2011a. Three new species of the alpheid shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Crustacea, Decapoda) from the tropical Western Pacific. *Zootaxa*, **2839**: 67–84.
- Anker, A. 2011b. Two new species of *Salmones* Holthuis, 1955 with a deep dorsal depression on the carapace (Crustacea, Decapoda, Alpheidae). *Zootaxa*, **3041**: 39–50.
- Anker, A. & Marin, I.N. 2006. New records and species of Alpheidae (Crustacea: Decapoda) from Vietnam. Part I. genus *Salmones* Holthuis, 1955. *Raffles Bulletin of Zoology*, **54**: 295–319.
- Baeza, J.A. 2008a. Social monogamy in the Shrimp *Pontonia margarita*, a symbiont of *Pinctada mazatlanica*, in the Tropical Eastern Pacific Coast. *Marine Biology*, **153**: 387–395.
- Baeza, J.A. 2008b. Protandric Simultaneous Hermaphroditism in the Shrimps *Lysmata bahia* and *L. intermedia*. *Invertebrate Biology*, **127**: 181–188.

Baeza, J.A. 2009. Protandric simultaneous hermaphroditism is a conserved trait in *Lysmata* (Caridea: Lysmatidae): implications for the evolution of hermaphroditism in the genus. *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences*, **38**: 95–110.

Baeza, J.A. 2010. The symbiotic lifestyle and its evolutionary consequences: social monogamy and sex allocation in the hermaphroditic shrimp *Lysmata pederseni*. *Naturwissenschaften*, **97**: 729–741.

Baeza, J.A. 2013. Molecular phylogeny of broken-back shrimps (genus *Lysmata* and allies): A test of the ‘Tomlinson–Ghiselin’ hypothesis explaining the evolution of hermaphroditism. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **69**: 46–62.

Baeza, J.A. & Anker, A. 2008. *Lysmata hochi* n.sp., a new hermaphroditic shrimp from the southwestern Caribbean sea (Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology*, **28**: 148–155.

Baeza, J.A & Bauer, R.T. 2004. Experimental test of socially mediated sex change in a protandric simultaneous hermaphrodite, the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae). *Behavioral Ecology Sociobiology*, **5**: 544–50.

Banner, D.M. & Banner, A.H. 1973. The alpheid shrimps of Australia. Part I: The lower genera. *Records Australian Museum*, **28**: 291–382.

Bauer, R. T. 1976. Mating behavior and spermatophore transfer in the shrimp *Heptacarpus pictus* (Stimpson) (Decapoda: Caridea: Hippolytidae). *Journal of Natural History*, **10**: 415–440.

Bauer, R.T. 1986. Sex change and life history pattern in the shrimp *Thor mannigi* (Decapoda: Caridea): a novel case of partial protandric hermaphroditism. *Biological Bulletin*, **170**: 11–31.

Bauer, R.T. 2000. Simultaneous hermafroditism in caridean shrimps: a unique and puzzling sexual system in the Decapoda. *Journal of Crustacean Biology*, **20**: 116–128.

Bauer, R.T. 2001. Hermafroditismo en camarones: el sistema sexual y su relación con atributos socioecológicos. *Interciencia*, **26**: 434–9.

Bauer, R.T. 2002a. Reproductive ecology of a protandric simultaneous hermaphrodite, the shrimp *Lysmata wurdemanni* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology*, **22**:742–9.

Bauer, R.T. 2002b. Test of hypotheses on the adaptive value of an extended male phase in the hermaphroditic shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae). *The Biological Bulletin*, **203**: 347–57.

Bauer, R.T. 2004. *Remarkable shrimps: natural history and adaptations of the carideans*. University of Oklahoma Press, Norman, USA.

Bauer, R.T. 2006. Same sexual system but variable sociobiology: evolution of protandric simultaneous hermaphroditism in *Lysmata* shrimps. *Integrative and Comparative Biology*, **46**: 430–438.

Bauer, R.T. 2013. Adaptive modification of appendages for grooming (cleaning; antifouling) and reproduction in the Crustacea. In: *Functional morphology of Crustacea* (Thiel M. and Watling L., eds), pp. 337–375. Oxford University Press, NY.

Bauer, R.T. & Holt, G.J. 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, R.T. & Newman, W.A. 2004. Protandric simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata californica* (Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology*, **24**: 131–139.

Bauer, R.T., VanHoy, 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**: 53–73.

Boddeke, R., Bosschieter, J.R. & Goudswaard, P.C. 1991. Sex change, mating, and sperm transfer in *Crangon crangon* (L.). In: *Crustacean Sexual Biology* (Bauer, R.T. & Martin, J.W., eds.), pp. 164–182. Columbia University Press, New York, NY, USA.

Bortoline, J.S. & Bauer, R.T. 2016. Persistence of reduced androgenic glands after protandric sex change suggest a basis for simultaneous hermaphroditism in a caridean shrimp. *The Biology Bulletin*, **230**: 110-119.

Braga, A.A., López-Greco, L.S., Santos, D.C. & Fransozo, A. 2009. Morphological evidence for protandric simultaneous hermaphroditism in the caridean *Exhippolysmata oplophoroides*. *Journal of Crustacean Biology*, **29**: 34–41.

Brook, H.J., Rawlings, T.A. & Davies, R.W. 1994. Protogynous sex change in the intertidal isopod *Gnorimosphaeroma oregonense* (Crustacea: Isopoda). *Biological Bulletin*, **187**: 99-111.

Carvacho, A. 1989. Sur l'appendix masculina chez *Salmones* (Decapoda, Alpheidae). *Crustaceana*, **57**: 253–256.

Charniaux-Cotton, H., & G. Payen. 1985. Sexual differentiation. In: *The Biology of Crustacea, Integument, Pigments, and Hormonal Processes*, Vol. 9, pp. 217–299 (L. H. Mantel and D. E. Bliss, eds). Academic Press, New York.

Charnov, E.L. 1982. *The Theory of Sex Allocation*. Princeton University Press, New Jersey.

Christoffersen, M.L., 1982. Distribution of warm water alpheid shrimps (Crustacea, Caridea) on the continental shelf of eastern South America between 23° and 35° Lat. S. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, **31**: 93-112.

Correa, C. & M. Thiel. 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.

Dardeau, M.R. 1984. *Synalpheus* shrimps (Crustacea: Decapoda: Alpheidae). I. The gambarelloides group, with a description of a new species. *Mem Hourglass Cruises*, **2**: 1–125.

Felder, D.F. 1982. Reproduction of the snapping shrimps *Synalpheus fitzmuelleri* and *S. apioceros* (Crustacea: Decapoda: Alpheidae) on a sublittoral reef off Texas. *Journal of Crustacean Biology*, **2**: 535–543.

Fiedler, G.C. 1998. Functional, simultaneous hermaphroditism in female-phase *Lysmata amboinensis* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae). *Pacific Science*, **52**: 161–169.

Fransen, C.H.J.M. 1991. *Salmoneus sketi*, a new species of alpheid shrimp (Crustacea: Decapoda: Caridea) from a submarine cave in the Adriatic. *Zoologische Mededelingen*, **65**: 171–179.

Gavio, M.A., Orensanz, J.M. & Armstrong, D. 2006. Evaluation of alternative life history hypotheses for the sand shrimp *Crangon franciscorum* (Decapoda: Caridea). *Jornal of Crustacean Biology*, **26**: 295–307.

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.

Ghiselin, M.T. (1969) The evolution of hermaphroditism among animals. *Quarterly Review of Biology*, **44**: 189–208.

Hartnoll, R.G. 1974. Variation in growth pattern between some secondary sexual charaters in crabs (Decapoda, Brachyura). *Crstaceana*, **27**: 131–136.

Hoffman, D.L. 1969. The development of the androgenic glands of a protandric shrimp. *The Biological Bulletin*, **137**: 286–296.

Holthuis, L.B. 1990. Notes on *Salmoneus arubae* (Schmitt, 1936) (Crustacea, Decapoda, Caridea). *Beaufortia*, **41**: 109–113.

Huxley, J.S. 1950. Relative growth and form transformation. *Proceedings of the Royal Society of London*, London, **137**: 465-469.

Junqueira, L.C.U. & JUNQUEIRA, L.M.M.S. 1983. *Técnicas básicas de citologia e histologia*. Santos Editora, São Paulo.

Kim, D.H., Choi, J.H., Kim, J.N., Cha, H.K., Oh, T.Y., Kim, D.-S. & Han, C.-H. 2006. Gonad and androgenic gland development in relation to sexual morphology in *Pandalopsis japonica* Balss, 1914 (Decapoda, Pandalidae). *Crustaceana*, **79**: 541–554.

Laubenheimer, H., & Rhyne, A.L. 2008. Experimental confirmation of protandric simultaneous hermaphroditism in a caridean shrimp outside of the genus *Lysmata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **88**: 301-305.

Mello, M.L. & VIDAL, B.C. 1980. *Práticas de Biologia Celular*. Edigard Blücher Ltda, São Paulo.

Nakashima, Y. 1987. Reproductive strategies in a partially protandrous shrimp, *Athanas kominatoensis* (Decapoda: Alpheidae): sex change as the best of a bad situation. *Journal of Ethology*, **5**: 145-159.

Oliveira, M.V., Costa-Souza, A.C., Guimarães, F.J., Almeida, A.O. & Baeza, J.A. 2015. Observation on the life history of a rare shrimp, *Salmonus carvachoi* (Crustacea: Caridea: Alpheidae), a possible simultaneous hermaphrodite. *Marine Biodiversity Records*, **8**: e141.

Oliveira, M.V, Costa-Souza, A.C., Mariano, R. & Almeida, A.O. 2018. Fecundity, embryo size and embryo loss in the estuarine shrimp *Salmonus carvachoi* Anker, 2007 (Crustacea: Alpheidae) from a tidal mudflat in northeastern Brazil. *No prelo*.

Onaga, H., Fiedler, G.C. & Baeza, J.A. 2012. Protandric simultaneous hermaphroditism in *Parhippolyte misticia* (Clark, 1989) (Caridea: Hippolytidae): implications for the

evolution of mixed sexual systems in shrimp. *Journal of Crustacean Biology*, **32**: 383–394.

Pescinelli, R.A., Davanzo, T.M, Pantaleão, J.A.F, Carvalho-Batista, A., Bauer, R.T, Costa, A.R.C. 2017. Population dynamics, relative growth and sex change of the protandric simultaneous hermaphrodit *Exhippolysmata oplophoroides* (Caridea: Lysmatidae) Close to an upwelling area. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, DOI: 10.1017/S0025315416001880.

Policansky, D. 1982. Sex Change in Plants and Animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **13**:417-495.

Rasband, W.S. 2006. *ImageJ: image processing and analysis in Java*. Bethesda, MD: National Institutes of Health, Research Services Branch Bethesda, MD.

Schatte, J. & Saborowski, R. 2006. Change of external sexual characteristics during consecutive moults in *Crangon crangon* L. *Helgoland Marine Research*, **60**: 70–73.

Suzuki, H. 1970. Taxonomic review of four alpheid shrimps belonging to the genus *Athanas*, with reference to their sexual phenomena. *Science Reports of the Yokohama National University*, **17**: 1-37.

Tomlinson, J. 1966. The advantages of hermaphroditism and parthenogenesis. *Journal of Theoretical Biology*, **11**: 54-58.

Tóth, E. & Bauer, R.T. 2007. Gonopore sexing technique allows determination of sex ratios and helper composition in eusocial shrimps. *Marine Biology*, **151**: 1875-1886.

Ventura, T., Rosen, O. & Sagi, A. 2011a. From the discovery of the crustacean androgenic gland to the insulin-like hormone in six decades. *Geeral and Comparative Endocrinology*, **173**: 381–388.

Ventura, T., Manor, R., Aflalo, E.D., Weil, S., Khalaila, I., Rosen, O. & Sagi, A. 2011b. Expression of an androgenic gland-specific insulin-like peptide during the course of

prawn sexual and morphotypic differentiation. *International Scholarly Research Notices: Endocrinology*, **2011**: 476283.

Vera-Caripe, J., Lira, C., Montoya, H., Hernández-Flores, X. 2015. First record of *Salmoneus carvachoi* Anker, 2007 (Crustacea: Decapoda: Alpheidae) in waters of Venezuela. *Saber*, **27**: 347-351.

Warner, R.R. 1975. The adaptive significance of sequential hermaphroditism in animals. *American Society of Naturalists*, **109**: 61-82.

Zar, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

FIGURAS

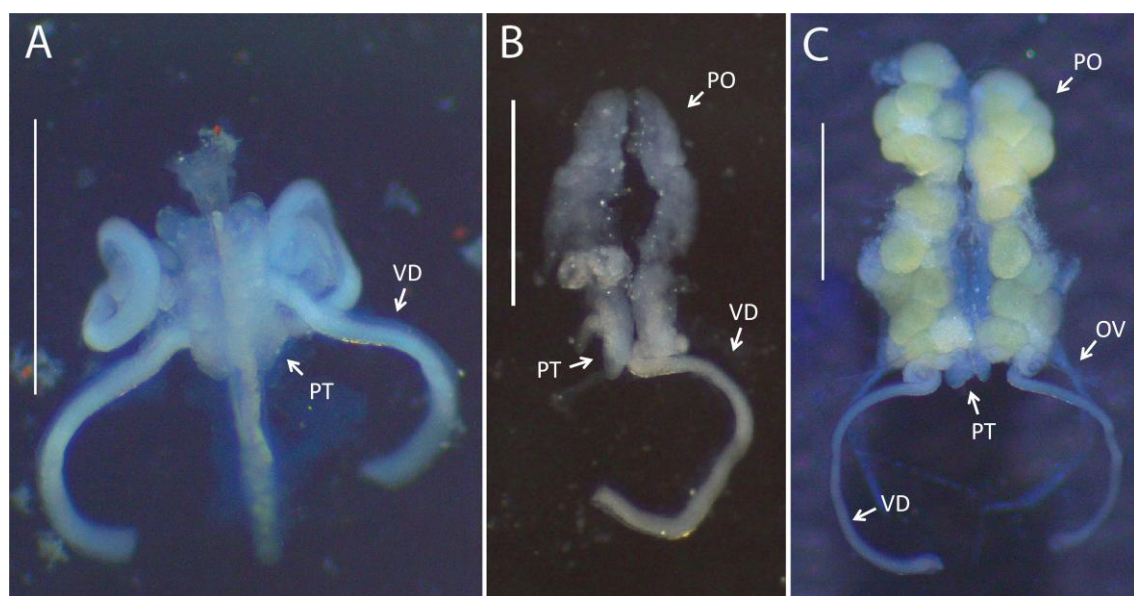


Figura 1. *Salmoneus carvachoi* Anker, 2007: gônadas de indivíduos em diferentes formas sexuais (vista dorsal). A, indivíduo FM; B, indivíduo transicional; C, indivíduo FHS. OV = oviduto, PO = porção ovariana, PT = porção testicular, VD = vaso deferente. Escala: 1 mm.

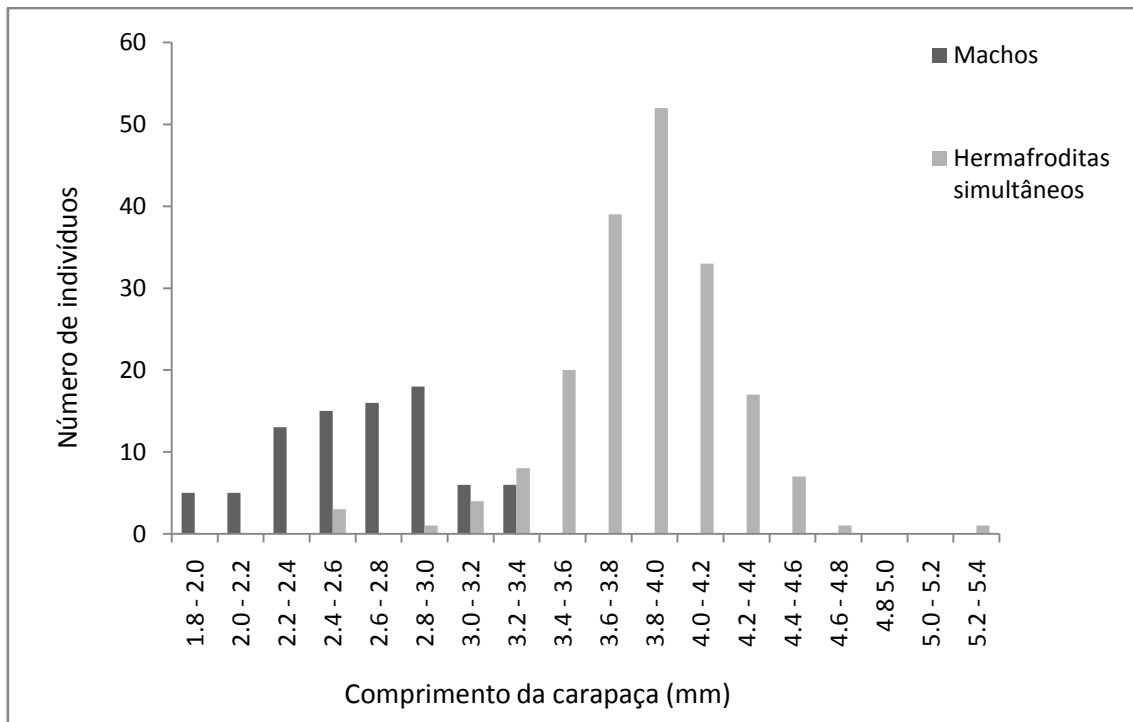


Figura 2. *Salmoneus carvachoi* Anker, 2007: distribuição por freqüência de classe de tamanho do total de indivíduos coletados.

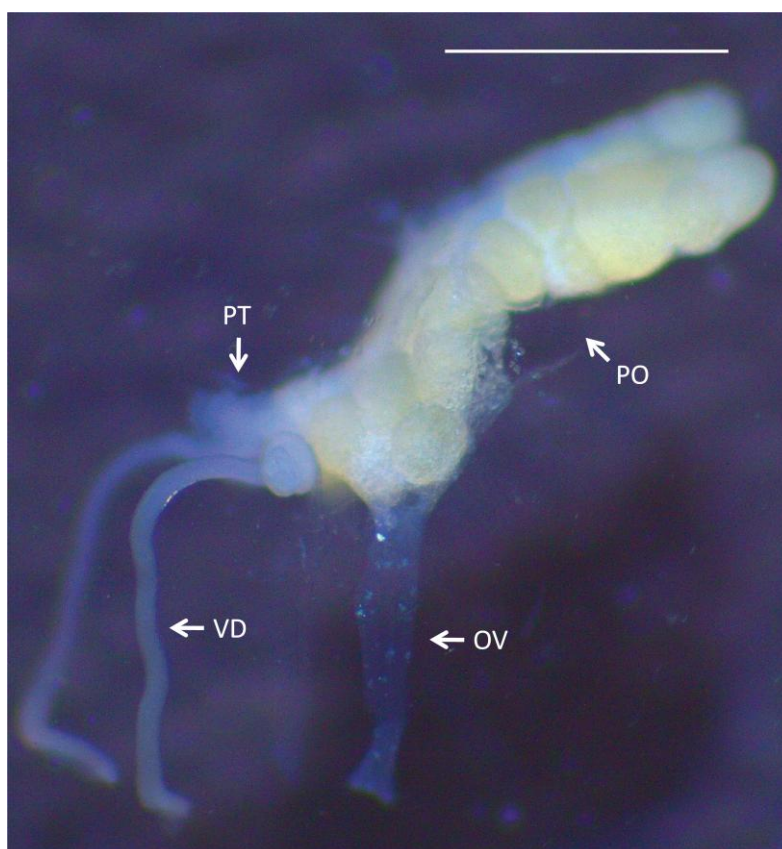


Figura 3. *Salmonus carvachoi* Anker, 2007: gônada de um indivíduo FHS (vista lateral). OV = oviduto, PO = porção ovariana, PT = porção testicular, VD = vaso deferente. Escala 1 mm.

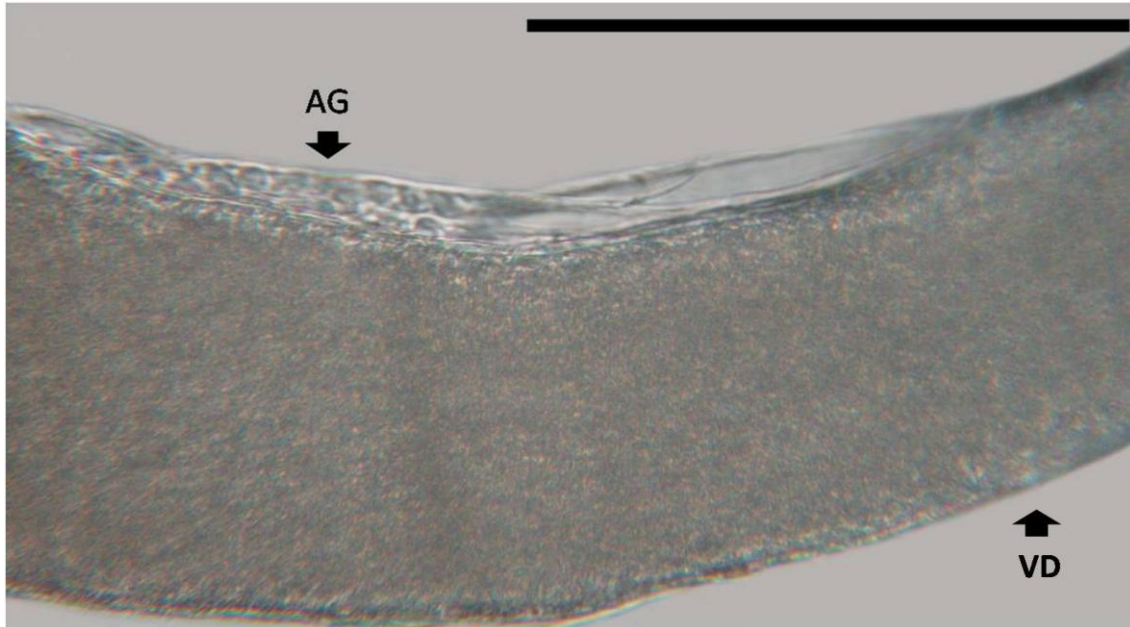


Figura 4. *Salmonus carvachoi* Anker, 2007: glândula androgênica junto à porção distal do vaso deferente de um indivíduo FHS. GA = glândula androgênica, VD = vaso deferente. Escala: 0,1 mm.

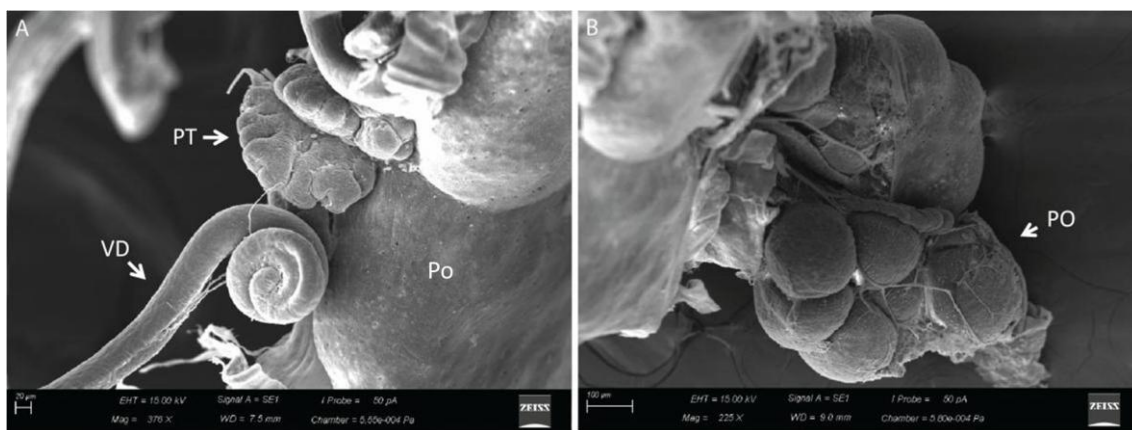


Figura 5. *Salmonus carvachoi* Anker, 2007: imagem de microscopia eletrônica de varredura da porção testicular (A) e ovariana (B) do ovotestículo de um indivíduo FHS. PO = porção ovariana, PT = porção testicular, VD = vaso deferente.

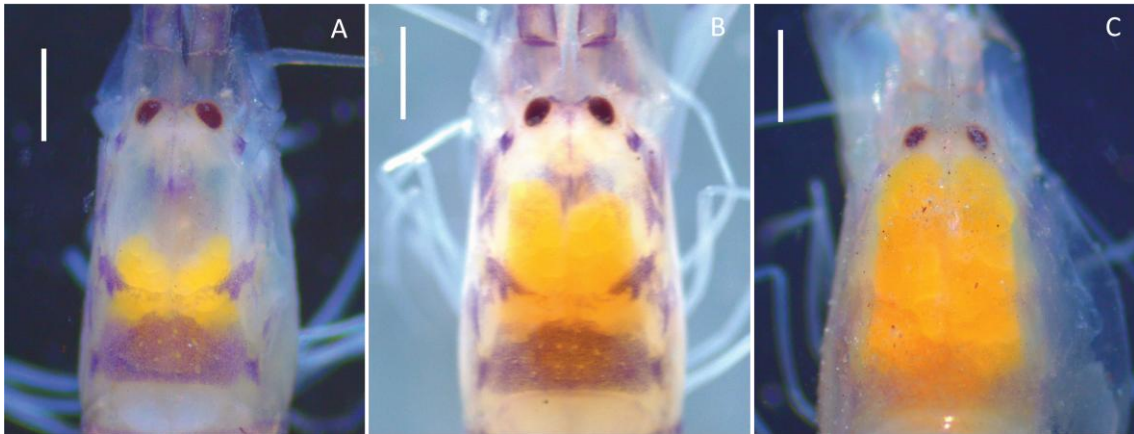


Figura 6. *Salmoneus carvachoi* Anker, 2007: graus de desenvolvimento inicial (A), médio (B) e avançado (C) da porção ovariana do ovotestículo de indivíduos FHS, visualizado através da transparência da carapaça. Escala: 1 mm.

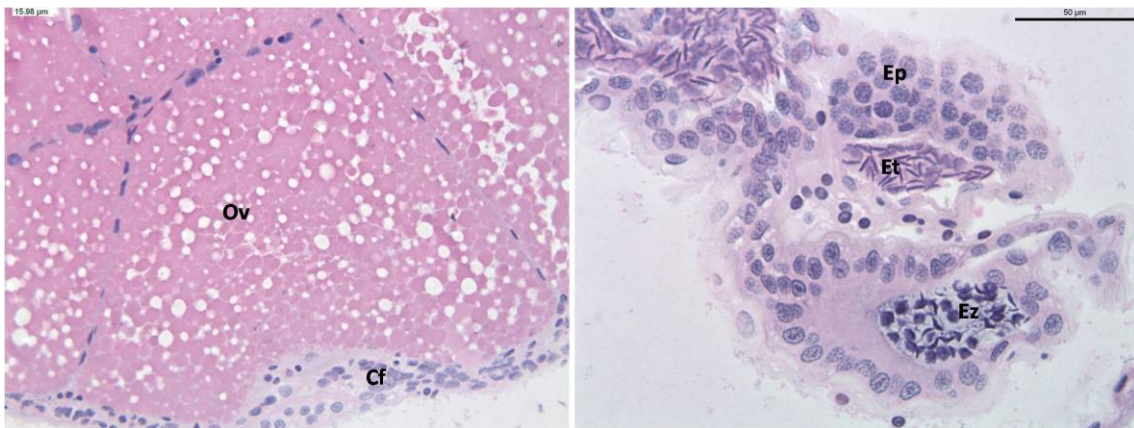


Figura 7. *Salmoneus carvachoi* Anker, 2007: cortes histológicos da porção ovariana (A) e testicular (B) do ovotestículo de um indivíduo FHS, indicando a presença simultânea de gametas masculinos e femininos. Cf = células foliculares, Ep = espermatócitos, Et = espermátides, Ez = espermatozóides, Ov = oócitos vitelogênicos.

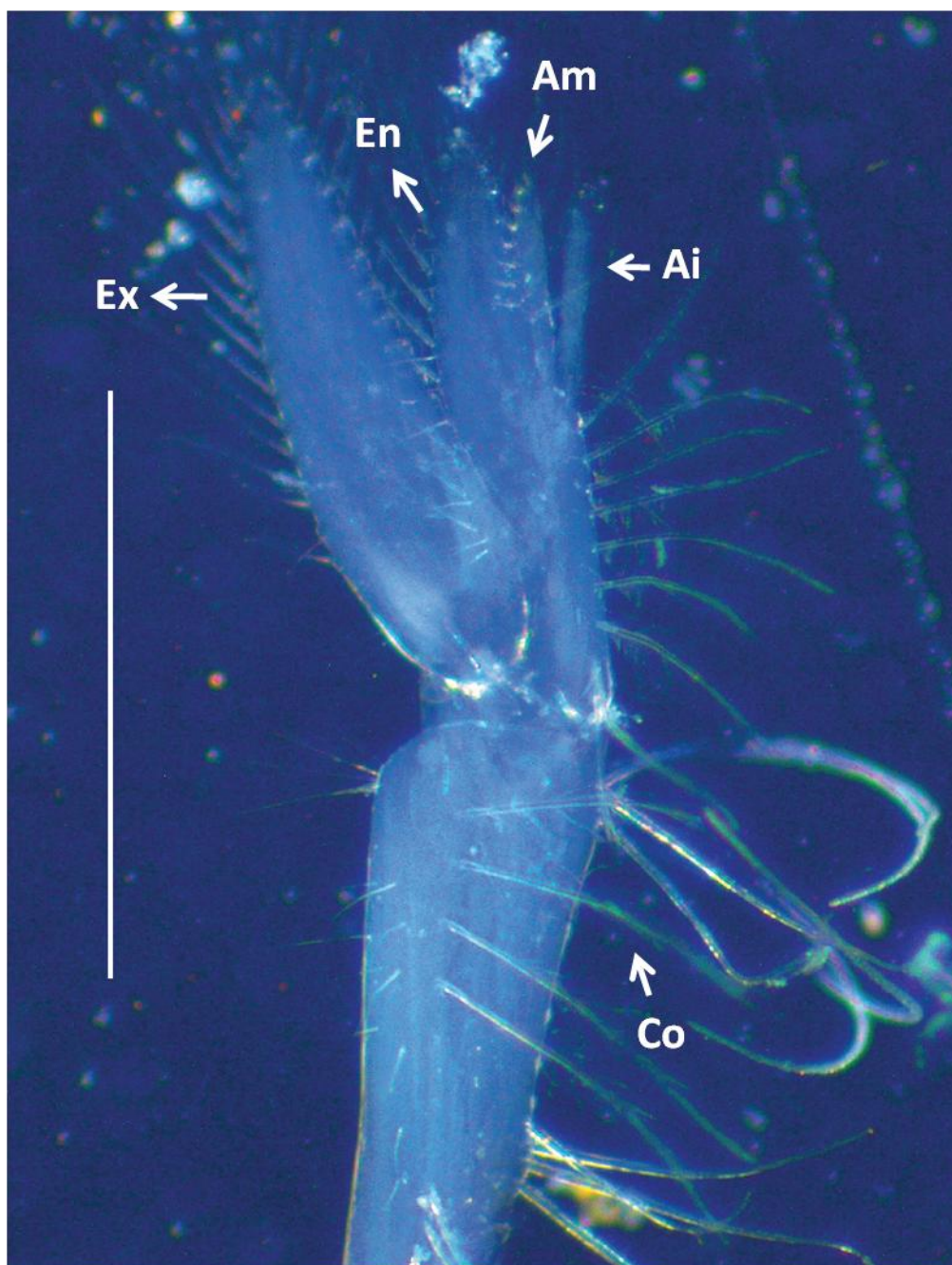


Figura 8. *Salmoneus carvachoi* Anker, 2007: segundo pleópodo de um indivíduo FHS. Ai = apêndice interna, Am = *appendix masculina*, Co = cerdas ovígeras, En = endopodito, Exopodito. Escala: 1 mm.

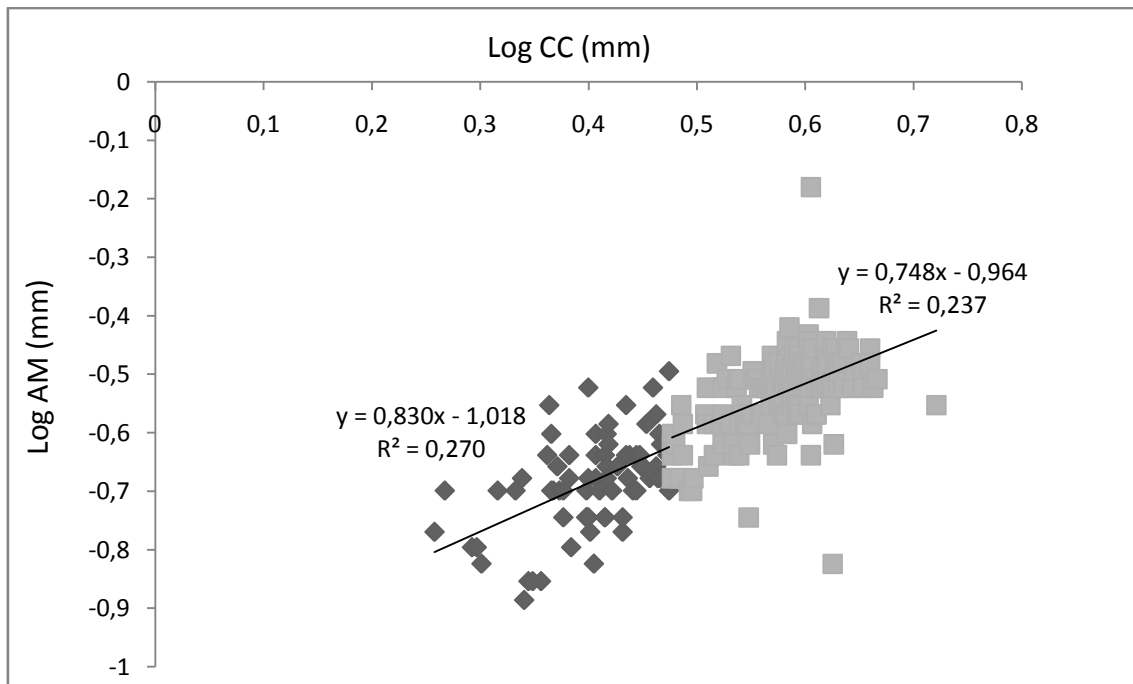


Figura 9. *Salmoreus carvachoi* Anker, 2007: gráfico representativo para a relação alométrica negativa entre o comprimento do *appendix masculina* e comprimento da carapaça de indivíduos FM e FHS. $\diamond$ = fase masculina, $\square$ = fase hermafrodita simultânea. AM = *appendix masculina*, CC = comprimento de carapaça.

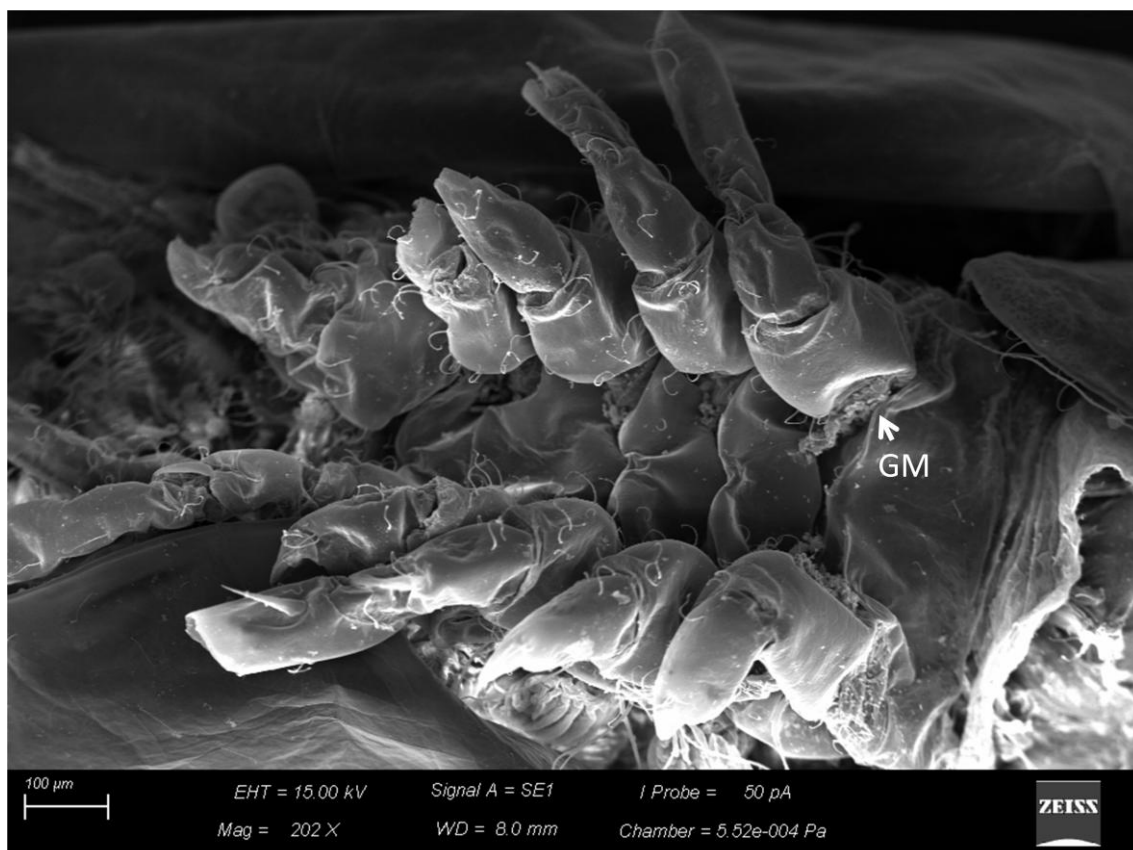


Figura 10. *Salmones carvachoi* Anker, 2007: imagem de microscopia eletrônica de varredura da região torácica ventral, mostrando o gonóporo masculino localizado na base da coxa do quinto par de pereiópodos de um indivíduo FM. GM = gonóporo masculino.

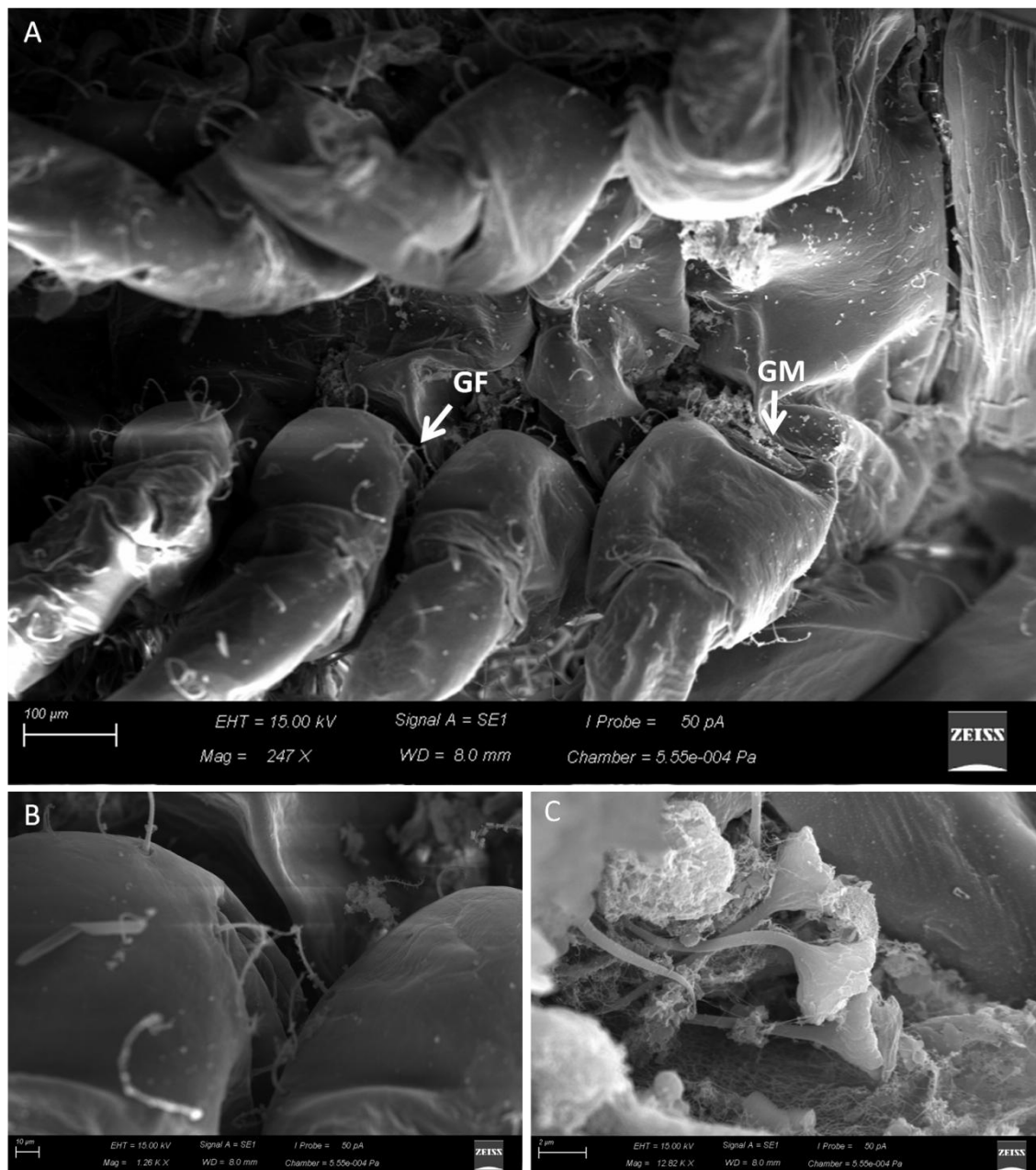


Figura 11. *Salmones carvachoi* Anker, 2007: imagem de microscopia eletrônica de varredura da região torácica ventral, mostrando os gonóporos masculinos e femininos de um indivíduo FHS. A, gonóporos feminino e masculino localizados na base da coxa do terceiro e quinto par de pereiópodos, respectivamente; B, imagem aumentada da abertura genital feminina; C, imagem aumentada da abertura genital masculina,

mostrando espermatozóides em formato de guarda chuva invertido, na região externa.

GF = gonóporo feminino, GM = gonóporo masculino.

Journal of Crustacean Biology

Instructions to Authors

Scope

The *Journal of Crustacean Biology* (JCB) is the official journal of The Crustacean Society (TCS). JCB is a peer-reviewed, bimonthly scientific journal containing articles of broad interest on the biology of crustaceans and other marine arthropods and pertinent TCS announcements. Articles are published in English only. See current online issues here:

<https://academic.oup.com/jcb/issue>

Editor-in-Chief

Peter Castro (Professor Emeritus, California State Polytechnic University, Pomona, CA, USA); e-mail: jcb@cpp.edu

Ethical and Legal Conditions

Authors should observe high standards with respect to publication ethics as set out by the [Commission on Publication Ethics \(COPE\)](#). Falsification or fabrication of data, plagiarism (including duplicate publication of the authors' own work) without proper citation, and misappropriation of the author's work are all unacceptable practices. Any cases of ethical misconduct are treated very seriously and will be dealt with in accordance with the COPE guidelines.

Submissions

Authors are asked to submit their manuscript online via the Editorial Manager (EM) online submission system at <http://jcb.edmgr.com/>. First-time users of the EM site need to register first. Go to the website and click on the “Register Now” link in the login menu. Enter the information requested.

Select e-mail as your preferred method of contact when you register. Upon successful registration, you will receive an e-mail message containing your Username and Password. If you should forget your Username and Password, click on the “Send Username/Password” link in the login section, and enter your first name, last name, and e-mail address exactly as you had entered it when you registered. Your access codes will then be e-mailed to you.

Prior to submission, authors are strongly encouraged to read these Instructions. When submitting via the website, you will be guided step-by-step through the submission process. A revised document is uploaded the same way as the initial submission. The system automatically generates an electronic (PDF) proof, which is then sent for reviewing purposes. All correspondence, including the editor’s request for revision and final decision, is sent by e-mail.

Peer Review

All submissions to the journal are initially reviewed by the Editor-in-Chief and/or an assigned Associate Editor. At this stage manuscripts may be rejected without peer review, if it is deemed that they are not of high enough quality or outside the scope of the journal. This fast rejection process means that authors are given a quick decision and do not need to wait for the review process.

Manuscripts that are not rejected are sent out for peer review, usually to at least two independent reviewers. Based on the feedback from these reviewers and the judgment of the Associate Editor and the Editor-in-Chief, a decision is rendered on the manuscript. Suggestions for revisions are then sent to the author.

For information on the journal's review process or a manuscript's progress, please check your Author Area in the EM site or contact the *JCB* Editorial Office at jcb.editorialoffice@oup.com.

The editorial board strives to keep the review process as short as possible and aims to inform the author of a decision within two months after submission.

Language

JCB accepts American or British spelling, which must be consistently applied throughout. Metric units of measurement are to be used. Authors whose native language is not English must take particular care. We recommend that such authors either involve a native speaker, someone who is highly proficient in writing scientific English, or consult an organization for editing assistance (please see Language Editing below).

Language Editing

Language editing does not guarantee that your manuscript will be accepted for publication. Please [click here](#) for further information on available services. Authors are liable for all costs associated with such services.

Manuscript Structure

Format and Style of Manuscripts

The text should be concise and clear, and contain no footnotes. The original of the manuscript must be double-spaced, leaving margins of at least one inch. Please insert double spacing above headings, number pages consecutively at the top right-hand corner, and use 12 pt Times New Roman font. Manuscripts must be uploaded as an editable Word document. Correspondence regarding the format and style of manuscripts should be sent to the Editor-in-Chief.

Manuscripts must strictly conform to *JCB* format and style. Please consult a *JCB* number published starting in 2017 or later. The sequence of material should be:

1. "Running head" (in capital letters, starting with name of author or authors plus *et al.*, and an abbreviated title)
2. **Title** (centered, in **bold**)
3. Author(s) (all centered: first name in full plus initial of a second name, surname (hyphenated if more than one))
4. *Affiliation(s) of author(s), address including postal code* (in *italics*)
5. "Correspondence" (name and e-mail of corresponding author; in *italics*)
6. "ABSTRACT"
7. "**Key Words**" (in alphabetical order and not repeating any terms appearing in title)
8. Main text
9. List of supplementary material with short caption
10. "ACKNOWLEDGEMENTS"
11. "REFERENCES"
12. List of figure captions

The abstract should not exceed one doubled-spaced page. It should include: 1) the reason for undertaking the research, 2) a summary of important findings, and 3) implications of these findings.

All generic and binomial names must be in *italics* and followed by the authority. The actual reference for the authorities of genera and species of Crustacea only, but not of suprageneric taxa, must also be included in "References." The World Register of Marine Species (WoRMS) [<http://www.marinespecies.org/>] is an excellent source of information on authorities and associated references. You are not required to supply the references for taxonomic authorities for articles focusing on areas such as biochemical processes, genetics, genomics, and physiology, unless stipulated by the Editor-in-Chief.

All publications referred to in the text must be listed in "References." References of three or more authors will be cited in the text using the surname of the first author followed by "*et al.*" Multiple references cited in the text

must be arranged chronologically (not alphabetically) and separated by semi-colons: “(Herreid & Full, 1988; Boxshall & Halsey, 2004).”

Titles in “References” must be arranged alphabetically by the surname of the first author followed by initials (no space between initials) and, if having two or more authors with the same first author, must be listed alphabetically by second author, not chronologically. Titles with two authors are listed before those with three or more authors with the same first author. Titles of periodicals must be written in full and in italics, followed by a comma and volume number in **bold**, with en-dashes (–) between page numbers, as follows:

Wehrtmann, I. S., Magalhães, C. & Orozco, M. 2014. Freshwater crabs in Lake Atitlán, Guatemala: not a single-species fishery. *Journal of Crustacean Biology*, **34**: 123–125. [cited as “Whertmann *et al.* (2014)” or “(Whertmann *et al.*, 2014)” in text]

Book titles must be in *italics*, followed by publisher and city and pagination:

Boxshall, G.A. & Halsey, S.H. 2004. *An introduction to copepod diversity*. The Ray Society, London. [cited as “Boxshall & Halsey (2004)” or “(Boxshall & Halsey, 2004)” in text]

Articles in a book:

Herreid, C.F. & Full, R.J. 1988. Energetics and locomotion. In: *Biology of the land crabs* (W.W. Burggren & B.R. McMahon, eds.), pp. 337–377. Cambridge University Press, Cambridge, UK. [cited as “Herreid & Full (1988)” or “(Herreid & Full, 1988)” in text]

Theses:

Treat as books, with university (together with location) instead of publishers, indicating if it is a Ph.D., M.S., M.A., or M.Sc. thesis:

Feng, L. 2011. *The effect of dietary HUFA on the ovary development and tissue biochemical composition of the swimming crab P. trituberculatus*. M.S. thesis, Shanghai Ocean University, Shanghai, China.

A manuscript model ([click here](#)) provides additional detailed instructions for the preparation of manuscripts.

Description of New Taxa

Any descriptions of single species must be accompanied by discussions or reviews that apply information gained from the new species to broader questions of systematics/phylogeny, biogeography/ecology, and/or comparative biology. Unless justified, the authors of new taxa should not exceed three, and the authors of the article describing such taxa should be the same. New names of taxa must be proposed in accordance with the relevant Articles of the International Code of Zoological Nomenclature (ICZN) [<http://www.iczn.org/iczn/index.jsp>] and with due attention to the Code's Appendix A (Code of Ethics) and Appendix B (General Recommendations, particularly concerning the establishment and formation of new names). Descriptions must be in telegraphic style.

Immutable Advance Access. *JCB* publishes articles online ahead of inclusion in an issue via OUP's Advance Access.

In order to comply with the requirements of ICZN with regard to nomenclatural works, ALL articles, regardless of whether they include nomenclatural information, that are published in *JCB* will be immutable from their publication date; this means that no changes will be allowed to any article without the publication of an erratum clearly stating the changes that have been made. Therefore, it is the responsibility of the authors to carefully check their proofs for accuracy, and to notify the publisher of any changes that are necessary prior to Advance Access publication.

Nomenclatural Works. Articles describing new taxa and other proposing nomenclatural and/or taxonomic acts (establishment of neotypes, new name

combinations, etc.) are first published online as Advance Access. You will be asked during the submission process whether your article contains a nomenclatural act such as the description of a new taxon. For such an electronic publication to be an available work, the ICZN requires new taxa to be accompanied by a ZOOBANK registration number (LSID), which will be obtained by the Editor-in-Chief. We will insert a nomenclatural statement, which includes the LSID number, into the article. Your article will also include the online publication date, and the statement “Version of Record, first published online [online publication date], with fixed content and layout in compliance with Art. 8.1.3.2 ICZN.”

Figures and Tables

Figure and table files must be uploaded separately onto the Editorial Manager site of *JCB* at the same time as the submission of the manuscript (see above). All table and figure captions must be self-explanatory and not include reference to the manuscript text. Please upload figures as .tiff files (.jpg, .jpeg, or .eps files are not acceptable) at a resolution of 600 dpi for line art and 300 dpi for photo art. Table files must be in Word format. All figures and tables should be cited in the main text following strict numerical order. The approximate positions of figures and tables will be indicated in the text file by the Editor-in-Chief.

Figures must be in final form for printing, and all lettering should be of professional quality and be provided by the author(s). Multiple components of figures should be designated in uppercase letters, for example Figure 1A and Figure 1B. Figure captions for all illustrations should be printed together on one or more separate pages and should always mention the name(s) of the species concerned, if relevant.

For more detailed information on how to submit figure files, please see the Oxford Journals page on figures: https://academic.oup.com/journals/pages/authors/preparing_your_manuscript. You can also send queries about figure files to jcb.editorialoffice@oup.com.

Each table must be provided with a concise and clear heading and be numbered with an Arabic numeral. The formatting of tables should be consistent throughout the manuscript. Vertical rules should be avoided. Tables and figures should be kept to a minimum; authors are strongly encouraged to include figures and long tables as Supplementary Material (see below).

Supplementary Data

Submit all material to be considered as supplementary material, which consists of tables, figures, and/or appendices that will not appear in the printed issue, but that will be available to readers of *JCB* online. Ensure that the supplementary material is referred to in the manuscript. The authors should also ensure that these files are clearly and succinctly presented, that the style conforms with the rest of the manuscript, and that the presentation will work on any Internet browser. It is not recommended for the files to be more than 2 MB each, although exceptions can be made at the Editorial Office's discretion.

Research Notes

Manuscripts for Research Notes should not exceed 10 pages. The format, style, and sequence of material must be the same as that of regular research articles (see above) except that the text itself will not be subdivided into sections ("Introduction," "Material and Methods," etc.). The abstract must be short and concise.

Publication Costs

Page charges (£75/US\$120/€90) are optional for TCS members, mandatory for non-members. Page charges will be waived to TCS members for the first 12 pages of the typeset article, which will be determined when the proof is ready for author approval. To qualify for the page-charges waiver, at least half of the authors of a manuscript must be TCS members at the time of submission. Please check membership status and obtain membership numbers from Burk Inc tcs@burkinc.com. All authors are nevertheless required to pay

for color figures appearing in the printed version (£220/US\$350/€264 per figure). Color figures are free for the online version.

Proofs

Authors will receive a link to the PDF proof of their article on our online system by email, so it is essential that a current email address be supplied at submission. Proofing instructions will accompany the PDF file but the proof should be checked immediately upon receipt and uploaded in accordance with the instructions. Only essential corrections should be made at the proof stage.

Accepted manuscripts arrive at OUP and go through the production process until the final versions are ready to publish. These are then published on Advance Access, remaining on this page until they appear in a printed issue.

Offprints

All contributors of published articles will have free online access to the PDF and HTML version of their article, to which links can be created from an institutional or firm website.

Authors of accepted articles can order article offprints during the publication process. All authors are sent an individual link (after acceptance) to the Author Services site, where they are able to order offprints and single issues.

Copyrights and Consent to Publish

Transfer of Copyright

By submitting a manuscript, the author agrees that the copyright for the article is transferred to The Crustacean Society if and when the article is accepted for publication. For that purpose the author needs to sign online the License to Publish that will be sent via a link in the “Welcome Email” to the author when the article is first entered into production at Oxford University Press.

Third-Party Copyrights

In order to reproduce any third-party material, including tables, figures, or images, in an article, authors must obtain permission from the copyright holder and be compliant with any requirements the copyright holder may have pertaining to this reuse. When seeking to reproduce any kind of third party material authors should request the following:

- non exclusive rights to reproduce the material in the specified article and journal
- print and electronic rights, preferably for use in any form or medium
- the right to use the material for the life of the work
- worldwide English-language rights

It is particularly important to clear permission for use in both the print and online versions of the journal; we are not able to accept permissions which carry a time limit because we retain journal articles as part of our online journal archive. Further guidelines on clearing permissions can be found [here](#).

If you will be publishing your paper under an Open Access license but it contains material for which you do not have Open Access reuse permissions, please state this clearly by supplying the following credit line alongside the material:

Title of content Author, Original publication, year of original publication, by permission of [rights holder]

Conflict of Interest

Oxford University Press requires declaration of any conflict of interest upon submission online. If the manuscript is published, conflict of interest information will be communicated in a statement in the published paper.

Permissions and Self-Archiving

<http://www.oxfordjournals.org/en/access-purchase/rights-and-permissions.html>

<http://www.oxfordjournals.org/en/access-purchase/rights-and-permissions/self-archiving-policy.html>

Open Access

JCB authors have the option to publish their article under the Oxford Open initiative, whereby, for a charge (see below), their article will be made freely available online immediately upon publication.

After your manuscript is accepted, the corresponding author will be required to accept a mandatory license-to-publish agreement. As part of the licensing process you will be asked to indicate whether or not you wish to pay for open access. If you do not select the open access option, your paper will be published with standard subscription-based access and you will not be charged.

Licenses

Authors publishing in *JCB* can use the following licenses for their articles:

- Creative Commons Attribution license (CC BY)
- Creative Commons Non-Commercial license (CC BY-NC)

Please [click here](#) for more information about Creative Commons licenses.

We also offer the UK Crown copyright and US Government license options.

Charges

The Open Access charges are as follows:

- TCS member charge: £1470 / \$2352 / €1852
- Regular charge: £1838 / \$2940 / €2315
- Reduced Rate Developing country charge*: £919 / \$1470 / €1158
- Free Developing country charge*: £0 / \$0 / €0

*Visit our developing countries page ([click here](#) for a list of qualifying countries).

You can pay Open Access charges using our Author Services site. This will enable you to pay online with a credit/debit card, or request an invoice by email or post.

Please note that if an author elects to publish Open Access, page charges do not apply and the author will be eligible for one free color figure.

Orders from the UK will be subject to the current UK VAT charge. For orders from the rest of the European Union, OUP will assume that the service is provided for business purposes. Please provide a VAT number for yourself or your institution, and ensure you account for your own local VAT correctly.

Fecundity, embryo size and embryo loss in the estuarine shrimp *Salmones carvachoi*

Anker, 2007 (Crustacea: Alpheidae) from a tidal mudflat in northeastern Brazil

M.V. Oliveira^{1*}, A.C. Costa-Souza², R. Mariano¹ and A.O. Almeida²

¹Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brazil, ²Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Av. Moraes Rêgo, 1235, Cidade Universitária. 50670-901 Recife, Pernambuco, Brazil. *mario_biovitor@hotmail.com

ABSTRACT

In crustaceans, studies on fecundity, embryo size, and reproductive investment have been frequently used to make inferences about the reproductive potential, embryogenesis, and the energy investment in embryo production in a species. These information are considered relevant to the knowledge of life-history and of the reproductive strategies diversity developed for this group. This study addressed the embryo production of the estuarine shrimp *Salmones carvachoi*, a poorly known caridean. We investigated whether there is a correlation between fecundity and carapace length, if there is an increase in embryo volume among the stages of embryonic development, and if there is embryo loss along development. In addition, we investigated whether the height and width of the pleura of the second abdominal somite and sternite length are correlated with fecundity, being a good predictor of the fecundity. A total of 53 embryo-carrying individuals were collected in December 2016 and February 2017 in a tidal mudflat from the estuary of the Paripe River, Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brazil. The specimens's carapace length ranged from 3.23 to 4.64 mm (3.78 ± 0.26 mm). We obtained 25 individuals with embryos in initial stage, 5 in intermediate stage and 15 in final stage. Fecundity ranged from 14 to 67 (33.65 ± 12.51 embryos) and was weakly positively correlated with carapace length. On the other hand, fecundity demonstrated a strong positive correlation

with width of the second sternite and width of the pleura of the second abdominal somite. Embryo volume undergoes a significant increase (93%) from the initial to the final stage of development that might be caused due to water uptake, which facilitates the membrane rupture at the time of larvae hatching. There was significant loss of embryos only from the initial to the intermediate stage. Future studies on the embryo production of other species of *Salmones* are necessary to understand and compare information on these aspects of reproductive biology.

Key words: Caridea, abdominal space, embryogenesis, reproductive biology, reproductive potential.

INTRODUCTION

Among the several reproductive aspects studied in crustaceans, data on fecundity, embryo size, and reproductive investment are important for understanding the reproductive potential, embryogenesis, and the energy investment in embryo production, being relevant to the knowledge of life-history and type of adopted reproductive strategy (Corey & Reid, 1991; Anger & Moreira, 1998; Hattori & Pinheiro, 2003). Generally, the reproductive strategy can be affected mainly by genetic and environmental factors (especially temperature and food availability) (Sastry, 1993; Lardies & Wehrtmann, 1997; Bázan *et al.*, 2009). In caridean shrimp, these strategies may vary among populations of the same species in different habitats, as well as among populations of different species living in the same habitat (Corey & Reid, 1991; Anger & Moreira, 1998; Pavanelli *et al.*, 2010).

Among the various approaches in the study of crustacean reproductive biology, linear and nonlinear regression models are frequently used to describe relationships among variables such as fecundity, embryo volume and mass, ovary size, body size and weight, among others (Corey & Reid, 1991; Anger & Moreira, 1998). Positive correlations between fecundity and carapace length have been observed in most studies on shrimps of the Infraorder Caridea,

indicating that as females increase in size, fecundity also increases. This morphological analysis demonstrates that the ability to produce oocytes is positively related to female growth. In addition, the larger the female the greater the abdominal space (where the embryos are carried) (Balasundaram & Pandian, 1982; Bauer, 1991; Anger & Moreira, 1998). The increase in embryo mean volume coupled with losses in embryo number has also been observed throughout development in carideans (Balasundaram & Pandian, 1982; Corey & Reid, 1991; Anger & Moreira, 1998). Within the family Alpheidae these two pattern has been verified in species of the genus *Alpheus* Fabricius, 1798 (Fernández-Muñoz & Garcia-Raso, 1987; Bauer, 1991; Corey & Reid, 1991; Wehrtmann & Graeve, 1998; Atkinson *et al.*, 2003; Pavanelli *et al.*, 2008, 2010; Harikrishnan *et al.*, 2010; Costa-Souza *et al.*, 2014; Pescinelli *et al.*, 2017; Soledade *et al.*, 2017), *Betaeus* Dana, 1852 (Lardies & Wehrtmann, 1997, 2001) and *Synalpheus* Spence Bate, 1888 (Corey & Reid, 1991; Hernáez *et al.*, 2010; Rebolledo *et al.*, 2014).

Salmones Holthuis, 1955 is the third richest genus among alpheids, with more than 50 species distributed worldwide (De Grave & Fransen, 2011; Anker, 2011a, b; Komai & Anker, 2012; Anker *et al.*, 2014; Anker & Lazarus, 2015; Komai *et al.*, 2015; Duris & Horká, 2016). *Salmones carvachoi* Anker, 2007 has distribution in the Western Atlantic, can be found in the Mexico, Guadeloupe, Venezuela and Brazil (from Paraíba to São Paulo). This estuarine shrimp is commonly found in burrows on muddy bottoms, mangroves, mud flats, and under rocks and debris (Christoffersen, 1982; Anker, 2010, 2007; Almeida *et al.*, 2012). Studies on this species are scarce and limited to taxonomy and distribution [(e.g. Ramos-Porto *et al.*, 1994, as *S. ortmanni* (Rankin, 1898); Anker 2010, 2007; Almeida *et al.*, 2012)], observations on its life-history, such as population structure, symbiotic relationships with other crustaceans, and possible mating and sexual system (Oliveira *et al.*, 2015). *Salmones carvachoi* has been recorded in burrows of the snapping shrimps *Alpheus estuariensis* Christoffersen, 1984 and *A. chacei* Carvacho, 1979, as well as of the mud shrimp *Axiopsis australis* Rodrigues & Shimizu, 1992 (Ramos-Porto *et al.*, 1994, as *S. ortmanni*; Almeida *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2015). The

occurrence of simultaneous hermaphroditism was suggested based on the observation of the *appendix masculina* in all individuals, including those carrying embryos, as well as the observation of pairs formed by two brooding individuals (Oliveira *et al.*, 2015). There is currently no information available on any aspects of embryo production in *Salmones*.

The aim of this study was to investigate the embryo production in *S. carvalhoi*. We investigated whether there is a correlation between fecundity and carapace length; if there is any increase in the embryo volume along development; and if there is loss of embryos along the development, as observed in most of the previous studies with caridean shrimps.

In caridean shrimps, the first three abdominal somites are the main structure which provide increased abdominal space for embryo mass incubation (Bauer, 2004). The pleurae of the second abdominal somite in shrimps of this infraorder highlight for overlap the first and third (Bauer, 2004). Because this is the largest pleura, possibly this structure contributes to greater availability of space and protection of the embryo mass in *S. carvalhoi*. Following the same logic, we investigated whether the width of the second sternite also contributes to the provision of space for incubation of embryos independently of the existence of correlation between fecundity and the size of a female. For this purpose, we investigated whether the sternite width and the height and width of pleura of second abdominal somite are correlated with fecundity.

MATERIAL AND METHODS

Embryo-carrying individuals were collected in December 2016 and February 2017 in a tidal mudflat in the estuary of the Paripe River, Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brazil (7°48'38.0"S 34°51'22.1"W). The specimens were sampled by stepping on a mud surface layer with burrow openings of the alpheid *A. estuariensis*, where *S. carvalhoi* is commonly found in association. Due to the stepping, the shrimps leave their burrows and swim in the water, where they can be taken with small hand nets and verified whether embryos were present in the abdomen.

After collection, individuals were placed into plastic flasks filled with water from the site, transported to the laboratory, anesthetized on ice and fixed in formalin 5%.

The individuals were photographed in microscope stereoscope with an image capture system. The software ImageJ 1.45s (Rasband, 2006) was used to measure the following variables: carapace length (CL) (distance from the tip of the rostrum to the posterior margin of the carapace); sternite width (SW) (distance between the lower limits of two pleurae of the second abdominal somite); height of the pleura of the second abdominal somite (PH) (distance between the lower and upper limits of the pleura); and width of the pleura of the second abdominal somite (PW) (distance between the posterior and anterior limits of the pleura) (Figure 1). Except for CL, that was measured in all embryo-carrying individuals, the other variables were measured only in individuals carrying embryos in initial stage of development.

The embryos were removed from the abdomen with the use of a brush, placed in a Petri dish, counted and separated in three stages of embryonic development. The eggs' classification followed Wehrtmann's (1990): initial stage (I) = embryos with no evidence of eyes; yolk occupying 75–100% of embryo volume; intermediate stage (II) = embryos with small and elongated eyes; yolk occupying about 50–75% of embryo volume; final stage (III) = embryos with well-developed eyes; yolk occupying 25–50% of embryo volume. In some individuals it was not possible to classify the embryo development stage of the embryo mass, which were whitish, where it was not possible to visualize the pigmentation of the yolk and the eyes.

For volume calculation, the longest and shortest embryo diameters were measured (with the same procedure as for the other variables, see above) from all the embryos presented by each individual. These values were used in the formula proposed by Bauer (1991): $V = (\pi / 6) \times d_1^2 \times d_2$, where v = volume (mm^3), d_1 = shortest diameter and d_2 = longest diameter. The mean embryo volume in each stage of development was calculated. Mean

fecundity was obtained through the total number of embryos at the initial stage only, in order to avoid bias due to embryo loss in stages II and III (Balasundaram & Pandian, 1982).

The relationships of fecundity vs. CL, fecundity vs. PH, fecundity vs. PW and fecundity vs. SW were verified using linear regression. The best adjusted model was the linear function ($y = bx+a$), where the y correspond the fecundity, dependent variable and x correspond to biometric measures, independent variable. An Analysis of Covariance test (ANCOVA) was performed in order to verify if there are differences between these relations. To verify the variation between fecundity among development stage was used Analysis of Covariance test (ANCOVA) with *a posteriori* Test. In relation egg volume, one-way Analysis of Variance Test (ANOVA) with Student's t-test *a posteriori* was carried to verify possible differences between stages. The probability of significance used in the tests was $P = 0.05$.

RESULTS

We collected a total of 53 ovigerous individuals. The CL ranged from 3.23 to 4.64 mm (3.78 ± 0.26 mm). In individuals carrying embryos in stage I, SW ranged from 1.7 to 2.11 mm (1.85 ± 0.11 mm), PW ranged from 1.65 to 2.3 mm (1.95 ± 0.17 mm), and PH varied from 0.78 to 1.6 (1.09 ± 0.21 mm).

There was a weak positive correlation between fecundity and CL ($F = 4.56$, d.f.= 1, $P < 0.05$) (Fig. 2A). Positive correlations were observed between fecundity and PW ($F = 17.86$, d.f.= 1, $P < 0.05$) and fecundity and SW ($F = 10.52$, d.f.= 1, $P < 0.05$), indicating that the larger these dimensions, the larger the number of embryos carried (Fig. 2B, C). There was no correlation between fecundity and PH ($F = 0.08$, d.f.= 1, $P > 0.05$) (Fig. 2D). The analysis of covariance demonstrated that there were no differences in the slope values between the relations fecundity vs CL, PW and SW ($F = 1.644$, $P > 0.05$), indicating that these structures are good predictors of fecundity.

The volume of embryos varied from 0.03 to 0.06 mm³ (0.04 ± 0.005 mm³), from 0.04 to 0.05 mm³ (0.05 ± 0.003 mm³) and from 0.05 to 0.09 mm³ (0.07 ± 0.008) in embryos in stage I, II and III, respectively (Fig. 3). There was a significant difference in embryo mean volume between stages I and II and between stages I and III, but between stages II and III there was no significant difference ($F = 73.36$, $df = 34.31$, $P < 0.005$) (Table 1), indicating that there was an increase in embryo volume from stage I to II and I to III, and it remained the same from stage II to stage III. We observed a total increase of 93% in embryo mean volume (Tabela 1).

We obtained 25 individuals with embryos in stages I, 5 in stages II and 15 in stages III. The mean initial fecundity was 33.65 ± 12.51 embryos per individual, ranging from 14 to 67. There was a significant decrease ($F = 52.35$, $df = 2$, $P < 0.05$) in mean fecundity between stages I—II (t test *a posteriori*, $P < 0.05$) and I—III (t test *a posteriori*, $P < 0.05$) due to embryo loss from the initial to the intermediate stage. The fecundity did not change between the intermediate and final stage (Table 1).

DISCUSSION

In *S. carvachoi*, a weak positive correlation was observed between embryo number and female size (CL). This result differs from what has been observed in most of studies addressed to caridean shrimps (Balasundaram & Pandian, 1982; Bauer, 1991; Corey & Reid 1991; Anger & Moreira, 1998, Pavanelli *et al.*, 2008, 2010; Costa-Souza *et al.*, 2014; Rebolledo *et al.*, 2014; Pescinelli *et al.*, 2017). A positive correlation between fecundity and sternite width (width of the abdomen) and between fecundity and pleura width (width of the pleura of the second abdominal somite) was observed. The positive correlation found for the relationship fecundity vs sternite width and fecundity vs pleura width might be expected, since the larger the female, the larger the size of such morphological variables, providing larger available space in the abdomen to harbor the embryo mass (Corey & Reid, 1991; Lardies & Wehrtmann, 1997; Anger & Moreira, 1998). However, there was no positive correlation between fecundity and

the pleura height (height of the pleura of the second abdominal somite), a variable that could indicate an increased abdominal space and possibly contribute to the enlargement of the area available for carrying embryos (Fig. 2D).

The mean embryo volume in *S. carvachoi* was relatively low, when compared to the embryonic volume initial observed in other alpheids of the genus *Alpheus*, *Betaeus* and *Synalpheus*, with few exceptions (see Soledade *et al.*, 2017). Only a species of relatively closer size, as *A. normanni* Kingsley, 1878 (mean CL of 4.5 mm and mean embryo volume of 0.03 mm³) (Bauer, 1991) has an embryo volume similar to *S. carvachoi*. The embryo size in crustaceans may be determined by genetic and environmental factors that is reflected in the type/duration of the embryonic development of each species (Raven, 1961; Sastry, 1983; Bauer, 1991). Unlike most species of the three genera mentioned above, which present CL measurements and embryonic volume higher than *S. carvachoi*, the relatively small embryo size may be explained by the small body size of that species.

On the other hand, although some species of *Synalpheus*, such as *S. brooksi* Coutière, 1909, *S. herricki* Coutière, 1909, *S. idios* Ríos & Duffy, 2007, *S. pectiniger* Coutière, 1907 and *S. agelas* Pequegnat & Heard, 1979, present CL similar to those of *S. carvachoi* (Table 2), their embryonic volumes are higher than that of *S. carvachoi*, as well as other larger size species of *Alpheus* and *Betaeus*. This may possibly be related to the developmental strategy adopted by these species of *Synalpheus*, where there is a greater investment in embryonic volume and a small number of eggs, as has been observed in species that present direct or abbreviated development (Wehrtmann & Albornoz, 2002), as for example, the eusocial species of *Synalpheus*, which present abbreviation in the larval development (Corey & Reid, 1991; Duffy, 1996).

Considerable increases in embryo volume throughout development have been often observed in caridean shrimps (Corey & Reid, 1991; Pavanelli *et al.*, 2008, 2010; Mossolin *et al.*, 2016). This is mainly due to water uptake, which facilitates the membrane rupture at the time

of larvae hatching (Wear, 1974; Lardies & Wehrtmann, 1996, 1997). Although mean volume of embryos in stage III was relatively higher than in stage II, this difference was not statistically significant. The embryos increased 93% in mean volume, which may be considered a relatively high increase compared to that observed in some species of *Alpheus*, such as *A. carlae* Anker, 2012 [as *A. armillatus* (H. Milne Edwards, 1834)] (64.3%; see Pavanelli *et al.*, 2008), *A. estuariensis* (45.4%; see Costa-Souza *et al.*, 2014), *A. brasileiro* Anker, 2012 (35.4%; see Pescinelli *et al.*, in press), and *S. apioceros* Coutière, 1909 (77.2%, see Rebolledo *et al.*, 2014). Additionally, *B. emarginatus* H. Milne Edwards, 1837 (116.2%; see Lardies & Wehrtmann, 1997) and *B. truncatus* from the Guanaqueros, Chile (94.4%; see Lardies & Wehrtmann, 2001) had a higher percentage of increase.

The mean fecundity of *S. carvachoi* was higher when compared to four species of *Synalpheus* of similar size: *S. brooksi*, *S. pectiniger*, *S. chacei* Duffy, 1998 and *S. idios* (Table 2). A similar fecundity was observed in two other species of *Synalpheus*: *S. agelas* and *S. herricki* (Table 2).

The low fecundity found in *S. carvachoi*, compared those observed in most studies with species of *Synalpheus*, *Alpheus* and *Betaeus* (Corey & Reid, 1991; Rebolledo *et al.*, 2014; Soledade *et al.*, 2017), also is probably related to the small body size of this species, which has less space in the body cavity to accommodate oocyte growth during ovarian maturation and little space available in the abdomen to carry a large embryo mass (Bauer, 1991; Corey & Reid, 1991).

In caridean shrimp, the inverse relationship between fecundity and egg volume is a commonly observed pattern (Corey & Reid, 1991; Lardies & Wehrtmann, 1997; 2001; Harikrishnan *et al.*, 2010). A species may invest in small number of embryos of larger volume or in higher number of embryos of smaller volume (Lardies & Wehrtmann, 1997; 2001; Pavanelli *et al.*, 2008, 2010). *Salmones carvachoi* apparently produces larger and less numerous embryos.

The embryo loss during incubation observed in most studied caridean shrimps occurs mainly due to the increased space limitation in the female's abdomen as the embryos increase in volume (Corey & Reid, 1991; Wehrtmann & Lardies, 1999). In addition, other factors may influence this process such as the presence of parasites, maternal cannibalism, mechanical stress, substrate abrasion, among others (Balasudaram & Pandian, 1982). The significant decrease in fecundity from the initial to the intermediate stage was accompanied by a significant increase in embryo volume. In the same way, there is no loss of embryos between the intermediate and final stages and no increase in the embryonic volume. Possibly the embryo losses during the embryogenesis can be explained by increase in the volume of the embryo in *S. carvachoi*, as is commonly observed in other species of alpheidids (Balasundaram & Pandian, 1982; Corey & Reid, 1991; Anger & Moreira, 1998).

CONCLUSIONS

The present study provides the first information on embryo production in the poorly known *S. carvachoi*, which is the first species of the genus to have its reproductive biology studied more deeply. Fecundity was weakly positively correlated with CL. Rather than the CL, the SW and PW were better descriptors of increased fecundity. Embryo volume undergoes a significant increase (93%) from initial stage to final stage of development, suggesting that this can be the cause of embryo loss during development. Future studies on the embryo production of other species of *Salmonella* are necessary to know and compare information on these aspects of reproductive biology.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the "Programa de Pós-Graduação em Zoologia" of UESC for support. MVO and ACC-S thank "Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia" (FAPESB) and "Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior" (CAPES) for the provision of master's and

PhD's scholarships, respectively. AOA thank "Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico" (CNPq) for the Research Scholarship support (305939/2015-7). To Guidomar Soledade, Patricia Santos and Renata Lima for their support in the field samplings.

REFERENCES

- ALMEIDA, A.O.; BOEHS, G.; ARAÚJO-SILVA, C.L. & BEZERRA, L.E.A. 2012. Shallow-water caridean shrimps from southern Bahia, Brazil, including the first record of *Synalpheus ul* (Ríos & Duffy, 2007) (Alpheidae) in the southwestern Atlantic Ocean. *Zootaxa*, 3347:1-35.
- ANGER, K. & MOREIRA, G.S. 1998. Morphometric and reproductive traits of tropical caridean shrimps. *Journal of Crustacean Biology*, 18:823-838.
- ANKER, A. 2007. New species and records of alpheid shrimps, genera *Salmones* Holthuis and *Parabetaeus* Coutière, from the tropical western Atlantic (Decapoda, Caridea). *Zootaxa*, 1653:21-39.
- ANKER, A. 2010. The shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Crustacea, Decapoda, Alpheidae) in the tropical western Atlantic, with description of five new species. *Zootaxa*, 2372:177-205.
- ANKER, A. 2011a. Three new species of the alpheid shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Crustacea, Decapoda) from the tropical western Pacific. *Zootaxa*, 2839:67-84.
- ANKER, A. 2011b. Two new species of *Salmones* Holthuis, 1955 with a deep dorsal depression on the carapace (Crustacea, Decapoda, Alpheidae). *Zootaxa*, 3041:39-50.
- ANKER, A.; FIRDAUS, M. & PRATAMA, I.S. 2014. *Salmones yoyo* nov. sp., a peculiar new infaunal shrimp from Lombok, Indonesia (Decapoda, Caridea, Alpheidae). *Zootaxa*, 3852: 489-495.
- ANKER, A. & LAZARUS, J.F. 2015. On two new species of the shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Decapoda, Caridea, Alpheidae) from the tropical eastern Pacific. *Zootaxa*, 3957:520-534.
- ATKINSON, R.J.A.; GRAMITTO, M.E. & FROGLIA, C. 2003. Aspects of the biology of the burrowing shrimp *Alpheus glaber* (Olivi) (Decapoda: Caridea: Alpheidae) from the Central Adriatic.

Ophelia, 57:27-42.

BALASUNDARAM, C. & PANDIAN, T. 1982. Egg loss during incubation in *Macrobrachium nobilii* (Henderson & Mathai). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 59:289-299.

BAUER, R.T. 1991. Analysis of embryo production in a caridean shrimp guild from a tropical seagrass meadow. In: A. Wenner and A. Kuris (eds.), *Crustacean Egg Production*, August Aimé Balkema, Rotterdam, p. 181-191.

Bauer, R.T. 2004. Remarkable Shrimps: Adaptations and Natural History of the Carideans. Norman, OK: University of Oklahoma Press.

BAZÁN, M.; GÁMEZ, S. & REYES, W.E. 2009. Rendimiento reproductivo de hembras de *Cryphiops caementarius* (Crustacea: Palaemonidae) mantenidas con alimento natural. *Revista Peruana de Biología*, 12:191-193.

BERTINI, G. & BAEZA, J.A. 2014. Fecundity and fertility in a freshwater population of the neotropical amphidromous shrimp *Macrobrachium acanthurus* from the southeastern Atlantic. *Invertebrate Reproduction & Development*, 58:207-217.

CHRISTOFFERSEN, M.L. 1982. Geographic distribution of warm water alpheid shrimp (Crustacea, Caridea) on the continental shelf of eastern South America between 23 and 35° Lat. S. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, 31:93-112.

COREY, S. 1987. Comparative fecundity of four species of crayfish in Ontario. *Crustaceana*, 52:276-282.

COREY, S. & REID, D.M. 1991. Comparative fecundity of decapods crustaceans, I. The fecundity of thirty-three species of nine families of caridean shrimps. *Crustaceana*, 60:270-294.

COSTA-SOUZA, A.C.; ROCHA, S.S.; BEZERRA, L.E.A. & ALMEIDA, A.O. 2014. Breeding and heterosexual pairing in the snapping shrimp *Alpheus estuariensis* (Caridea: Alpheidae) in a tropical bay in northeastern Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 34:593-603.

DE GRAVE, S. & FRANSEN, C.H.J.M. 2011. Carideorum catalogus: the recent species of the dendrobrachiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda). *Zoologische Mededelingen*, 85:195-588.

DUDGEON, D. 1985. The population dynamics of some freshwater carideans (Crustacea: Decapoda) in Hong Kong, with special reference of *Neocardina serrata* (Atyidae). *Hydrobiologia*, 120:141-149.

DUFFY, J. E. 1996. Eusociality in a coral-reef shrimp. *Nature*, 381:512–514.

ĐURIŠ, Z. & HORKÁ, I. 2016. *Salmonus chadwickae*, a new alpheid shrimp (Crustacea: Decapoda: Alpheidae) from the Red Sea, with remarks on related or regional congeners. *Marine Biodiversity*, 46:773-793.

FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. & GARCÍA-RASO, J. E. 1987. Study of a population of *Alpheus dentipes* Guerin, 1832 from calcareous bottoms in the southern Spain. *Investigaciones Pesqueras*, 51:343-359.

HARIKRISHNAN, M.; UNNIKRISHNAN, U.; MAJU, M.S.; GREESHMA, A.R.R. & KURUP, B.M. 2010. Size at sexual maturity, egg number and reproductive output of the snapping shrimp *Alpheus euprosyne euprosyne* De Man, 1987. *Invertebrate Reproduction & Development*, 54:195-202.

HARTNOLL, R.G. 1985. Growth, sexual maturity and reproductive output. In: Wenner A. (ed) Factors in adult growth, *Crustacean Issues*, August Aimé Balkema, Rotterdam, vol. 3, p. 101-128.

HATTORI, G.Y. & PINHEIRO, M.A.A. 2003. Fertilidade do caranguejo de mangue *Ucides cordatus* (Linnaeus) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), em Iguape (São Paulo, Brasil). *Revista Brasileira de Zoologia*, 20:309-313.

HERNÁEZ, P.; MARTÍNEZ-GUERRERO, B.; ANKER, A. & WEHRTMANN, I.S. 2010. Fecundity and effects of bopyrid infestation on egg production in the Caribbean sponge-dwelling snapping shrimp *Synalpheus yano* (Decapoda: Alpheidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90:691-698.

- KOMAI, T. & ANKER, A. 2012. A distinctive new species of the alpheid genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Crustacea: Decapoda: Caridea) from the northwestern Pacific. *Zootaxa*, 3344:60-68.
- KOMAI, T.; YAMADA, Y. & YUNOKAWA, K. 2015. A new cave-dwelling species of the alpheid shrimp genus *Salmones* Holthuis, 1955 (Crustacea: Decapoda: Caridea) from the Ryukyu Islands, southern Japan. *Zootaxa*, 4028:413-420.
- LARDIES, M.A. & WEHRTMANN, I.S. 1996. Aspects of the reproductive biology of *Petrolisthes laevigatus* (Guérin, 1835) (Decapoda: Anomura: Porcellanidae). I. Reproductive output and chemical composition of eggs during embryonic development. *Archive of Fishery and Marine Research*, 43:121-135.
- LARDIES, M.A. & WEHRTMANN, I.S. 1997. Egg production in *Betaeus emarginatus* (H. Milne Edwards, 1837) (Decapoda: Alpheidae): fecundity, reproductive output and chemical composition of eggs. *Ophelia*, 46:165-174.
- LARDIES, M. & WEHRTMANN, I.S. 2001. Latitudinal variation in the reproductive biology of *Betaeus truncatus* (Decapoda: Alpheidae) along the Chilean coast. *Ophelia*, 55:55-67.
- MANTEL, S.K. & DUDGEON, D. 2005. Reproduction and sexual dimorphism of the palaemonid shrimp *Macrobrachium hainanense* in Hong Kong streams. *Journal of Crustacean Biology*, 25:450-459.
- MOSSOLIN, E.C.; SHIMIZU, R.M. & BUENO, S.L.S. 2006. Population structure of *Alpheus armillatus* (Decapoda, Alpheidae) in São Sebastião and Ilhabela, southeastern Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 26:48-54.
- ODINETZ-COLLART, O. & MAGALHÃES, C. 1994. Ecological constraints and life history of palaemonid prawns in Amazonia. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 25:2460-2467.
- OLIVEIRA, M.V.; COSTA-SOUZA, A.C.; GUIMARÃES, F.J.; ALMEIDA, A.O. & BAEZA, J.A. 2015. Observations on the life history of a rare shrimp, *Salmones carvachoi* (Crustacea: Caridea: Alpheidae), a possible simultaneous hermaphrodite. *Marine Biodiversity Records*, 8:e141.

PAVANELLI, C.A.; MOSSOLIN, E.C. & MANTELATTO, F.L. 2008. Reproductive strategy of the snapping shrimp *Alpheus armillatus* H. Milne-Edwards, 1837 in the South Atlantic: fecundity, egg features, and reproductive output. *Invertebrate Reproduction and Development*, 52:123-130.

PAVANELLI, C.; MOSSOLIN, E.C. & MANTELATTO, F.L. 2010. Maternal investment in egg production: environmental and population-specific effects on offspring performance in the snapping shrimp *Alpheus nuttingi* (Schmitt, 1924) (Decapoda, Alpheidae). *Animal Biology*, 60:237-247.

PESCINELLI, R.A.; DAVANSO, T.M. & COSTA, R.C. in press. Social monogamy and egg production in the snapping shrimp *Alpheus brasileiro* (Caridea: Alpheidae) from the south-eastern coast of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*.

RAMOS-PORTO, M.; VIANA, G.F.S. & LACERDA, P.R. 1994. Ocorrência de *Salmones ortmanni* (Rankin, 1898) no Nordeste brasileiro. *Revista Nordestina de Zoologia*, 1:44-60.

RASBAND, W.S. 2006. ImageJ: image processing and analysis in Java. *Bethesda, MD: National Institutes of Health, Research Services Branch Bethesda, MD*.

RAVEN, C.P. 1961. *Oogenesis: The Storage of Developmental Information*. Pergamon Press, London.

REBOLLEDO, A.P.; WEHRTMANN, I.S.; FELDER, D.L. & MANTELATTO, F.L. 2014. Embryo production in the sponge-dwelling snapping shrimp *Synalpheus apioceros* (Decapoda, Alpheidae) from Bocas del Toro, Panama. *Zookeys*, 457:227-238.

SASTRY, A. N. 1983. Ecological Aspects of Reproduction. In: F. J. Vernberg and W. B. Vernberg (eds.), *The Biology of Crustacea. Environmental Adaptations*, Academic Press, New York, NY, vol. 8, p. 179-270.

SOLEDADE, G.O.; SANTOS, P.S.; PESCEINELLI, R.A.; COSTA, R.C. & ALMEIDA, A.O. In press. Embryo production of two sympatric snapping shrimps of the genus *Alpheus* (Caridea: Alpheidae) from northeastern Brazil: a comparative approach. *Thalassas*.

WEAR, R.G. 1974. Incubation in British decapod Crustacea, and the effects of temperature on the rate and success of embryonic development. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 54:745-762.

WEHRTMANN, I.S. 1990. Distribution and reproduction of *Ambidexter panamense* and *Palaemonetes schmitti* in Pacific Costa Rica (Crustacea, Decapoda). *Revista de Biología Tropical*, 38:327-329.

WEHRTMANN, I.S. & GRAEVE, M. 1998. Lipid composition and utilization in developing eggs of two tropical marine caridean shrimp (Decapoda; Caridea: Alpheidae: Palaemonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 121:457-463.

WEHRTMANN, I.S. & LARDIES, M.A. 1999. Egg production of *Austropandalus grayi* (Decapoda, Caridea, Pandalidae) from the Magellan region. *Scientia Marina*, 63:325-331.

Wehrtmann, I.S. & Albornoz, L. 2002. Evidence of different reproductive traits in the transisthmian sister species, *Alpheus saxidomus* and *A. simus* (Decapoda, Caridea, Alpheidae): description of the first postembryonic stage. *Marine Biology*, 140:605-612.

TABELAS

TABLE 1. Mean fecundity, mean egg volume (mm³) and increase in egg volume between three stages of embryo development, measured in ovigerous individuals of *S. carvachoi* obtained in December 2016 and February 2017 in the Paripe River estuary, Pernambuco, northeastern Brazil.

Stages	N (number of individuals)	Mean fecundity $\pm$ SD	Mean egg volume (mm ³) $\pm$ SD	Increase (%)
I	25	33.65 $\pm$ 12.51 a	0.043 $\pm$ 0.005 a	20.0% (I - III)
II	5	3.2 $\pm$ 2.58 b	0.052 $\pm$ 0.003 b	72.1% (II - III)
III	15	2.53 $\pm$ 1.92 b	0.083 $\pm$ 0.042 b	93.0% (I - III)

ANOVA; Values with at least one same small letter in each column did not differ among stages ($\alpha = 5\%$).

Table 2. Mean carapace length, fecundity and embryonic volume of six *Synalpheus* species with CL similar to *Salmoneus carvachoi*. Min = Minimum and Max = Maximum

Species	N	Carapace length (mm) Mean (Min-Max)	Fecundity Mean (Min-Max)	Embryo volume (mm ³)	Reference
<i>Synalpheus agelas</i>	5	5.0 (4.2 – 5.6)	42.4 (16 – 65)	0.23	Corey and Reid (1991)
<i>S. brooksi</i>	10	3.9 (3.4 – 4.5)	5.8 (3 – 11)	0.50	
<i>S. herricki</i>	4	4.5 (3.5 – 5.12)	45.8 (11 – 81)	0.22	
<i>S. pectiniger</i>	31	4.2 (3.5 – 4.6)	9.9 (4 – 17)	0.75	
<i>S. chacei</i>	2	3.7	16	0.15	Hernández et al. (2010)
<i>S. idios</i>	4	3.9 ± 0.2 (3.7 – 4.2)	12 ± 4.3 (9 – 18)	1.04 ± 0.23 (0.7 – 1.2)	
<i>Salmoneus carvachoi</i>	53	3.78 ± 0.26 (3.23 – 4.64)	33.65 ± 12.51 (14 – 67)	0.043 ± 0.005 (0.03 – 0.06)	Present study

FIGURAS

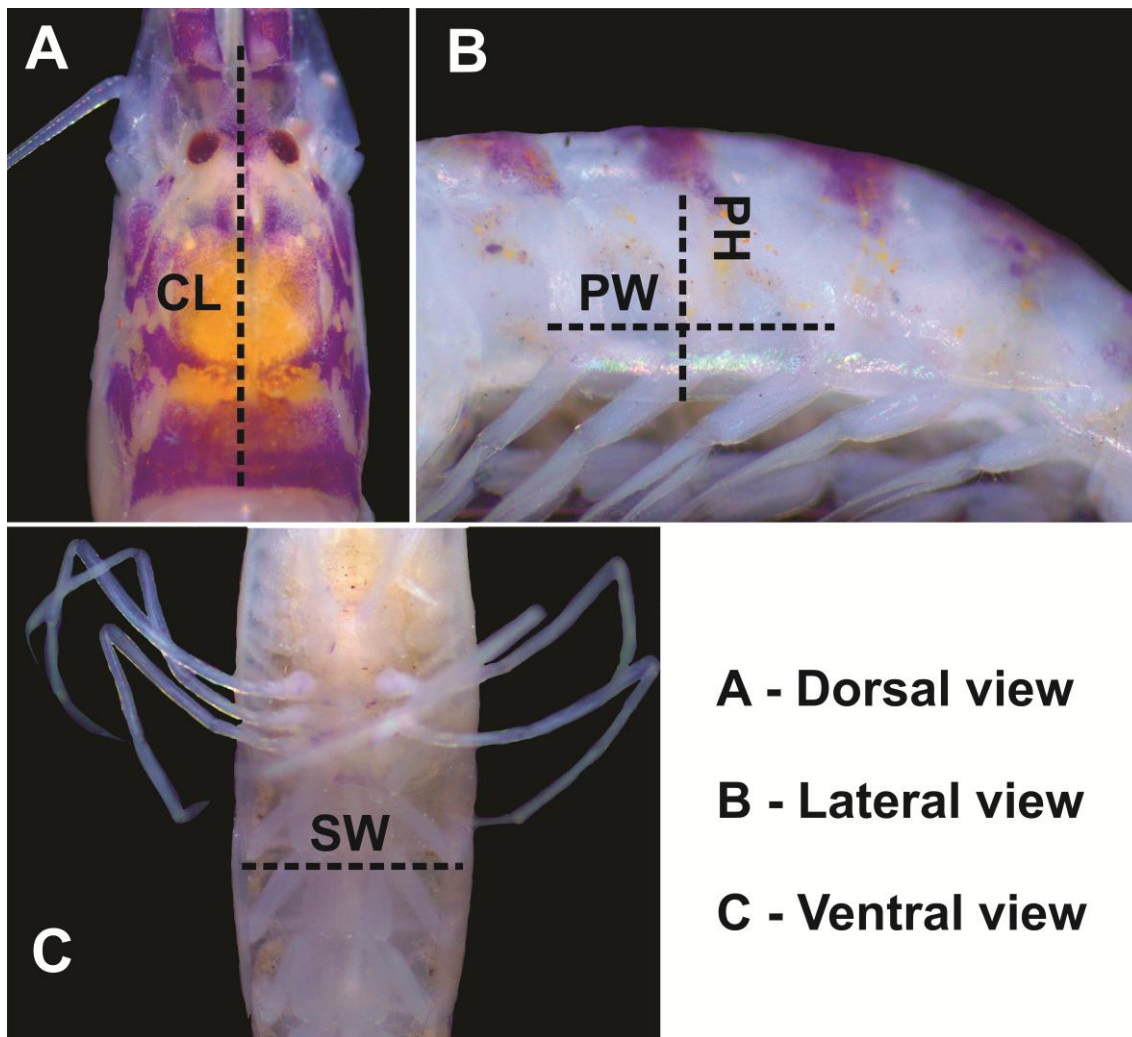


FIGURE 1. Measurements of morphological characters of *Salmoreus carvalhoi* obtained from the Paripe River estuary, Pernambuco, northeastern Brazil, in December 2016 and February 2017. CL: Carapace Length; PW: Pleura Width; PH: Pleura Height and EW: esternite width.

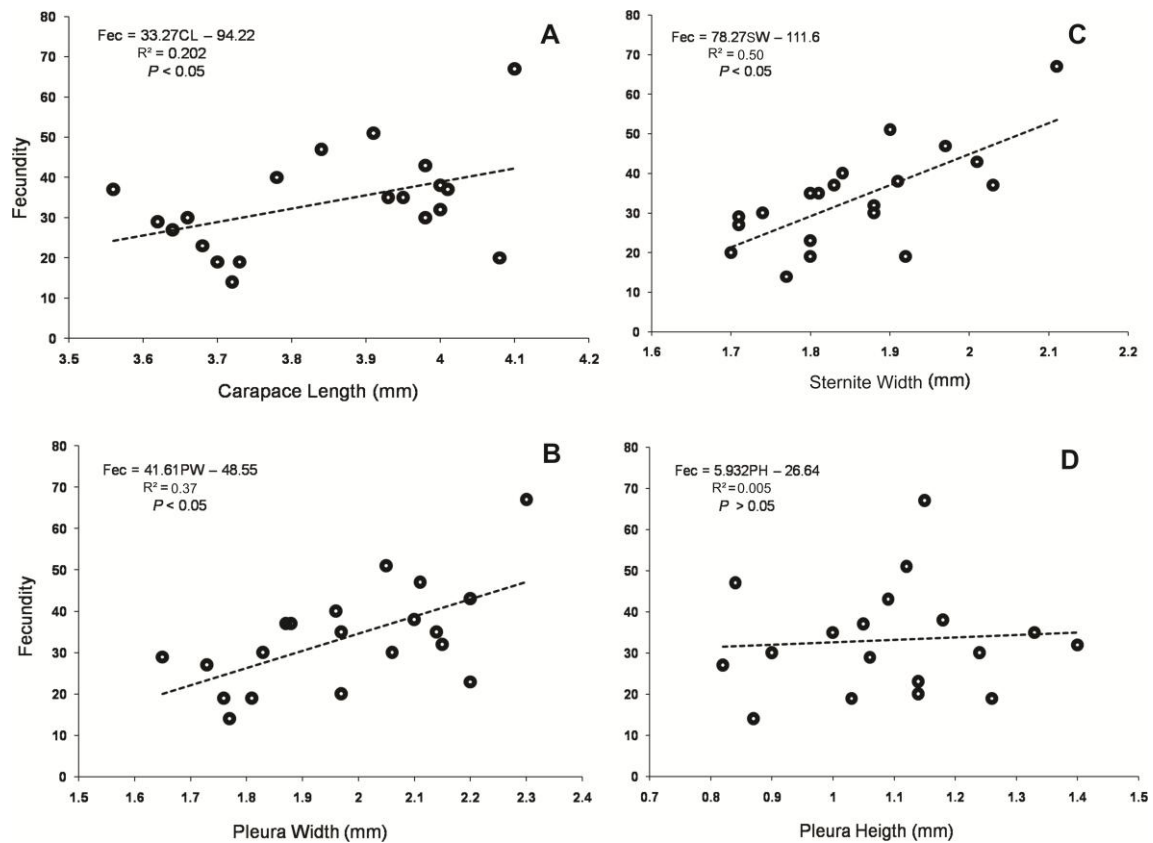


FIGURE 2. Correlation between fecundity and carapace length (A), width of the pleura of the second abdominal somite (B), sternite width measured at the level of the second abdominal somite (C), and pleura height of the second abdominal somite (D). Specimens of *Salmoreus carvalhoi* were obtained from the Paripe River estuary, Pernambuco, northeastern Brazil, in December 2016 and February 2017.

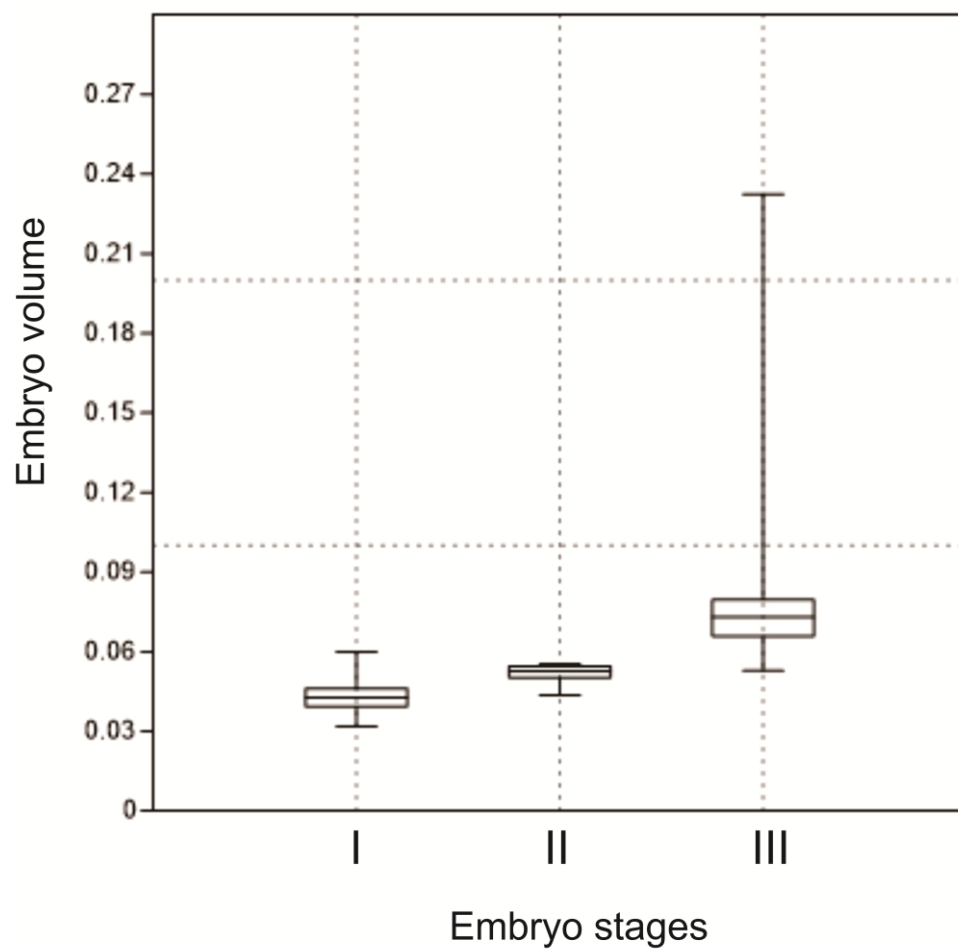


Figura 3. Comparison of the average volume of the embryo at an early stage embryo (I), intermediate (II) and the final of *Salmonella carvacho* obtained from the Paripe River estuary, Pernambuco, northeastern Brazil, in December 2016 and February 2017.

PAPÉIS AVULSOS DE ZOOLOGIA

Online Submissions

Author Guidelines

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

IMPORTANT: You **must** correctly complete all fields **for each AUTHOR:** Name, Middle Name, Last Name, Email, ORCID (if there is), URL (if there is), Institution/Affiliation, Country, and Biography Summary.

The fields **for the manuscript** should **also be filled** with the information: Title, Abstract, Area and Sub-Area of Knowledge, Keywords, Language, and Development Agencies.

- Manuscripts should be sent in the format “.DOCX” or “.RTF” to the portal specific submission of each journal, along with a submission letter explaining the importance and originality of the study.
- All submissions are performed through the “[Portal de Revistas da USP](#)”.
- Pictures, graphics and illustrations even inserted in the text **must necessarily** be sent in separate files, in the original format in which they were created.
- The files must be sent in separate files formats: “.PSD”, “.TIF”, “.JPG”, “.PCX”, “.GIF” or “.BMP” for figures; “.EPS”, “.CDR”, “.WMF”, “.AI”, “.PPTX” or “.XLSX” for graphics and “.MOV”, “.AVI”, “.MPG”, “.MP4” or “.M4V” for videos.
- Tables should be placed at the end of the manuscript.
- Always keep updated the email and the address of the author(s) or corresponding.
- Authors may suggest potential reviewers.

AUTHORS WHOSE NATIVE LANGUAGE IS NOT ENGLISH ARE ENCOURAGED TO HAVE THEIR MANUSCRIPTS REVISED BY A NATIVE ENGLISH-SPEAKING BEFORE SUBMISSION.

MANUSCRIPT FORMAT

- The manuscripts must be double-spaced between lines, justified text, and Calibri font, body 11 (eleven) (except for special symbols not included in this font).
 - The text should be organized in the following sections, each started on a new page, in the order, and numbered consecutively: **Title Page, Abstract with Keywords, Body Text, Acknowledgments, References, Appendices, Tables, and Figure Legends.**
1. **Title Page:** Should include the **Title, Running Title, Author(s) Name(s), Institution(s), and Address(es).** The title should be concise and, where appropriate, should include particulars about families and/or taxa of higher categories. New taxa names should not be included in the titles.

2. **Abstracts:** All papers should have an abstract and keywords in **English**. The quality of the abstract is of great importance since it can be reproduced in other vehicles. Therefore, must be written in intelligible form as it may be published separately, and should summarize the main facts, ideas and conclusions of the article. Telegraphic abstracts are unacceptable. Finally, the abstract should include all new taxonomic names for reference purposes. Abbreviations should be avoided. It should not include bibliographical references. Abstracts and keywords must not exceed 350 (three hundred and fifty) and 5 (five) words, respectively.
3. **Body Text:** The main body text varies with different types of papers, but should usually include the following sections: **Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements, and References**. The main headings of each section of the body of the text should be written in capital letters, bold and centered. Secondary headings should have only the first letter capitalized, bolded, and centered. Tertiary headings should be the first letter capitalized, in bold and indented left. In all cases, the text should start on the next line.
4. **References:** Citations in the text should be given as follows: Martins (1959) *or* (Martins, 1959) *or* (Martins, 1959, 1968, 2015) *or* Martins (1959a, b) *or* Martins (1959: 14-20) *or* Martins (1959: figs. 1, 2) *or* Martins & Reichardt (1964) *or* (Lane, 1940; Martins & Chemsak, 1966a, b) *or* Martins *et al.* (1966) *or* (Martins *et al.*, 1966), the latter when the article contains 3 (three) or more authors. There is no need to provide full reference when authors and date are presented only as authority of taxa.
5. **References Models:** References should be arranged alphabetically and according to the following format, respecting the titles in italics:
 - **Journal Articles** - Author(s). Year. *Article title*. Journal name, volume: initial page-final page. Journal titles must be written in full (not abbreviated).
 - **Books** - Author(s). Year. *Book title*. Publisher, Place of publication.
 - **Books Chapters** - Author(s). Year. Chapter title or part. *In*: Author(s) or Editor(s), *Book title*. Publisher, Place of publication, Volume or part, initial page-final page.
 - **Dissertations and Theses** - Author(s). Year. *Title of dissertation or thesis*. (Masters Dissertation or Doctoral Thesis). University, Place of publication.
 - **Electronic Publications** - Author(s). Year. *Document title*. Available at: electronic address. Access in: DD/MM/AAAA.

TABLES

- All tables should be numbered in the same sequence in which they are cited in the text.
- Legends should be self-explanatory, without need to resort to text.
- Tables should be formatted preferentially towards portrait, remaining the sense landscape for exceptional cases.
- In the text, tables should be referred as Table 1, Tables 2 and 4, Tables 2-6.
- Use "TABLE" in the table(s) heading(s).

FIGURES

- The figures must be numbered consecutively, in the same sequence in which they are cited in the text.
- Each illustration of a composite figure should be identified by a capital letter and referred to in the text as, for example: Fig. 1A, Fig. 1B.

- When possible, the letters must be positioned in the lower-left corner of each illustration of a composite figure.
- Photographs in black and white or color must be scanned at high resolution (300 DPI minimum).
- Use “Fig(s).” for referring to figures in the text, “FIGURE(S)” in the figure captions and “fig(s).” when referring to figures in another paper.
- The figures will be printed in black and white but maintained in color in the final PDF file.

PROOFS

- Page-proofs with the revised version will be sent by email to the corresponding author.
- Page-proofs must be returned to the Editor, preferentially within 48 (forty-eight) hours.
- Only necessary corrections in proof will be permitted.
- The omission of return the proof will mean automatic approval of version with no changes and may result in a delay in publication.

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

1. The manuscript should be sent only in ENGLISH, according to the updates of the “Publication Rules” valid from 01/04/2018.
2. The contribution is original and unpublished, and is not being evaluated for publication by another journal; otherwise, it must be justified in “Comments to the Editor”.
3. The submission file is in Microsoft Word or Rich Text File document file format.
4. URLs for references were informed when possible.
5. The text is double-spaced; uses a 11-point font; employs italics, rather than underlining (except with URL addresses); and all illustrations, figures, and tables are placed within the text at the appropriate points, rather than at the end. The figures will also be submitted in separate files, observing the provisions of the [Author Guidelines](#).
6. The text adheres to the stylistic and bibliographic requirements outlined in the [Author Guidelines](#), which is found in “About the Journal”.
7. If submitting to a peer-reviewed section of the journal, the instructions in [Ensuring a Blind Review](#) have been followed.

Copyright Notice

Responsibility: The scientific content and the opinions expressed in the manuscript are the sole responsibility of the author(s).

Copyrights: A concession letter of copyrights and assent should be sent to the Editor, signed by all the authors, prior to publication of the manuscript.

Privacy Statement

The names and email addresses entered in this journal site will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party.