



CLARISSA KÖHLER NORO

**A HISTÓRIA NATURAL DE *PARASTACUS DEFOSSUS* FAXON, 1898  
UM LAGOSTIM FOSSORIAL DO BRASIL MERIDIONAL (CRUSTACEA,  
DECAPODA, PARASTACIDAE)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Animal, Instituto de Biociências, da Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título  
de Doutor em Biologia Animal.

Área de concentração: Biologia e Comportamento Animal

Orientador: Prof. Dr. Ludwig Buckup

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS  
PORTO ALEGRE  
2007

## AGRADECIMENTOS

*Durante o desenvolvimento de uma tese de doutorado, são inúmeras as pessoas que contribuem para as diversas etapas de desenvolvimento do nosso trabalho:*

*À Profa. Georgina Bond-Buckup pelo constante incentivo, idéias e motivação.*

*Ao Sr. Nairo Guerisoli, por permitir o desenvolvimento do trabalho em sua propriedade, o Haras "Costa do Cerro", no Lami, e por sempre ter nos recebido com muito carinho. Também ao caseiro Luis Fernando, sempre disposto a nos ajudar nos trabalhos de campo.*

*As colegas e amigas de Laboratório, Daniela Castiglioni, Daniela Barcelos, Daiana Castiglioni, sempre dispostas a ajudar no que fosse preciso e que ajudaram muito, principalmente nesta reta final... Obrigadão!*

*Também aos colegas: Carolina, Ana, Deise, Adriane, Raoni, Aline, Maurício, Pedro e tantos outros pela ajuda em várias etapas do projeto e pela troca de idéias; aos colegas da PUC e ULBRA, pelas coletas em conjunto.*

*A Profa. Paula Beatriz de Araújo e a Profa. Alessandra Bueno, pelas sugestões e críticas construtivas!*

*As estagiárias Milena Favero, Juliana Bisol e Luciane Schons que acompanharam o desenvolvimento do projeto e que foram de fundamental importância na triagem e processamento do material bem como no bom andamento do cronograma do projeto.*

*Um agradecimento especial a todos os colegas que estiveram sempre dispostos a ajudar no que fosse preciso e pela ajuda nos exaustivos trabalhos de campo, que se estenderam por quase três anos, e que tiveram etapas que*

*exigiram muito esforço físico, principalmente nas escavações das galerias..., mas que também foram momentos muito divertidos e que vão deixar saudades!*

*A Profa.Dra.Laura Lopez-Greco, da Universidade de Buenos Aires, Argentina, pela auxílio no desenvolvimento do artigo sobre as gônadas!*

*Mais uma vez ao Prof. Backup pelas inúmeras e ótimas fotografias para a tese.*

*Um agradecimento muito especial à minha família pela ajuda nos momentos difíceis da etapa final que antecederam a entrega da tese .....*

*Ao programa de Pós-graduação em Biologia Animal pela estrutura oferecida para o desenvolvimento do projeto.*

*Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq - pelo apoio financeiro.*

## SUMÁRIO

<b>Prefácio</b> .....	vi
<b>Resumo</b> .....	vii
<b>Introdução</b> .....	1
<b>Objetivos</b> .....	30
<b>Metodologia</b> .....	32
A área de estudo .....	32
As amostragens .....	34
Coleta dos exemplares .....	34
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	40
<b>Síntese dos Resultados</b> .....	53
<b>Capítulo 1</b>	
“The burrows of <i>Parastacus defossus</i> Faxon 1898 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) a fossorial freshwater crayfish from South Brazil.” .....	64
<b>Capítulo 2</b>	
“The burrowing behavior of <i>Parastacus defossus</i> Faxon 1898 (Decapoda, Parastacidae).” .....	86
<b>Capítulo 3</b>	
“The faunal assemblage found in the burrow water of the South American crayfish <i>Parastacus defossus</i> faxon 1898 (Decapoda, Parastacidae).” .....	107
<b>Capítulo 4</b>	
“Gonad morphology and type of sexuality in <i>Parastacus defossus</i> Faxon 1898, a burrowing, intersexed crayfish from southern Brazil (Decapoda: Parastacidae).” .....	124
<b>Capítulo 5</b>	
“Morphology of the vasa deferentia of <i>Parastacus defossus</i> and <i>P. varicosus</i> and comparison within Parastacidae.” .....	151
<b>Capítulo 6</b>	
“O crescimento de <i>Parastacus defossus</i> Faxon, 1898 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae).” .....	167

## **Capítulo 7**

“Estrutura populacional e Biologia reprodutiva de <i>Parastacus defossus</i> Faxon 1898 (Crustácea, Decapoda, Parastacidae).” .....	186
---	-----

## **Capítulo 8**

“A dieta do lagostim de água doce <i>Parastacus defossus</i> Faxon, 1898 (Crustácea, Decapoda, Parastacidae).” .....	205
--	-----

<b>Conclusões Gerais</b> .....	222
--------------------------------	-----

<b>Apêndices</b> .....	224
------------------------	-----

## PREFÁCIO

Esta tese está sendo apresentada na forma de uma INTRODUÇÃO GERAL, que trata dos aspectos gerais da biologia e ecologia dos lagostins de água doce, os OBJETIVOS propostos na tese de doutorado e a METODOLOGIA geral desenvolvida no trabalho. A metodologia específica desenvolvida em cada etapa da tese, poderá ser vista detalhadamente no capítulo específico, em forma de artigo, destinado a publicação. Na parte inicial, é ainda apresentada uma SÍNTESE DOS RESULTADOS, onde são abordados em tópicos, os principais resultados obtidos na tese de Doutorado.

A partir do capítulo 1, a tese está apresentada na forma de oito (08) artigos científicos, na formatação da revista escolhida para sua publicação. O capítulo 1 trata das habitações subterrâneas de *Parastacus defossus*. O capítulo 2 trata do comportamento escavador da espécie. O capítulo 3 trata da fauna encontrada na água contida no interior das galerias bem como na água superficial, na região de ocorrência das galerias. O capítulo 4 da morfologia das gônadas e tipo de sexualidade de *P. defossus*. No capítulo 5 é descrita a morfologia do espermatóforo da espécie em estudo e é feita uma comparação desta estrutura com demais Parastacidae. O capítulo 6 trata do crescimento da espécie. O capítulo 7, aborda aspectos da estrutura populacional e o capítulo 8 trata da dieta, com descrição do conteúdo alimentar.

A parte final contém as CONCLUSÕES GERAIS resultantes dos quatro anos do desenvolvimento desta tese de doutorado.

A tese está formatada em conformidade com as normas da Revista Brasileira de Zoologia. As normas para publicação desta revista e das demais escolhidas para a publicação dos artigos científicos são apresentadas nos apêndices.

## RESUMO

*Parastacus defossus* é uma espécie fossorial, que escava suas habitações em terrenos baixos e alagadiços, de ocorrência registrada no Brasil (Rio Grande do Sul) e no Uruguai. No Rio Grande do Sul a espécie é abundante em solos argilosos das planícies pantanosas adjacentes ao estuário do Guaíba, ao sul de Porto Alegre. As coletas foram realizadas em uma propriedade rural particular na região do Lami, município de Porto Alegre, RS. Cerca de trinta (30) exemplares foram coletados uma vez por mês, de janeiro de 2003 a agosto de 2005, com o auxílio de uma bomba de sucção.

Parâmetros ambientais como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e nível do lençol freático foram verificados mensalmente no água contida no interior das galerias e nas áreas adjacentes. Amostras do solo na área de ocorrência dos lagostins foram analisadas quanto à granulometria, mas não revelaram diferenças significativas na comparação com locais sem galerias.

A morfologia das galerias foi analisada pela obtenção de moldes de gesso e resina. A densidade populacional foi estimada por observação direta em uma área de 100 m<sup>2</sup>. A distribuição espacial das aberturas das habitações subterrâneas ao longo do ano foi observada em uma área de 100 m<sup>2</sup> e foi comparada a distribuição esperada segundo os modelos de Poisson e Binomial Negativa.

A análise do comportamento foi feita através de observação direta e gravações de vídeo com luz infravermelha, de indivíduos mantidos em laboratório.

A fauna presente no interior das galerias foi analisada através da coleta de amostras de água de diferentes habitações. Amostras da água superficial próxima das galerias também foram coletadas para fins comparativos.

Durante o período amostral, foram coletados e examinados 766 exemplares de *P. defossus*, sendo 315 machos (41,12%), 278 fêmeas (36,30%), 166 juvenis (21,67%) e 7 animais (0,91%) com ootestículos, portanto em fase de transição de machos para fêmeas confirmando a ocorrência de hermafroditismo protândrico parcial na espécie.

A análise das gônadas foi feita macroscopicamente segundo critérios de tamanho e cor e microscopicamente, pelo do processamento histológico.

Analisou-se a distribuição de frequência por classes de tamanho, a proporção sexual, o recrutamento e o período reprodutivo, que foi estabelecido pelo do registro de fêmeas ovígeras na população e pela frequência de fêmeas com gônadas maduras ao longo do ano.

Para a estimativa do crescimento em comprimento adotou-se o modelo de von BERTALANFFY (1938), que se apóia no deslocamento de modas das distribuições das frequências de parâmetros de comprimento ou peso em função do tempo

O estudo da dieta foi feita através da análise quantitativa dos itens alimentares baseados em categorias tróficas (grandes grupos taxonômicos) considerando-se sua frequência de ocorrência e dos pontos (volume relativo).

## INTRODUÇÃO

### *Quem são os lagostins de água doce (posição sistemática e distribuição)*

Os lagostins de água doce pertencem a infraordem Astacidea e estão reunidos em duas grandes superfamílias: Astacoidea De Haan,1841 e Parastacoidea Huxley,1879. Seu aspecto geral lembra as "lagostas" marinhas da outra superfamília de Astacidea, os Nephropoidea Dana,1852 (BUCKUP 1999).

A distribuição dos lagostins no mundo não é uniforme, com aproximadamente 77% das espécies ocorrendo na América do Norte, 20% na Austrália, 1,5% na América do Sul e 1,5% na Europa/Ásia. Atualmente a fauna de lagostins compreende três famílias, Astacidae, Cambaridae e Parastacidae e 29 gêneros (TAYLOR 2002).

A superfamília Astacoidea reúne os "lagostins" do hemisfério norte. A família Astacidae Latreille,1802 compreende 3 gêneros e 12 espécies, com distribuição na Europa, no oeste da Ásia e um único gênero (*Pacifastacus* Boot, 1950) no oeste da América do Norte. A família Cambaridae Hobbs, 1942, com 12 gêneros e 337 espécies, ocorre na América do Norte, na América Central e em Cuba, no leste Asiático e Japão (TAYLOR 2002).

A superfamília Parastacoidea reúne os "lagostins" do hemisfério sul. Sua única família - Parastacidae Huxley,1879 - compreende 14 gêneros e 129 espécies, distribuídos pela Austrália, Tasmânia, Nova Zelândia, Madagascar e América do Sul. A maior parte das espécies ocorre na região australiana, que compreende 10 dos 14 gêneros: *Astacopsis*, *Cherax*, *Engaeus*, *Engaewa*, *Euastacus*, *Geocherax*, *Gramastacus*, *Paranephrops*, *Parastacoides* e *Tenuibranchiurus* (TAYLOR 2002).

Na América do Sul os Parastacidae estão representados por apenas três gêneros, *Parastacus* Huxley,1879, *Samastacus* Riek,1971 e *Virilastacus* Hobbs,1991 e dez (10) espécies. Sua distribuição geográfica evidencia uma nítida disjunção, com um grupo de espécies ao norte, no espaço sulbrasileiro-periplatino (Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Uruguai e nordeste da Argentina) e outro ao sul, no espaço meridional andino (sul do Chile e Argentina). *Samastacus* contém uma única espécie restrita à região central do Chile, bem como *Virilastacus* que é uma espécie cavadora restrita a mesma região. *Parastacus* contém 8 espécies e exibe uma distribuição disjunta, duas espécies ocorrem na região central do Chile enquanto as outras 6 são encontradas no sul do Brasil e Uruguai (BUCKUP 1999, TAYLOR 2002).

O grupo setentrional é formado por *Parastacus pilimanus* (von Martens,1869), *P. brasiliensis* (von Martens,1869), *P. varicosus* Faxon, 1898, *P. defossus* Faxon,1898, *P. saffordi* Faxon, 1898 e *P. laevigatus* Buckup & Rossi, 1980. O grupo meridional é formado por *Parastacus pugnax* Poeppig, 1835, *P. nicoleti* (Philippi,1882), *Samastacus spiniformis* (Philippi,1882), *Virilastacus araucanius* (Faxon,1914) (BUCKUP 1999) e *V. rucapihulensis* Rudolph & Crandall, 2005 (RUDOLPH & CRANDALL 2005).

Apenas o gênero *Parastacus* está representado no Brasil, com as espécies *Parastacus pilimanus*, *P. brasiliensis*, *P. varicosus*, *P. saffordi*, *P. defossus* e *P. laevigatus* (BUCKUP 1999).

### *Parastacus defossus*

*Parastacus defossus* é uma espécie fossorial, que escava suas habitações em terrenos baixos e alagadiços, de ocorrência registrada apenas no Brasil (Rio Grande do Sul)

(BUCKUP & ROSSI 1980) e no Uruguai (ZOLESSI & PHILIPPI 1995). No Rio Grande do Sul a espécie é particularmente abundante em solos argilosos das planícies pantanosas adjacentes ao estuário do Guaíba, ao sul de Porto Alegre (BUCKUP & ROSSI 1980).

*Parastacus defossus* foi descrito por FAXON (1898) com base em um lote de três exemplares procedente de Montevideu, Uruguai. O autor, ao descrever o material típico de *P. defossus*, informou que os três exemplares foram coletados juntamente com *P. saffordi*, em buracos com 2 metros de profundidade, a 100 metros de distância da costa, em camadas de areia cobertas por solo, o que sugere hábitos fossoriais. Nos arredores de Porto Alegre, BUCKUP & ROSSI (1980) encontraram a espécie em construções subterrâneas em campos baixos e alagadiços, a poucos centímetros abaixo da superfície.

### *História*

A primeira citação do gênero *Parastacus* para o Brasil, é devida a VON MARTENS (1869), sob a denominação de *Astacus*, ao descrever duas espécies com base em material coletado por Reinhold Hensel no Rio Grande do Sul. A primeira espécie, “A”. *pilimanus* fora encontrado em Porto Alegre e em Santa Cruz, no curso superior do Rio Pardo, um afluente do Rio Jacuí. A segunda espécie, “A”. *brasiliensis*, também procede de Porto Alegre e ainda, de uma localidade do interior do Estado (provavelmente Morro Reuter, no Município de Dois Irmãos) (BUCKUP & ROSSI 1980).

Em 1878, HUXLEY concluiu pela conveniência de transferir as espécies *pilimanus* e *brasiliensis* para o novo gênero *Parastacus*. FAXON (1898) ao revisar as coleções de museus norte americanos, descreveu cinco (5) novas espécies. ORTMANN (1902), ampliou a lista das espécies brasileiras de *Parastacus* com *saffordi* Faxon, 1898 e *defossus* Faxon,

1898, apoiando-se em material sul-riograndense enviado por Hermann von Ihering e através de informações recebidas de Fritz Muller. O autor ainda sugere a ocorrência de *Parastacus* também no Estado de Santa Catarina. RIEK (1971), em uma revisão geral e sucinta dos Parastacidae sul-americanos, inclui *Parastacus varicosus* na fauna brasileira, referindo-se a material existente no U. S. National Museum procedente, provavelmente, do Rio Bagé de Pelotas. O mesmo autor inclui o nome *P. brasiliensis* na sinomia de *P. pilimanus* (BUCKUP & ROSSI 1980).

Em 1980, BUCKUP & ROSSI fizeram uma ampla revisão do gênero *Parastacus*, com base em lotes coletados no Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Uma nova espécie, *Parastacus laevigatus*, é descrita para o Estado de Santa Catarina e novos registros são apontados para *P. pilimanus*, *P. brasiliensis*, *P. saffordi*, *P. varicosus* e *P. defossus*. *P. brasiliensis*, que RIEK (1971) havia considerado sinônimo de *P. pilimanus*, teve restaurado seu status de espécie válida.

## *Biologia e Ecologia*

### *Habitat e hábitos*

Os lagostins de água doce podem ser encontrados em uma grande variedade de habitats, como lagos, rios, pântanos, lagoas temporárias, represas e estuários (HOGGER 1988, NYSTRÖM 2002).

Espécies da família Astacidae estão adaptadas a habitats de água fria, onde naturalmente ocorrem. Em contraste, espécies de Cambaridae ocupam uma grande variedade de ambientes límnicos e um número grande de espécies possui a habilidade de construir habitações subterrâneas visando alcançar e permanecer junto ao nível do lençol

freático, o que possibilita que habitem corpos de água que permaneceram periodicamente secos (HOGGER 1988)

Os Parastacideos também habitam uma grande diversidade de ambientes do limnociclo e estão entre os lagostins que exibem as maiores adaptações a condições ambientais extremas. Existem espécies que habitam águas correntes e outras que preferem águas com escassa ou nenhuma correnteza, como córregos pequenos, lagos, represas e pântanos (RICHARDSON 1983, HOGGER 1988).

Espécies que habitam águas correntes pertencem aos gêneros *Euastacus* e *Astacopsis*, sendo que estas raramente fazem escavações, apesar de que algumas são capazes de fazê-lo em resposta a uma queda no nível da água. Espécies que habitam córregos, lagos ou represas são capazes de escavar túneis até o nível do lençol freático quando estas se tornam secas. Estas espécies são capazes de viver por longos períodos sem acesso a água e são capazes de fazer grandes excursões entre vários corpos da água. Estas espécies são consideradas as mais resistentes da Austrália e pertencem ao gênero *Cherax*. Espécies australianas do gênero *Engaeus* e *Geocherax*, vivem em galerias em pântanos, beira de rios e em montanhas da Austrália, passando a maior parte de suas vidas no interior das galerias (HOGGER 1988).

Os Parastacidae brasileiros podem ser encontrados nos ambientes límnicos das planícies, preferencialmente em áreas pantanosas e em águas lóxicas de pequeno volume e correnteza fraca, faltando nos cursos d'água mais correntosos do planalto sul brasileiro. Gostam de ocultar-se sob detritos nos remansos dos arroios e junto aos barrancos marginais, entre as raízes da vegetação herbácea e arbustiva ciliar (BUCKUP & ROSSI 1980, FRIES 1984, FONTOURA & BUCKUP 1989a,b). *Parastacus brasiliensis*, a espécie mais freqüentemente encontrada no Brasil, especialmente no Rio Grande do Sul, é formada por

populações que ocorrem nos solos argilosos das margens dos rios e arroios, inclusive acima do nível da água (BUCKUP & ROSSI 1980, FRIES 1984).

Nos banhados, muitos "lagostins" constroem habitações subterrâneas em forma de túneis inclinados, simples ou ramificados, de até 1 metro ou mais de profundidade, que ligam o nível do lençol freático com uma ou mais aberturas na superfície do solo. Os animais têm hábitos noturnos, deixando as suas habitações subterrâneas para partir em busca de alimento no interior da água ou nos ambientes emersos e pantanosos mais próximos (FRIES 1984, FONTOURA & BUCKUP 1989b).

### *A vida nas habitações subterrâneas*

O hábito fossorial é comum na história de vida de vários grupos de crustáceos decápodos e a construção de túneis subterrâneos é conhecida para uma variedade de espécies que habitam desde zonas marinhas intertidais até ambientes semi-terrestres. Várias funções tem sido atribuídas aos túneis dos decápodos, como refúgio contra predadores, local para realizar cópula e muda, incubar os ovos e/ou proteger sua cria. Em espécies semi-terrestres, a principal função dos túneis seria a proteção contra condições ambientais extremas, como temperaturas e umidade extremas e como garantia de acesso a água (NASH *et al.* 1984, ATKINSON & TAYLOR 1988, GHERARDI *et al.* 2000, SHIMODA & TAMAKI 2004).

No seu ambiente, todos os lagostins procuram algum tipo de abrigo ou refúgio, e muitos são ainda capazes de construir complexos sistemas de galerias subterrâneas, um hábito especialmente desenvolvido nas espécies da família Parastacidae. Normalmente as galerias possuem túneis que conectam a superfície com o nível do lençol freático, sendo que logo abaixo do solo, estes túneis convergem para um túnel principal, que desce até o

nível do lençol freático, onde freqüentemente encontra-se uma porção mais alargada referida pelos autores como “câmara habitacional”. Os túneis abrem-se na superfície e podem ser reconhecidos por torres cônicas ou chaminés que circundam as aberturas. As chaminés são resultado do acúmulo de sedimento removido pelo lagostim durante o processo de escavação (BUCKUP & ROSSI 1993, RUDOLPH 1997, BUCKUP 1999).

Algumas espécies são encontradas em solos argilosos distantes de sistema de água abertos (RICHARDSON 1983, BUCKUP 1999); para estas espécies, as galerias são de grande importância como modo de assegurar acesso a água e para a manutenção de um ambiente com elevado nível de umidade (NASH *et al.* 1984, ATKINSON & TAYLOR 1988, GHERARDI *et al.* 2000, SHIMODA & TAMAKI 2004).

Espécies de parastacideos podem escavar túneis que variam em estrutura, desde túneis simples e sem ramificações, como em *Cherax plebejus* (HORWITZ & KNOTT 1983), a complexos sistemas de galerias, como nas espécies do gênero *Engaeus* e *Parastacoides* (HORWITZ *et al.* 1985a, GHERARDI 2002). Aspectos bioecológicos das espécies de Parastacidae da Oceania vem sendo estudados há mais tempo, o que resultou em diversas publicações que tratam das habitações subterrâneas (LAKE & NEWCOMBE 1975, SUTER & RICHARDSON 1977, RICHARDSON & SWAIN 1980, HORWITZ & KNOTT 1983, HORWITZ *et al.* 1985 a,b, HORWITZ & RICHARDSON 1986, GROWNS & RICHARDSON 1988).

Espécies de lagostins escavadoras norte americanas foram classificadas em três categorias por HOBBS (1942): Cavadores primários, que passam a maior parte da vida abaixo da superfície, no interior das galerias. Estes sistemas de galerias são bastante complexos e raramente estão em comunicação com sistemas de água abertos e aparentemente nunca são ocupados por mais do que um animal. Cavadores secundários ocorrem em áreas que são sazonalmente alagadas. Passam a maior parte da suas vidas nas

galerias, mas freqüentemente migram para sistemas de água aberta durante a estação chuvosa. As galerias possuem uma morfologia simples. Cavadores terciários vivem em sistemas de água aberto e somente escavam túneis no inverno ou durante condições de seca, e em poucos casos, durante a estação reprodutiva.

RIEK (1972) propôs que as espécies de Parastacidae sejam separadas em dois grupos ecológicos distintos. O primeiro grupo, chamado de escavadores primários, incluiria espécies que vivem permanentemente em águas subterrâneas, habitando complexos sistemas de túneis e com hábito escavador de moderado a forte. O segundo grupo incluiria espécies que habitam águas lólicas ou lênticas e apresentariam fraca atividade escavadora.

Os modelos propostos por HOBBS (1942) para classificar os lagostins norte americanos e por RIEK (1972) para classificar as espécies de Parastacidae são baseados no comportamento escavador das espécies. Na Austrália, entretanto, HORWITZ & RICHARDSON (1986) encontraram um grupo de parastacideos que escava seus túneis na encosta de montanhas sem nenhum contato com sistemas de água e desta forma, não se enquadra em nenhum dos modelos propostos anteriormente. Por esta razão, os autores propuseram uma nova classificação para os lagostins australianos, baseado na relação com o nível do lençol freático, ou seja: 1. Galerias construídas ou conectadas a sistemas de água abertos; 2. Galerias conectadas com a água freática; 3. Galerias independentes de sistemas do lençol freático. HOBBS (1942) e HORWITZ & RICHARDSON (1986), analisando tal proposta, argumentam que raramente um lagostim pertence a apenas um dos modelos de espécies escavadoras, pois seus hábitos podem variar na dependência da área onde os animais vivem.

Na América do Sul, existem poucos estudos que tratam da estrutura das habitações dos parastacideos. Na espécie brasileira *P. pilimanus*, segundo BUCKUP & ROSSI (1980), as

habitações possuem entre 3 a 7 aberturas na superfície do solo, de 5 a 10 cm de diâmetro, que convergem, 30cm mais abaixo, para uma galeria central única e de diâmetro maior, onde ocorre a co-existência de indivíduos de diferentes gerações numa mesma habitação. Estudos recentes realizados no Chile com a espécie *Parastacus nicoleti*, mostraram a existência de vários túneis de entrada, os quais se unem entre 10 e 30 cm abaixo da superfície, formando o túnel principal que desce verticalmente até a câmara habitacional, que pode estar situada a profundidades de até 2 metros, já no nível da água freática. Os orifícios de entrada das galerias são circundados por torres cônicas de argila, que são mais freqüentes no período de inverno e podem atingir alturas de até 22 cm (KILIAN 1986, RUDOLPH 1997b). Para a espécie *P. defossus* existem registros de coleta em terrenos pedregosos, no Uruguai, em túneis de profundidades superiores a 1,5m, com diâmetro de 2 a 7cm e verificou-se que o sistema de galerias da espécie percorre grandes extensões subterrâneas, chegando a cobrir uma área de cerca de 1,5m<sup>2</sup> (AMESTOY-ROSSO 1983). Estudos preliminares sobre a bio-ecologia de uma população de *Parastacus defossus* em Mariana Pimentel, no Rio Grande do Sul, foram realizados por BUCKUP & GRALA (2001), onde os autores encontraram uma média de 8,05 aberturas por metro quadrado. Foram observados fechamentos de aberturas de acesso ao sistema de galerias durante o verão e abertura de novos acessos durante o inverno, mais chuvosos. Os moldes obtidos das galerias subterrâneas indicam que as habitações de *Parastacus defossus* são semelhantes às de *Parastacus pilimanus*, descritas por BUCKUP & ROSSI (1980).

### *Adaptações a vida subterrânea*

Para o modo de vida em habitações subterrâneas, as espécies de *Parastacus* possuem várias adaptações morfológicas: o abdome é relativamente curto, devido a perda de sua importância como uma estrutura locomotora; os quelípodos são curtos e globosos (BUCKUP & ROSSI 1980) e como todos os parastacideos escavadores, o dactilo move-se em um plano vertical para uma maior eficácia durante o processo de escavação e transporte de material (RIEK 1972, RUDOLPH 1997b).

Os lagostins cavadores são capazes de tolerar o *stress* fisiológico imposto por habitar corpos de água temporários e essa habilidade é facilitada pela tolerância a baixos níveis de oxigênio dissolvido. Para controlar o problema da hipóxia e falta de água no interior das galerias, os lagostins escavadores são capazes de usar respiração aérea (SUTER & RICHARDSON 1977, CARL 1995, MACMAHON 2002). Espécies de *Cherax* e *Procambarus clarkii*, apesar de serem escavadores temporários, podem sobreviver cerca de 28 dias sem acesso a água. Observações em laboratório mostraram que mesmo quando a câmara habitacional está cheia de água, o animal passa a maior parte do tempo respirando ar. Este comportamento é possível devido à estrutura das brânquias, que são tubulares (trichobranchias) ao invés de lamelares, e por isso não colapsam em contato com o ar (MCMAHON 2002, VOGT 2002). Comportamento semelhante foi observado por WILLIAMS *et al.* (1974) em *Fallicambarus fodiens*, e por GROW & MERCHANT (1980) em *Cambarus diogenes diogenes*. Estes autores assumem que o baixo conteúdo de oxigênio na água das galerias seria compensado pela respiração aérea.

## *Dieta*

Estudos sobre os hábitos alimentares de lagostins mostram que se trata de animais politróficos ou omnívoros oportunistas, sendo que a dieta predominante consiste de detritos de origem vegetal (HOGGER 1988, GOODARD 1988, GUAN & WILLES 1998, PARKYN *et al.* 2001, HOLLOWES *et al.* 2002). Embora oportunistas, mostram preferências por certos tipos alimentares e variam sua alimentação de acordo com a idade, estação do ano e estado fisiológico (GODDARD 1988). A estrutura das peças bucais e a habilidade para segurar e agarrar itens alimentares com os pereiópodos capacita os lagostins a consumir uma grande variedade de itens alimentares (NYSTRON 2002). Os itens mais comuns citados na dieta dos lagostins são detritos, algas e macrófitas e entre os itens animais, invertebrados (incluindo lagostins), moluscos, larvas de insetos aquáticos, vermes, pequenos crustáceos, girinos de anfíbios, peixes e ovos de peixes sendo que o canibalismo é um aspecto importante na sua dieta (ABRAHAMSSON 1966, MASON 1975, GODDARD 1988, GHERARDI 2002, NYSTRON 2002).

Apesar dos juvenis serem capazes de filtrar e consumir algas, os itens animais ocorrem mais freqüentemente nos lagostins juvenis do que em adultos (MOMOT 1995). Normalmente os adultos apresentam altas proporções de detritos e plantas nos seus estômagos, enquanto que juvenis se alimentam preferivelmente de invertebrados (MOMOT *et al.* 1978, NYSTRON 2002).

Detritos de plantas são uma das principais fontes de energia e proteína para vários membros da comunidade de riachos (GILLER & MALQVIST 1998), possuindo o maior conteúdo de carbono e nitrogênio. O detrito, composto de matéria em decomposição e os microorganismos associados (como bactérias, fungos, algas e protozoários), é uma

importante fonte alimentar para os lagostins, apesar do valor nutricional desta fonte alimentar ser derivada dos microorganismos envolvidos no processo de decomposição. Em populações naturais de lagostins, detritos fazem parte de 13,2 a 21,6% do peso do total de alimento consumido (MOMOT *et al.* 1978). O musgo, apesar de relativamente pobre em carbono, mostra uma melhor digestibilidade do que o detrito. O *perifiton* que cresce no musgo e finas partículas que ficam presas nessas plantas são fontes alimentares importantes para os lagostins. O alimento animal, apesar de constituir a menor parte da dieta, é importante para prover componentes orgânicos como aminoácidos (HOGGER 1988, GHERARDI 2002).

Proteínas são essenciais na dieta de animais como fonte de aminoácidos. Estes aminoácidos devem ser metabolizados em novas proteínas para promover o crescimento ou usadas como fonte de energia (GODDARD 1998). O conteúdo em proteína de fontes naturais de alimentos para os lagostins é bastante variável, sendo maior no plâncton e macroinvertebrados, mas comparativamente mais baixo em plantas e algas filamentosas (segundo dados de TACON 1990 *apud* NYSTROM 2002). A eficiência na digestão é importante para determinar o quão bem será uma fonte alimentar assimilada. Proteína de origem animal é normalmente bem digerida pelos lagostins, enquanto que metabolitos secundários de plantas como o tanino, podem afetar seu processo digestivo (BROWN *et al.* 1990). Além disso, algumas plantas são ricas em fibras e, portanto, a digestibilidade destas fontes vegetais é muito variável. Portanto, considerando do ponto de vista energético, espera-se que os lagostins consumam invertebrados quando estes estão disponíveis e que sejam seletivos no consumo de fontes alimentares não-animais (NYSTROM 2002).

Estudos recentes sobre a dieta dos lagostins confirmam a tendência onívora de sua dieta e a preferência por detritos vegetais. GUAN & WILES (1998) observaram que os itens

mais freqüentes no estômago de *Pacifastacus leniusculus* foram detritos, algas verdes filamentosas, fragmentos de lagostins, Chironomidae e Ephemeroptera. A espécie apresentou uma dieta relacionada com a estação do ano e com o tamanho dos animais, sendo que os animais adultos consomem mais detritos enquanto que os juvenis mostraram preferência por partes de coleoptera. Já PARKYN *et al.* (2001) ao estudarem a dieta de *Paranephrops planifrons*, observaram que nas espécies que habitam florestas há o predomínio de detritos de folhas (mais de 60%) no conteúdo estomacal, enquanto que nas espécies que vivem em córregos em regiões de pastagem, invertebrados aquáticos constituíram 40% do volume dos estômagos e menos de 30% foram detritos de folhas. Em um trabalho recente, HOLLOWS *et al.* (2002) observaram que os detritos ocuparam o maior volume nos estômagos de *Paranephrops zealandicus*, sendo que foram encontrados em maior quantidade no período do outono e inverno e os invertebrados aquáticos representaram a segunda categoria alimentar mais abundante, predominando ninfas de Ephemeroptera, larvas de Chironomidae e Molusca.

Para complementar o conhecimento da dieta dos lagostins, além da análise do conteúdo estomacal e de dados de experimentos de laboratório, a análise das taxas de isótopos estáveis tem sido usadas com sucesso para identificar importantes fontes energéticas para lagostins e para determinar sua posição trófica nas cadeias alimentares aquáticas (NYSTRON 2002). PARKYN *et al.* (2001) e HOLLOWS *et al.* (2002) reconheceram, pela uso de isótopos estáveis, a grande importância dos invertebrados aquáticos na dieta dos lagostins, em termos de assimilação e incorporação de biomassa.

Com relação às espécies de Parastacidae sul americanas, não existem dados sobre a dieta. Apenas um registro de AMESTOY-ROSSO (1983) informa sobre o conteúdo gástrico de

espécies de *P. defossus* do Uruguai, demonstrando o predomínio de fibras vegetais, sem evidências de alimento de origem animal.

### *Reprodução*

Nos lagostins de água doce do Hemisfério Norte (família Cambaridae e Astacidae) o principal caráter externo de dimorfismo sexual é a forma dos pleópodos, especialmente do primeiro somito abdominal, que nos machos estão modificados para a transferência do espermatóforo (HOLDICH 2002). Nos Parastacidae, entretanto, os pleópodos do primeiro somito abdominal estão ausentes em ambos os sexos e a presença constante de poros masculinos e femininos, simultaneamente, nos indivíduos do gênero *Parastacus*, torna-se um obstáculo para a identificação do sexo (HOLDICH 2002). A exceção é a espécie chilena *P. nicoleti*, que apresenta grande variabilidade de formas sexuais (RUDOLPH 1995b). Os representantes do gênero *Parastacus* possuem poros ou papilas genitais não calcificadas, escassamente diferenciados nos períodos não reprodutivos, ou seja, em ambos os sexos ocorre um poro genital masculino não projetado em forma tubular no coxopodito do 5º pereiópodo e um poro genital feminino no coxopodito do 3º pereiópodo.

As gônadas, tanto ovário como o testículo, estão localizadas dorsalmente. Seu tamanho e coloração dependem do estágio e condição reprodutiva dos indivíduos. Na estação reprodutiva, as gônadas aumentam em tamanho, os testículos adquirem uma coloração esbranquiçada devido à produção de esperma, enquanto que os ovários tornam-se cheios de oócitos de coloração amarelada a marrom (VOGT 2002). Essas mudanças estão vinculadas à proximidade da estação reprodutiva, sendo que, neste período, o ovário acumula componentes orgânicos e inorgânicos no interior do oócito em desenvolvimento,

processo conhecido como vitelogênese (ADIYODI & SUBRAMONIAM 1983, KROL *et al.* 1992, SAGI *et al.* 1996).

Os lagostins possuem fertilização externa. Durante a cópula, o macho deposita o espermatóforo na superfície ventral da fêmea, ou como nos Cambarídeos, no *annulus ventralis*. Quando os oócitos maduros são liberados através dos gonóporos femininos, o espermatóforo se dissolve e os espermatozóides ficam livres. Os oócitos são então fertilizados externamente e são agrupados em uma massa que é fixada aos pleópodos por uma substância adesiva. A massa de ovos é carregada pela fêmea por um período de tempo, que nas espécies de regiões temperadas pode ser de 7 a 8 meses (LOWERY 1988, VOGT 2002).

Dos ovos dos lagostins eclodem formas juvenis com a morfologia semelhante a do adulto que permanecem fixados aos pleópodos da fêmea por duas a três mudas antes de se tornarem completamente independentes (LOWERY 1988, GHERARDI 2002).

Juvenis das famílias Astacidae e Cambaridae usam a quela do primeiro par de pereiópodos para se fixar aos pleópodos da fêmea (GURNEY 1935, THOMAS 1973, FELDER *et al.* 1985), enquanto que os juvenis da família Parastacidae permanecem presos aos pleópodos da fêmea com ganchos presentes no dactilo dos pereiópodos 4 e 5 (HUXLEY 1879, GURNEY 1935, SUTER & RICHARDSON 1977, RUDOLPH & ZAPATA 1986, RUDOLPH & RÍOS 1987, RUDOLPH & IRACABAL 1994, NORO *et al.* 2005). A partir da segunda ou terceira muda, os juvenis começam a fazer pequenos deslocamentos pelo ambiente, mas retornam rapidamente para junto da fêmea a qualquer perturbação que ocorra ao seu redor (GHERARDI 2002).

## *Intersexualidade e Hermafroditismo*

Na maioria das espécies de crustáceos, o padrão mais comum de reprodução é aquele onde os sexos são separados, ou seja, gonocorismo. Entretanto, o hermafroditismo se apresenta como um fenômeno normal na história de vida de várias espécies e ocorre em vários grupos com relações filogenéticas distantes (BROOK *et al.* 1994, JUCHAULT 1999). Em crustáceos, o hermafroditismo já foi relatado para diversos grupos, sendo que o tipo mais comum é a protandria, onde o indivíduo muda do sexo masculino para o sexo feminino a partir de certo momento da vida. A protandria já foi relatada para a maioria dos Cirripedia parasitas e de vida livre, Copepoda e nos Malacostraca, ocorre em várias famílias de Decapoda, Amphipoda e Isopoda (BROOK *et al.* 1994).

Lagostins são geralmente gonocóricos, entretanto, indivíduos intersexuados, exibindo características femininas e masculinas, ocorrem regularmente em baixas freqüências em algumas espécies.

A família Parastacidae apresenta casos de intersexualidade tanto em espécies da Oceania como nas espécies Sul Americanas dos gêneros *Parastacus* e *Samastacus* (ALMEIDA & BUCKUP 1997, 2000, RUDOLPH 1995a,b,VOGT 2002).

Já em 1898, FAXON propôs que a coexistência de ambos os orifícios genitais no mesmo indivíduo era a condição normal das espécies escavadoras de *Parastacus*. Já para os dois outros gêneros da América do Sul, *Samastacus* e *Virilastacus*, os registros apontavam para apenas um par de gonóporos em cada indivíduo. Entretanto, espécimes intersexuados de *S. spinifrons* foram recentemente capturados em rios do Chile (RUDOLPH 1999).

Apesar da intersexualidade ser um fenômeno comum entre os parastacídeos e ser um forte indício para a ocorrência do hermafroditismo, o hermafroditismo funcional é raro entre os lagostins e é protândrico (RUDOLPH 1995b).

Nas espécies chilenas, hermafroditismo protândrico foi documentado em *Parastacus nicoleti* (RUDOLPH 1990, 1995b) e *Samastacus spinifrons* (RUDOLPH 1995a, 1999, 2002). O primeiro caso de hermafroditismo no gênero foi descrito em *P. nicoleti* e um exemplo típico da composição das gônadas e poros genitais de indivíduos intersexuados foi proposto por RUDOLPH (1995b). A análise dos caracteres sexuais externos (presença e/ou ausência dos gonóporos) evidenciou 6 formas sexuais, sendo que dois tipos sexuais básicos foram encontrados: fêmeas primárias, que apresentam somente gonóporos femininos, não possuem vaso deferente e sem evidência de gônada com tecido masculino; e hermafroditas protândricos. Segundo o autor, a coexistência de diferentes gerações na mesma habitação de *P. nicoleti* pode ser a causa da troca de sexo em alguns espécimes.

*Samastacus spinifrons* sempre foi classificada como uma espécie gonocórica. Entretanto em 1989, um espécime com características sexuais anômalas foi capturado e descrito como um caso de ginandromorfismo por RUDOLPH (1995a). Entre 1992 e 1993, outros 13 indivíduos intersexuados foram coletadas em vários rios ao sul do Chile e de acordo com o número e localização dos orifícios genitais, cinco padrões de distribuição dos poros foram descritos (RUDOLPH 1999). A análise gonadal destes exemplares mostrou a ocorrência de ootestículo em 4 indivíduos. Em 2002, visando esclarecer o tipo de sexualidade da espécie foram feitas amostragens em 9 populações fluviais e em 1 população lacustre, no sul do Chile. A porcentagem de intersexos variou de 0% a 12,5% e 6 padrões sexuais foram então identificados. A dissecação dos exemplares revelou a existência de 7 indivíduos com ootestículo, o que confirma as evidências de que em

populações fluviais de *S. spinifrons* há uma proporção variável de indivíduos intersexuados, que provavelmente correspondem a estágios transicionais na mudança do sexo masculino para o sexo feminino (hermafroditismo protândrico). Já os exemplares de populações lacustres possuem sexos separados, sendo classificados como uma população gonocórica (RUDOLPH 2002).

No Brasil, estudos sobre o tipo de sexualidade foram realizados apenas em duas espécies, *Parastacus brasiliensis* e *P. defossus*. *Parastacus brasiliensis* é uma espécie intersexuada e estudos anatômicos realizados por ALMEIDA & BUCKUP (1997, 2000) mostraram que estes animais apresentam três formas sexuais: machos intersexuados, fêmeas intersexuadas e transicionais. As três formas sexuais possuem gonodutos de ambos os sexos e gonóporos supernumerários, porém machos e fêmeas intersexuados possuem uma gônada única, masculina ou feminina enquanto que, os transicionais, apresentam oócitos e ácidos testiculares na mesma gônada. Pela análise dos indivíduos e da estrutura etária da população foi sugerida a existência de machos primários (que nunca mudam de sexo) e de fêmeas primárias (que nunca passam pela fase masculina), o que é conhecido como protandria parcial, como já foi registrado para *P. nicoleti* (RUDOLPH 1995b). Porém, diferentemente de *P. nicoleti*, onde todos os indivíduos em fase masculina possuem gônadas masculinas com oócitos em pré-vitelogênese, machos de *P. brasiliensis* possuem somente ácidos testiculares em suas gônadas (ALMEIDA & BUCKUP 1997, 2000). Em *P. defossus*, a análise de 71 exemplares revelou a existência de 2 formas sexuais: machos intersexuados e fêmeas intersexuadas. A existência de duas formas de poros genitais foi constatada, sendo que indivíduos com as aberturas anteriores totalmente obstruídas podem ser machos ou fêmeas imaturas, enquanto que indivíduos com as mesmas aberturas parcialmente ou totalmente desobstruídas são fêmeas sexualmente maduras, visto que esta

era a condição das aberturas genitais das fêmeas ovígeras e das que carregavam juvenis (ALMEIDA & BUCKUP 1999). Em apenas um exemplar os autores constataram a existência simultânea de tecido testicular e ovariano na mesma gônada. A região anterior da gônada se encontrava totalmente transformada num ovário, com diversos oócitos de tamanho variável e coloração esbranquiçada, enquanto que a região posterior era formada por tecido testicular. A análise histológica evidenciou a presença de oócitos em pré-vitelogênese e vitelogênese primária e ácinos testiculares. A partir da análise preliminar não foi possível traçar o tipo de sexualidade desta espécie, sendo necessário examinar um número maior de exemplares para confirmar se a presença do exemplar de gônada mista representa uma situação anormal ou uma situação transitória entre os sexos.

Com base nas informações disponíveis, pode-se distinguir 3 padrões de sexualidade nos parastacideos sul americanos:

**Gonocorismo:** em populações lacustres de *Samastacus spinifrons* e em *Virilastacus araucanius* (RUDOLPH 1995a, 1999, RUDOLPH & ALMEIDA 2000);

**Intersexualidade permanente:** em *Parastacus pugnax*; *P. varicosus*; *P. pilimanus*; (*P. defossus* ?) e *P. saffordi*; são espécies intersexuadas, com gonóporos supernumerários e com uma gônada única, masculina ou feminina, da qual emergem gonodutos de ambos os sexos até os respectivos gonóporos (RUDOLPH 1997a, 1999, ALMEIDA & BUCKUP 1999, RUDOLPH & ALMEIDA 2000, RUDOLPH *et al.* 2001)

**Hermafroditismo protândrico parcial:** populações fluviais de *Samastacus spinifrons*, *P. nicoleti* e *P. brasiliensis* (RUDOLPH 1995a, 1999, RUDOLPH & ALMEIDA 2000, ALMEIDA & BUCKUP, 2000).

Nos representantes de parastacideos da Oceania, recentemente foi observado que várias espécies de lagostins dos gêneros *Astacoides*, *Cherax*, *Engaeus* e *Engaewa*

apresentam altas taxas de espécimes com gonóporos de ambos os sexos (HORWITZ *et al.* 1985, HORWITZ 1988).

Na espécie australiana *Cherax quadricarinatus* (Von Martens), uma espécie gonocórica, são encontrados ocasionalmente indivíduos intersexuados. Em populações cultivadas foram descritos vários tipos de indivíduos intersexuados e a frequência de intersexualidade varia de 1 a 17%. Os espécimes intersexuados são machos funcionais, como sugerido por sua morfologia masculina, mas também podem possuir ovário prévitelogênico em estado imaturo. Anatomicamente, todo indivíduo intersexuado que possui um poro masculino também possui um testículo, espermoduto e glândula androgênica. Entretanto, nem todo animal que possui poros femininos, indica a presença de um sistema reprodutor feminino, sendo que ovários e ovidutos só são encontrados em indivíduos onde o poro feminino está presente na ausência do poro masculino no mesmo lado (SAGI *et al.* 1996, 2002, VOGT 2002).

Foi concluído que a intersexualidade em *C. quadricarinatus* não indica um caso de hermafroditismo seqüencial protândrico, como foi previamente sugerido, mas a intersexualidade parece representar um caso de hermafroditismo não funcional (SAGI *et al.* 1996, KHALAILA *et al.* 1999, SAGI *et al.* 2002).

Nos lagostins do Hemisfério Norte, espécimes intersexuados foram observados nas famílias Astacidae (*Astacus* e *Pacifastacus*) e Cambaridae (*Cambarus*, *Procambarus*, *Orconectes* e *Cambarellus*), porém, pela análise da anatomia interna, não foram encontradas evidências da ocorrência de hermafroditismo (VOGT 2002).

O controle da diferenciação sexual em crustáceos malacostracos pode ser explicado pela ação do hormônio androgênico. Os Crustacea Malacostraca constituem o primeiro

grupo de invertebrados no qual a existência de hormônios sexuais foi demonstrado (CHARNIAUX-COTTON & PAYEN 1985).

Os primeiros resultados experimentais sobre a existência de um hormônio sexual em um invertebrado foram obtidos em um malacostraco, o anfípodo *Orchestia gammarella* (Pallas, 1766). A fonte deste hormônio foi identificada por CHARNIAUX-COTTON (1954) como sendo a glândula androgênica, localizada na região subterminal do vaso deferente. No complexo endócrino dos crustáceos trata-se da única glândula que está especificamente relacionada ao controle da diferenciação sexual (CHARNIAUX-COTTON 1954, KATAKURA 1989).

A glândula androgênica regula a atividade espermática, inibe a maturação do ovário e controla as características sexuais primárias (exemplo: espermatogênese) e secundárias (exemplo: morfologia externa) e é o único órgão ou tecido masculino que, quando implantado em uma fêmea juvenil, masculiniza os ovários e caracteres sexuais secundários (CHARNIAUX-COTTON & PAYEN 1985).

Em Malacostraca a determinação do sexo é genética. Cada indivíduo possui programas genéticos para diferenciação masculina e feminina. A decisão sobre qual programa será utilizado depende da presença ou ausência do hormônio androgênico. Nos machos genéticos, a glândula androgênica se desenvolve e o hormônio androgênico é sintetizado e secretado. Quando o hormônio androgênico age sobre os primórdios bissexuais, ativa genes para a diferenciação sexual masculina, provocando o desenvolvimento dos testículos e dos caracteres sexuais secundários, bem como reprime os genes para a diferenciação feminina. Por outro lado, nas fêmeas genéticas, a glândula androgênica primordial não se desenvolve, o hormônio não é sintetizado e os ovários se desenvolvem espontaneamente. Então, a diferenciação masculina e feminina é diretamente

determinada pela ação do hormônio androgênico (GISBURGER-VOGEL & CHARNIAUX-COTTON 1982, CHARNIAUX-COTTON & PAYEN 1985, HASEWAGA *et al.* 1993).

### *Teorias sobre a evolução do hermafroditismo*

Teorias relacionadas ao fenômeno da mudança de sexo tem se concentrado principalmente no “Sucesso Reprodutivo” de machos e fêmeas, com bases no “Size-Advantage Model”, modelos teóricos propostos por GHISELIN (1969) para explicar a evolução do hermafroditismo:

#### *Modelo da baixa densidade (Low Density Model)*

É a explicação clássica para a evolução do hermafroditismo simultâneo. Em um animal que possui um atributo que reduza suas oportunidades de cópula, como baixa mobilidade ou baixa densidade populacional, a probabilidade de encontrar um indivíduo que não seja do sexo oposto é muito alta. O hermafroditismo simultâneo garantiria a possibilidade de cópula a cada encontro. A escassez de parceiros devido à baixa densidade populacional é uma pressão seletiva que deve ter levado ao hermafroditismo simultâneo em vários grupos de invertebrados.

#### *Modelo da vantagem de tamanho (Size Advantage Model)*

É um modelo utilizado para explicar a evolução do hermafroditismo seqüencial, onde um indivíduo se reproduz com mais eficiência como membro de um sexo quando menor ou mais jovem, mas como membro de outro sexo quando fica maior ou mais velho. Geralmente, a mudança de sexo é favorecida se a relação entre sucesso reprodutivo e tamanho ou idade diferem entre os sexos. Diferenças de tamanho entre os sexos podem vir diretamente do sistema de reprodução. Por exemplo, quando machos pequenos são

impedidos de se reproduzir pela atividade de machos maiores, é óbvia a vantagem de se reproduzir como fêmea enquanto pequeno e somente se tornar macho quando um tamanho competitivo for alcançado, o que leva a protogenia.

Na protandria, a função reprodutiva masculina é mais vantajosa quando o indivíduo é pequeno, mas a função reprodutiva feminina é mais vantajosa com um tamanho maior. Nestes casos os machos não guardam nem defendem suas fêmeas e, portanto, tamanhos grandes não são selecionados. Em muitos decápodos, a fecundidade das fêmeas está positivamente relacionada com o tamanho do indivíduo. Em contraste, nos machos não há aumento no êxito reprodutivo com o aumento de tamanho, portanto o sucesso reprodutivo dos machos está estreitamente relacionado ao sistema reprodutivo, enquanto o da fêmea está diretamente relacionado ao tamanho do corpo em espécies protândricas (CHIBA *et al.* 2003). Então na protandria, em uma distribuição de freqüências de tamanho de uma população, os indivíduos menores são machos, enquanto que os maiores são fêmeas e na área de sobreposição, existem indivíduos transicionais que mostram características morfológicas de ambos os sexos.

### *Dinâmica populacional*

Estudos sobre a estrutura populacional fornecem informações importantes para o conhecimento da biologia de uma determinada espécie e em crustáceos, tem sido analisadas principalmente, pela distribuição dos indivíduos em classes de tamanho, abundância sazonal, densidade populacional, distribuição etária, proporção sexual, recrutamento e taxas de mortalidade e natalidade (MANTELATTO *et al.* 1995, SANTOS *et al.* 1995, NEGREIROS-FRANSOZO *et al.* 1999). O estudo do crescimento em crustáceos tem se tornado muito

freqüente e tem grande importância, principalmente nas espécies com potencial econômico, pois tem fortes implicações para a carcinicultura. Entre os Astacidae, espécies de lagostins europeus e norte americanos tem sido utilizadas em cultivo como fonte de alimentação humana e por isso existem muitos estudos sobre sua biologia (MOMOT 1967, PRINS, 1968, ABRAHAMSSON 1966, ABRAHAMSSON & GOLDMAN 1970, PRICE & PAYNE 1984, FIDALGO *et al.* 2001). O crescimento nos lagostins pode ser influenciado por muitas variáveis ambientais. Entre os fatores abióticos pode-se listar fatores como temperatura, oxigênio dissolvido, pH, níveis de diferentes nutrientes, qualidade da água e composição do habitat. Já influências bióticas podem estar relacionadas com o alimento, predação, densidade, comportamento e maturidade (REYNOLDS 2002). Segundo HARTNOLL (1983) fatores como alimento e fotoperíodo podem ter efeito em dois componentes essenciais do crescimento: incremento por muda e freqüência da muda.

Pouco se conhece sobre a biologia e as vinculações ecológicas das espécies de *Parastacus* que ocorrem na Região Neotropical. Entre elas, apenas *Parastacus brasiliensis*, uma espécie que constrói suas habitações nas barrancas marginais de arroios correntosos, tem sido a espécie alvo de publicações.

O acompanhamento do crescimento de uma coorte de juvenis eclodidos e cultivados em laboratório foi realizado por FRIES (1984), bem como dados do incremento em comprimento e peso foram obtidos de animais no seu habitat natural. A curva de crescimento obtida para a coorte nascida em laboratório foi  $LCt = 42,894 [1 - e^{-0,00198(t + 48,273)}]$ , segundo o modelo de von Bertalanffy (1938).

Aspectos sobre o crescimento e dinâmica populacional de *P. brasiliensis* foram estudados em uma população no Município de Guaíba por FONTOURA & BUCKUP (1989a,b). Utilizando o método de marcação por cauterização proposto por ABRAHAMSSON

(1965) e recaptura, os autores estimaram o tamanho da sub-população com mais de dois anos de idade em  $2605,5 \pm 825,3$  animais para os 400 metros de riacho estudados. O crescimento foi determinado através do acompanhamento de animais marcados e da análise de distribuições de freqüências de comprimento, utilizando-se do modelo de Von Bertalanffy e o tamanho populacional foi estimado pelo método de JOLLY (1965). Os autores verificaram que o período reprodutivo da espécie estende-se de setembro a fevereiro, existindo duas fases distintas, a fase de postura e incubação dos ovos, que ocorre de setembro a janeiro e a fase de eclosão dos juvenis, entre novembro e fevereiro. As fêmeas atingem a maturidade sexual com cerca de 3 anos de vida e o tempo de incubação dos ovos para a espécie em questão foi estimado em  $41 \pm 15$  dias.

### *Importância ecológica*

Os lagostins de água doce formam elementos importantes na cadeia alimentar nos ecossistemas que ocupam. Por serem politróficos, são uma chave na transformação de energia entre vários grupos tróficos, pois transferem energia do nível do produtor diretamente para organismos de níveis tróficos superiores e, conseqüentemente, servem como importantes transformadores de energia nas cadeias alimentares aquáticas (MOMOT *et al.* 1978, MOMOT 1995).

Quando abundantes, os lagostins tem fortes efeitos na diversidade e estrutura de cadeias alimentares aquáticas. Populações de lagostins também alteram a estrutura da comunidade aquática pelo consumo de macrófitas e algumas espécies exercem influencia física no seu habitat pela construção das galerias subterrâneas (NYSTRON 2002).

O forte hábito escavador causa diversos efeitos no solo e parece ser o efeito mais visível causado pela atividade dos lagostins. Por exemplo, *Procambarus clarkii* e *P. zonangulus* podem redistribuir 7.500 cm<sup>3</sup> de sedimento em poucos dias (RICHARDSON 1983, BURRAS *et al.* 1995, RICHARDSON & WONG 1995). Estudos com uma população de *Fallicambarus devastator* mostraram que de 17 a 40 kg de sedimento foi trazido a superfície anualmente (HOBBS & WHITEMAN 1991). Alguns autores mencionam benefícios deste hábito escavador, como o aumento na troca de gases nas camadas mais profundas do solo (LAKE & NEWCOMBE 1975, RICHARDSON 1983). Entretanto, lagostins cavadores podem causar grandes danos. No Texas, HOBBS & WHITEMAN (1991) destacam os danos causados por *Fallicambarus devastator* nas plantações, devido aos efeitos dos sais de sódio que são trazidos a superfície pelo lagostim. De acordo com CORREIA & FERREIRA (1995), a atividade escavadora de *P. clarkii* causa extensos danos a agricultura, principalmente em plantações de arroz, sendo que este lagostim é considerado uma praga em muitos países.

Durante o século 20 a distribuição de espécies de lagostins de água doce tem sofrido grandes mudanças. Muitas espécies estão ameaçadas ou já estão em extinção; cerca de 65% das 313 espécies de lagostins da América do Norte são raras, ameaçadas ou estão perto do processo de extinção (Allan & Flecker, 1993 *apud* NYSTROM 2002). Atividades humanas estão associadas ao declínio de várias espécies de lagostins, como degradação do habitat, poluição e interferência com espécies exóticas (e as doenças e parasitas carregadas juntamente com estas espécies). O maior perigo para a diversidade de lagostins é a introdução de espécies exóticas que são intencionalmente introduzidas como uma fonte de alimento ou de maneira não intencional, como iscas para a pesca desportiva ou animais de aquário (LODGE *et al.* 2000).

Tanto na Europa como na América do Norte a fauna nativa de lagostins tem sofrido drásticos declínios como resultado da introdução de espécies exóticas. Na Europa, um organismo comensal carregado pelas espécies exóticas foi o fator mais drástico para as espécies nativas. No fim do século 19, lagostins da América do Norte começaram a ser introduzidos na Europa e a partir daí começaram a ocorrer mortes massivas de espécies de lagostins nativas. Estas mortes ficaram conhecidas como “praga do lagostin” e em 1930 o fungo *Aphanomyces astaci* foi descoberto como o causador de tais mortes. A praga do lagostim é letal para todas as espécies européias, enquanto que as espécies norte americanas são imunes e agem como vetores. Para se ter uma idéia da devastação causada por esta praga, na Suécia restaram somente 5% das populações nativas, enquanto que na Turquia a praga foi a causa de uma redução de 85% do estoque de *Astacus leptodactylus* (TAYLOR 2002).

*Procambarus clarkii*, uma espécie norte americana, é a espécie mais amplamente introduzida de todos os lagostins e se tornou comercialmente importante em muitos países, porém causa danos no ambiente por sua atividade escavadora e por carregar a praga do lagostim. Segundo HOLDICH (2002), novos registros do animal continuam a ser reportados por várias partes do mundo e logo estarão também espalhados pela Ásia e América do Sul.

Infelizmente não existem dados dos danos que tal fungo poderia causar nas espécies de parastacídeos da América do Sul. Um dado sem dúvida de extrema importância, visto que já se tem dados da introdução de espécies exóticas em várias partes do Brasil, principalmente através de lojas de aquário e *pet shops*, que vendem estes animais para cultivo domiciliar.

### *Importância econômica*

Os lagostins de água doce são crustáceos de interesse como alimento humano, inclusive como alternativa para a carcinicultura. Na Europa os lagostins são explorados e utilizados como fonte de alimento pelo menos desde o século 13 e a partir do século 19, a pesca comercial deste crustáceo se tornou uma grande indústria (SKURDAL & TAUGBOL 2002). Os lagostins se tornaram uma iguaria muito popular principalmente nas cidades européias. A popularidade dos lagostins também atraiu o interesse científico no século 19, exemplos são os trabalhos clássicos na biologia de lagostins de HUXLEY (1879).

A pesca anual de lagostins na Europa é estimada em aproximadamente 7.000 a 8.000 toneladas. Mas para suprir a demanda, a Europa importa toneladas de lagostins por ano, principalmente da Lousiana (EUA) e da China (SKURDAL & TAUGBOL 2002).

As espécies de lagostins comercialmente importantes e cultivadas em larga escala incluem: os representantes do gênero *Astacus*, nativos da Europa (*A. astacus*, *A. leptodactylus* e *A. pachypus*), que tiveram suas populações severamente afetadas pela praga do lagostim no século 18 e atualmente a safra é de apenas 10% do que era registrado antes da praga do lagostim. *Pacifastacus leniusculus* da América do Norte, é a única espécie do gênero bem adaptada a condições de cultivo, sendo cultivada tanto na América do Norte como na Europa. Na Europa esta espécie tem sido usada para repor os estoques de *A. astacus* dizimadas pela praga do lagostim; *Procambarus clarkii*, outra espécie norte americana, é a espécie mais amplamente introduzida de todos os lagostins e se tornou comercialmente importante em muitos países, principalmente na Espanha, China, Quênia e Lousiana (USA) (SKURDAL & TAUGBOL 2002, LEWIS 2002, HUNER 2002, HOLDICH 2002)

Para as espécies Australianas do gênero *Cherax* (*C. albidus*, *C. destructor*, *C. quaricarinatus* e *C. tenuimanus*) que são cultivadas comercialmente, existe um futuro bastante promissor, e as espécies do gênero norte americano *Orconectes* e *Cambarus* possuem potencial comercial, sendo possível, devido à demanda, que brevemente espécies deste gênero se tornem comercialmente importantes (HOLDICH 2002).

## OBJETIVOS

A presente proposta de investigação partiu da hipótese de que o “lagostim” fossorial *Parastacus defossus* apresenta um perfil bio-ecológico diferenciado quando comparado com as demais espécies conhecidas de lagostins límnicos.

Para testar-se tal hipótese procurou-se avaliar a história natural da espécie, mais especialmente buscando informações sobre:

### 1. Estudo das habitações subterrâneas

1.1. Verificar a distribuição espacial das aberturas;

1.2. Verificar as alterações sazonais na forma das aberturas;

1.3. Caracterizar a estrutura das galerias;

1.4. Identificar a fauna associada no interior das galerias;

1.5. Verificar as condições ambientais (temperatura, tipo de solo, oxigênio dissolvido) nas quais os crustáceos são encontrados;

### 2. Comportamento escavador

2.1. Verificar o comportamento escavador da espécie;

2.2. Quantificar o volume de sedimento transportado;

### 3. Dinâmica populacional

3.1. Estimar a densidade populacional;

3.2. Estimar o crescimento individual;

3.3. Estimar a proporção sexual;

### 4. Biologia reprodutiva

4.1. Verificar o ciclo sazonal de reprodução;

4.2. Verificar a fecundidade;

4.3. Avaliar o desenvolvimento morfológico dos poros genitais e o desenvolvimento gonadal;

4.4. Identificar o padrão sexual da espécie;

5. Análise do conteúdo estomacal

5.1. Caracterização qualitativa e quantitativa dos itens alimentares.

## METODOLOGIA

### Área de estudo

Os trabalhos de campo, junto à população de *Parastacus defossus*, foram desenvolvidos na região do Lami, Município de Porto Alegre, RS, ( $30^{\circ} 11'41''\text{S}$ - $51^{\circ} 06'00''\text{W}$ ), na propriedade particular do Sr. Nairo Guerisoli denominada “Haras Costa do Cerro”, na qual foi localizada uma população muito grande da espécie em questão (Figura 1).

A área do Lami, segundo PRINTES (2002) compreende terrenos sedimentares recentes, originários de eventos transgressivos-progressivos provocados pelas variações relativas do nível do mar, experimentadas pela região litorânea sul do Brasil durante o período Quaternário. Os terrenos recentes são caracterizados por sedimentos arenosos e subordinadamente, ocorrem areias finas e argilas. Esses depósitos localmente são cobertos por planossolos ferralíticos. A Ponta do Cego, naquele espaço, constitui uma forma residual do relevo granítico, onde aflora o Granito São Pedro. Particularmente na Ponta do Cego, bem como no Morro São Pedro, dominam litologias caracterizadas por monzo a sienogranitos, de cor cinza claro, com textura equigranular média. Em termos hidrológicos, a área é drenada pelo arroio do Lami. O arroio corta a fisiografia baixa típica de restinga em direção ao Lago Guaíba (PRINTES 2002).

A área de coleta, junto ao Morro São Pedro, é um espaço usado para pastejo, com perfil baixo, campestre e úmido, com alguns espaços ocupados por restos de vegetação arbustiva secundária (Figura 2). No local, o mapa pedológico (MENEGAT *et al.*, 1998), registra uma sobreposição de três tipos de solo. Junto à elevação granítica do morro São

Pedro, o solo é do tipo Podzólico vermelho-amarelo, com substrato de sienogranito e monzogranito isótropo rosado. Nas áreas adjacentes encontra-se associação planossolo e podzólico vermelho-amarelo com substrato de depósito eluvionar, coluvionar e leque aluvial e solo Aluvial com substrato de depósito fluvial (MENEGAT *et al.*1998). Nesta área, *P. defossus*, constrói suas habitações subterrâneas não necessariamente próximas de sistemas de água abertos, preferindo os campos alagados onde o nível do lençol freático permanece próximo a superfície durante a maior parte do ano.

O município de Porto Alegre, segundo MORENO (1961) localiza-se na área climática cfa (subtropical úmido sem estação seca), com significativas variações devido às diferenças de relevo, cuja característica morfoclimática pertence à periferia do bordo erodido do planalto basáltico, com temperatura média do mês mais quente (janeiro) superior a 22°C e temperatura média anual inferior a 18°C. Nos registros do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária (8º Distrito de Meteorologia), constam referentes aos anos de 1989 a 1994: média das temperaturas máximas entre 29,6 e 36,9°C, sendo os meses mais frios maio, junho e julho. As máximas pluviométricas ocorrem em julho, setembro, outubro, novembro e dezembro, com média de 117,4mm para todo o ano (MORENO 1961).

No verão de 2004 e 2005 as amostragens foram prejudicadas pela seca que atingiu o Brasil meridional, causando um rebaixamento do nível do lençol freático a mais de 2 metros abaixo do nível do solo, impossível de ser alcançado com o aparelho de coleta adotado. Conseqüentemente não houve amostragens em março e abril 2004 e em janeiro e fevereiro 2005. A tabela I mostra as diferenças entre os índices pluviométricos no período de amostragem em comparação com os dados históricos.

Tabela I. Índices pluviométricos durante os verões no período de amostragem (fonte: Sistema de Monitoramento Agrometeorológico: [www.agritempo.gov.br](http://www.agritempo.gov.br)).

Meses	Média		
	Histórica (1961-2006)	2004	2005
Dezembro	98,2 mm	18,4 mm	56,0 mm
Janeiro	99,1 mm	52,4 mm	28,8 mm
Fevereiro	100,1 mm	93,0 mm	30,3 mm
Março	106,0 mm	14,4 mm	135,0 mm

### **As amostragens**

As coletas foram realizadas uma vez por mês, de janeiro de 2003 a agosto de 2005.

Para o desenvolvimento das diferentes metodologias adotadas no trabalho, na área de estudo foram selecionadas três diferentes sub-áreas: A sub-área A destinou-se ao estudo da distribuição espacial das aberturas das galerias subterrâneas; a sub-área B foi reservada para a análise das galerias (parâmetros físico-químicos da água, morfologia) e coleta de exemplares de *Parastacus* e a sub-área C ficou para o estudo da dinâmica populacional.

### **Coleta dos exemplares**

Os exemplares de *P. defossus* foram coletados com o auxílio de uma bomba de sucção, confeccionada em tubo PVC segundo modelo utilizado pelo Prof. Sérgio Rodrigues da Universidade de São Paulo (Figura 3A). Devido a seu modo de vida exclusivamente em habitações subterrâneas, a coleta com a utilização de tais bombas torna-se muito eficiente,

pois o animal é sugado do interior das galerias juntamente com a água contida em suas habitações. O reconhecimento das galerias é feito através da presença das chaminés argilosas encontradas na área de amostragem (Figura 3B, Figura 4 A e B).

Em cada mês, foram coletados aproximadamente 30 exemplares de *P. defossus*. Em laboratório os animais tiveram registrado o comprimento da carapaça e o peso. Analisou-se a morfologia dos poros genitais, segundo critério de ALMEIDA & BUCKUP (1999). Dos 30 animais coletados em campo mensalmente, 10 foram anestesiados em *freezer* para posterior dissecação. Nestes exemplares foram feitas observações macroscópicas das gônadas, seguido de fixação para processamento histológico. O estômago foi removido para a análise do conteúdo alimentar. Exemplares foram mantidos em laboratório em aquários individuais com sedimento proveniente do local de coleta para observação do comportamento escavador.

Além da coleta dos exemplares de *P. defossus*, a cada saída a campo também foram registrados parâmetros físicos e químicos do ambiente, como temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido e nível do lençol freático. Amostras de água foram recolhidas do interior das galerias para verificar a fauna existente, juntamente com os lagostins; moldes das habitações subterrâneas foram obtidos para verificar sua morfologia e amostras de solo foram analisadas quanto à granulometria.

A metodologia específica adotada em cada etapa será detalhada nos artigos que se seguem.

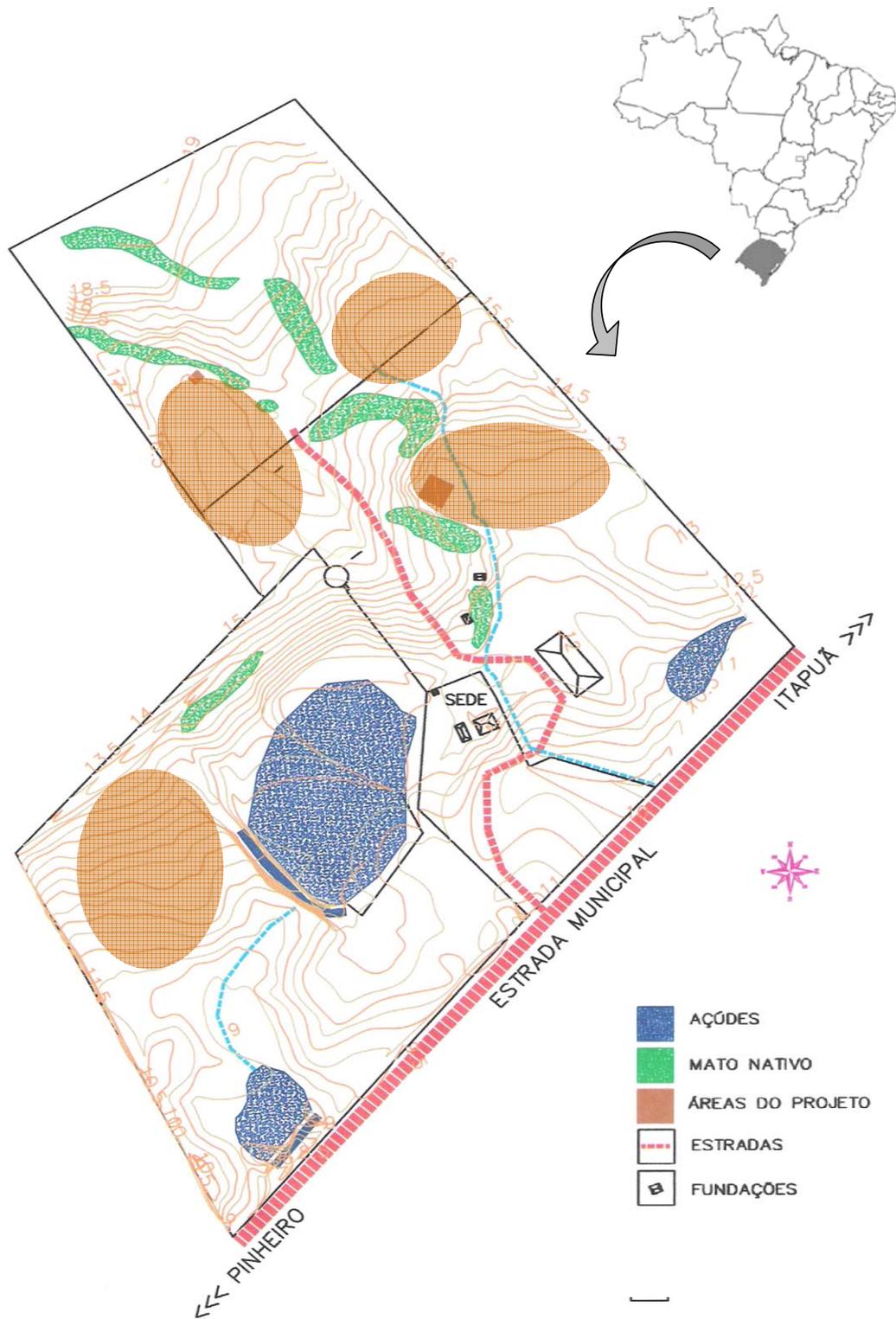


Figura 1. Mapa altimétrico da área de coleta Haras “Costa do Cerro”, Lami, Município de Porto Alegre, RS.



Figura 2. A e B. Visão panorâmica da área de coleta Haras “Costa do Cerro”, Lami, Município de Porto Alegre, RS.



Figura 3. A. Bomba de sucção em PVC, utilizado para a coleta de *Parastacus defossus*. B. Chaminé de argila construída por *Parastacus defossus*.



Figura 4. A e B. Chaminés de argila construídas por *Parastacus defossus*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAHAMSSON, S. A. A. 1966. Dynamics of an isolated population of the crayfish *Astacus astacus* Linne. **Oikos**, Copenhagen, **17**: 96-107.
- ABRAHAMSSOM, S. A. A. & C. R. GOLDMAN. 1970. Distribution, density and production of the crayfish *Pacifastacus leniusculus* Dana in Lake Tahoe, Califórnia – Nevada. **Oikos**, Copenhagen, **21**: 83-91.
- ADIYODI, R. G. & T. SUBRAMONIAM. 1983. Arthropoda-Crustacea, p. 443-495. *In*: K. G. ADIYODI & R. G. ADIYODI (Eds). **Reproductive Biology of Invertebrates: Oogenesis, Oviposition and Oosorption**. vol 1. John Wiley & Sons, London.
- ALLAN, D. J. & A. S. FLECKER. 1993. Biodiversity conservation in running waters: identifying the major factors that threaten destruction of riverine species and ecosystems. **BioScience**, **43**: 32-43.
- ALMEIDA, A. O. & L. BUCKUP. 1997. Aspectos anatômicos e funcionais do aparelho reprodutor de *Parastacus brasiliensis* (von Martens) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **14** (2): 497-509.
- ALMEIDA, A. O. & L. BUCKUP. 1999. Caracteres sexuais primários e secundários do lagostim *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea, Parastacidae). **Nauplius**, Botucatu, **7**: 113-126.
- ALMEIDA, A.O. & L. BUCKUP. 2000. Occurrence of protandric hermaphroditism in a population of the neotropical freshwater crayfish *Parastacus brasiliensis* (Parastacidae). **Journal of Crustacean Biology**, Woods Hole, **20** (2): 224-230.

- AMESTOY-ROSSO, F. 1983. Algunos aspectos sobre la biología de *Parastacus defossus* (Crustacea, Parastacidae). **Resúmenes e Comunicaciones de las Jornadas de ciencias naturales**, Montevideo, **3**: 55-56.
- ATINKSON, R. J.A & A. C. TAYLOR. 1988. Physiological ecology of burrowing decapods. **Symposium of Zoology of Society of London**, London, **59**: 201-226.
- BERTALANFFY, L. 1938. A quantitative theory of organic growth. **Human Biology**, Detroit, **10** (2): 181-213.
- BROOK, H. J.; T. A. RAWLINGS & R. W. DAVIES. 1994. Protogynous sex change in the intertidal isopod *Gnorimosphaeroma oregonense* (Crustacea: Isopoda). **Biological Bulletin**, Standford **187**: 99-111.
- BROWN, P. B., P. TAZIK, M. L. HOOE & W. G. BLYTHE. 1990. Consumption and apparent dry matter digestibility of aquatic macrophytes by male and female crayfish (*Orconectes virilis*). **Aquaculture**, Amsterdam, **89**: 55-64.
- BUCKUP, L. 1999. Família Parastacidae, p.319-327. *In*: L. BUCKUP & G. BOND-BUCKUP (Eds). **Os Crustáceos do Rio Grande do Sul**. Editora da Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 502p.
- BUCKUP, L. & A. ROSSI. 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **40** (4): 663-681.
- BUCKUP, L. & A. ROSSI. 1993. Os Parastacidae do espaço maridional andino (Crustacea, Astacidea). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **53**(2):167-176.
- BUCKUP, L. & M. M. GRALA. 2001. The burrows of *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea, Parastacidae). **Fifth Internacional Crustacean Congress and Summer 2001 Meeting of the Crustacean Society**, Melbourne, p. 46.

- BURRAS, L.; G. BLAKEWOOD; T. RICHARD & J. V. HUNER. 1995. Laboratory observations on burrowing in different soils by commercially important procambarid crayfish. **Freshwater Crayfish**, Oxford, **10**: 427-434.
- CARL L. R. 1995. Physiological Adaptations of crayfish to the Hypoxic Environment. **American Zoologist**, Chicago, **35**: 1-11.
- CHARNIAUX-COTTON, H. 1954. Endocrinologie et génétique du sexe chez les Crustacés supérieurs. **Annales d'Endocrinologie**, Paris, 36-42.
- CHARNIAUX-COTTON, H. & G. PAYEN. 1985. Sexual Differentiation, p. 217-299. In: D. E. Bliss (Ed.). **The Biology of Crustacea**. vol. 9. Academic Press, X + 550p, New York.
- CHIBA, S.; S. GOSHIMA & Y. SHINOMIYA. 2003. Male-male competition selects for delayed sex change in the protandrous shrimp *Pandalus latirostris*. **Marine Biology**, berlin, **142**: 1153-1157.
- CORREIA, A. M. & O. FERREIRA. 1995. Burrowing Behavior of the Introduced Red Swamp Crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae) in Portugal. **Journal of crustacean Biology**, Woods Hole, **15**(2): 248-257.
- FAXON, W. 1898. Observations on the Astacidae in the United States National Museum and in the Museum of Comparative Zoology, with descriptions of new species. **Proceedings of the Unites States National Museum**, Washington, **20**: 643-694.
- FELDER, L.D., W. J. MARTIN & W. J. GOY. 1985. Patterns in early postlarval development of decapods, in A.M. WENNER (Ed.) *Larval Growth* (Boston, A.A. Balkema), pp. 163-225.
- FIDALGO, M. L.; A. P. CARVALHO & P. SANTOS. 2001. Population dynamics of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) from the aveiro region, Portugal (Decapoda, Cambaridae). **Crustaceana**, Leiden, **74**(4):369-375.

- FONTOURA, N. F. & L. BUCKUP. 1989a. O crescimento de *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **49** (4): 897-909.
- FONTOURA, N. F. & L. BUCKUP. 1989b. Dinâmica populacional e reprodução em *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **49** (4): 911-921.
- FRIES, B. G. 1984. Observações sobre o lagostin de água doce *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) em condições de cultivo experimental em laboratório (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **44** (4): 409-416.
- GHERARDI, F. 2002. Behaviour. p. 258-290. *In*: D. M. Holdich (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, XVII + 702p.
- GHERARDI, F., A. RADDI; A. BARBARESI & G. SALVI. 2000. Life history patterns of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in an irrigation ditch in Tuscany, Italy. P. 99-108. *In*: J. C. V. KLEIN & F. R. SCHRAM (Eds.). **The Biodiversity Crisis and Crustacea**. A. A. Balkema, Rotterdam.
- GHISELIN, M. T. 1969. The evolution of hermafroditism among animals. **Quarterly Reviews of Biology** **44**: 189-208.
- GILLER, P. S. & B. MALMQVIST. 1998. **The Biology of Streams and Rivers**. Oxford University Press, Oxford.
- GISBURGER-VOGEL, T. & H. CHARNIAUX-COTTON. 1982. Sex determination, p. 257-281. *In*: **The Biology of Crustacea, vol 2**, Academic Press, New York.

- GOODARD, J. S. 1988. Food and feeding, p. 145-166. *In*: D. M HOLDICH & R. S. LOWERY (Eds). **Freshwater crayfish: Biology, management and exploitation**. Portland, Timber Press, 498p.
- GROW, L. & H. MERCHANT. 1980. The burrow habitat of the crayfish *Cambarus diogenes diogenes* (Girard). **American Midland Naturalist**, Notre Dame, **103** (2), 231-237.
- GROWNS, I. O. & A. M. M. RICHARDSON. 1988. Diet and burrowing habits of the freshwater crayfish *Parastacoides tasmanicus tasmanicus* Clarck (Decapoda: Parastacidae). **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, Melbourne, **39**: 525-34
- GUAN, R. & R. P. WILES. 1998. Feeding ecology of the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* in a British lowland river. **Aquaculture**, Amsterdam, **169**: 177-193.
- GURNEY, R. 1935. The mode of attachment of the young in the crayfishes of the families Astacidae and Parastacidae. **Annals and Magazine of Natural History**, London, **16**, 553-555.
- HARTNOLL, R. G. 1983. Growth. *In*: D. E. BLISS (Ed). **The Biology of Crustacea: Embriology, morphology and Genetics**. Academic Press, X + 550p, New York.
- HASEWAGA, Y.; E. HIROSE & Y. KATAKURA. 1993. Hormonal control of sexual differentiation and reproduction in Crustacea. **American Zoologist**, Chicago, **33**: 403-411.
- HOBBS, H. H. & WHITEMAN, M. 1991. Notes on the burrow, behavior, and color of the crayfish *Fallicambarus devastator* (Decapoda: Cambaridae). **The Southwestern Naturalist** **36** (1), 128-135.
- HOGGER, J. B. 1988. Ecology, population biology and behaviour, p.114-144. *In*: D. M HOLDICH & R. S. LOWERY (Eds). **Freshwater crayfish: Biology, management and exploitation**. Portland, Timber Press, 498p.

- HOLDICH, D. M. 2002. General Biology. p.1-29. *In*: D. M. HOLDICH (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, United Kingdom.
- HOLLOWS, J. W.; C. R. TOWNSEND & K. J. COLLIER. 2002. Diet of the crayfish *Paranephrops zealandicus* in bush and pasture streams: insights from stable isotopes and stomach analysis. **New Zealand Journal of Marine and freshwater Research**, Wellington, **36**: 129-142.
- HOOPS, H. H. JR. 1942. The crayfishes of Florida. University of Florida Publications, **Biological Science Series**, Gainesville, **3**: 1-79.
- HORWITZ, P. 1988. Secondary sexual characteristics of females of the freshwater crayfish genus *Engaeus* (Decapoda, Parastacidae). **Crustaceana**, Leiden, **54**: 25-32.
- HORWITZ, P. & B. KNOTT. 1983. The burrowing habitat of the koonac *Cherax plebeus* (Decapoda: Parastacidae). **Western Australian Naturalist**, Perth, 113-117.
- HORWITZ, P.H. & A. M. M. RICHARDSON. 1986. An ecological classification of the burrows of Australian freshwater crayfish. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, Melbourne, **37**, 237-242.
- HORWITZ, P.H.; A. M. M. RICHARDSON & A. BOULTON. 1985a. The burrow habit of two sympatric species of land crayfish, *Engaeus urostrictus* and *E.tuberculatus* (Decapoda: Parastacidae). **Victoria Naturalist**, Victoria, **102**: 188-197.
- HORWITZ, P. H. J.; A. M. M. RICHARDSON & P. M. CRAMP. 1985b. Aspects of the life history of the burrowing crayfish, *Engaeus leptorhynchus*, at Rattrays Marshes, North East Tasmania. **Tasmanian Naturalist**, Hobart, **82**, 1-5.
- HUNER, J. V. 2002. *Procambarus*. P. 541-584. *In*: D. M. HOLDICH (Ed) **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, United Kingdom.

- HUXLEY, T. H. 1878. On the classification and the distribution of the crayfishes.  
 Proceedings of **the Zoological Society of London**, London, 752-288.
- HUXLEY, T. H. 1879. On the classification and the distribution of the crayfishes.  
 Proceedings of the Zoological Society of London, London, 752-788.
- JUCHAULT, P. 1999. Hermaphroditism and gonochorism. A new hypothesis on the evolution of sexuality in Crustacea. **Evolution**, Lancaster, **322**: 423-427.
- KATAKURA, Y. 1989. Endocrine and genetic control of Sex differentiation in the Malacostracan Crustacea. **Invertebrate Reproduction and Development**, Rehovot, **16**: 177-182.
- KHALAILA, I.; S. WEIL & A. SAGI. 1999. Endocrine balance between male and female components of the reproductive system in intersex *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). **Journal of Experimental Zoology**, Cambridge, **283**: 286-294.
- KILIAN, E. F. 1986. La construcción de los tudos habitacionales del *Parastacus nicoleti* (Philippi). **Facultad de Estudios Generales, Universidad Austral de Chile**, Santiago, 1-7.
- KROL, R. M., HAWKINS, W. E., & OVERSTREET, R. M. 1992. Reproductive components. In Harrison, F. W. and Humes A. G. (Eds), *Microscopic Anatomy of the Invertebrates*, vol 10, pp. 295-343, Wiley-Liss, New York.
- LAKE, P. S. & K. J. NEWCOMBE. 1975. Observations on the ecology of the crayfish *Parastacoides tasmanicus* (Decapoda: Parastacidae) from South Western Tasmania. **Australian Zoologist**, 18: 197-214
- LEWIS, S. D. 2002. *Pacifastacus*. p. 511-540. In: D. M. Holdich (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, United Kingdom. XVII + 702p

- LODGE, D. M., C. A. TAYLOR, D. M. HOLDICH & J. SKURDAL. 2000. Nonindigenous crayfish threaten North American freshwater biodiversity: lessons from Europe. **Fisheries**, Bethesda, **25**(8): 7-20.
- MARTENS, E. von. 1869. Südbrasilianische Süß-Und Brackwasser-Crustaceen nach den Sammlungen des Dr. Reinh. Hensel. **Arch Naturg**, **35**(1): 1-37.
- MANTELATTO, F. L. M., FRANZOZO, A. & M. L. NEGREIROS-FRANZOZO. 1995. Population structure of *Hepatus pudibundus* (Decapoda: Calappidae) in Fortaleza Bay, Brazil. **Revista de Biología Tropical**, San Jose, **43**(1-3), 265-270.
- MCMAHON, B. R. 2002. Physiological Adaptation to Environment. p. 327-376. *In*: D. M. Holdich (Ed.). **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, United Kingdom. XVII + 702p
- MENEGAT, R.; M. L. PORTO; C.C. CARRARO & L. A. D. FERNANDES. 1998. Atlas Ambiental de Porto Alegre. Porto Alegre, Ed. Universidade/UFRGS, 228p.
- MOMOT, W. T. 1967. Population dynamics and productivity of the crayfish *Orconectes virilis*, in a marl lake. **American Midland naturalist**, Notre Dame, **78**(1): 55-81.
- MOMOT, W. T. 1995. Redefining the role of crayfish in aquatic ecosystems. **Reviews in Fisheries Science**, Philadelphia, **3**: 33-63.
- MOMOT W. T., H. GOWING & P. D. JONES. 1978. The dynamics of crayfish and their role in ecosystems. **The American Midland naturalist**, Notre Dame, **99**: 10-35.
- MORENO, J. A. 1961. **Clima do Rio Grande do Sul**, **Boletim Geográfico**, Porto Alegre, v.6, n.11, p. 49-73.

- NASH, R.D.M.; C. J. CHAPMAN; R. J. A. ATKINSON & P. J. MORGAN. 1984. Observations on the burrows and burrowing behavior of *Calocaris macandreae* (Crustacea: Decapoda: Thalassinoidea). **Journal of Zoology**, London, **202**, 425-439.
- NEGREIROS-FRANZOZO, M. L., MANTELATTO, F. L. M. AND FRANZOZO, A., 1999, Population biology of *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Portunidae) from Ubatuba (SP), Brazil. **Scientia Marina**, Barcelona, **63**(2), 157-163.
- NORO, C. K.; L. BUCKUP & G. BOND-BUCKUP. 2005. The juvenile stages of *Parastacus brasiliensis* (von martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Journal of Natural History**, London, 39 (21): 1851-1873.
- NYSTRÖM, P. 2002. Ecology. p. 192-235. *In*: D. M. HOLDICH (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, United Kingdon. XVII + 702p.
- ORTMANN, A. 1902. The geographical distribution of freshwater decapods and its bearing upon ancient geography. **Proceedings Philosophical Society**, Philadelphia, **41**: 267-400.
- PARKYN, S. M., K. J. COLLIER & B. J. HICKSI. 2001. New Zealand stream crayfish: functional omnivores but trophic predators?. **Freshwater Biology**, **46**:641-652.
- PRICE, J. O. & J. F. PAYNE. 1984. Size, age and population dynamics in an r-selected population of *Orconectes neglectus chaenodactylus* Williams (Decapoda, Cambaridae). **Crustaceana**, Leiden, **46**(1): 29-38.
- PRINS, R. 1968. Comparative ecology of the crayfish *Orconectes rusticus* and *Cambarus tenebrosus* in Doe Run, Meade Country, Kentucky. **Int. Revue ges. Hydrobiol**, **53**(5): 667-714.

- PRINTES, R. C. (Org). 2002. **Plano de manejo Participativo da Reserva Biológica do Lami**. Porto Alegre: SMAM. 102p.
- REYNOLDS, J. D. 2002. Growth and Reproduction. p. 152-191. *In*: D. M. HOLDICH (Ed.) **Biology of Freshwater Crayfish**. London, Blackwell Science Ltd, XVII + 702p.
- RICHARDSON, A. M. M. 1983. The effect of the burrows of a crayfish on the respiration of the surrounding soil. **Soil Biology and Biochemistry** **15**: 239-242.
- RICHARDSON, A. M. M. & R. SWAIN. 1980. Habitat requirements and distribution of *Engaeus cisternarius* and three subspecies of *Parastacoides tasmanicus* (Decapoda: Parastacidae), burrowing crayfish from an area of south-western Tasmania. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, Melbourne, **31**: 475-484.
- RICHARDSON, A. M. M. & V. WONG. 1995. The effect of a burrowing crayfish, *Parastacoides* sp., on the vegetation of Tasmanian wet heathlands. **Freshwater Crayfish**, Oxford, **10**: 174-182.
- RIEK, E. F. 1971. The freshwater crayfishes of South America. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, Washington, **84** (16), 129-136.
- RIEK, E. F. 1972. The phylogeny of the Parastacidae (Crustacea: Astacoidea) and description of a new genus of Australian freshwater crayfishes. **Australian Journal of Zoology** **20**, 369-389.
- RUDOLPH, E. 1990. Caracteres sexuales externos del camarón excavador, *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882). **Biota**, Valparaíso, **6**: 19-34.
- RUDOLPH, E. H. 1995a. A case of gynandromorphism in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Decapoda: Parastacidae). **Crustaceana**, Leiden, **68** (6), 705-711.

- RUDOLPH, E. H. 1995b. Partial protandric hermaphroditism in the burrowing crayfish *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, **15**, 720-732.
- RUDOLPH, E. 1997a. Aspectos Fisicoquimicos del Habitat y Morfologia de las Galerias del Camaron Excavador *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae) em el Sur de Chile. **Gayana Zoológica**, Concepción, **61** (2): 97-108.
- RUDOLPH, E. H. 1997b. Intersexualidad en el camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poeppig, 1835) (Decapoda, Parastacidae). **Investigaciones Marinas**, Valparaíso, **25**: 7-18.
- RUDOLPH, E. H. 1999. Intersexuality in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). **Crustaceana**, Leiden, **72**, 325-337.
- RUDOLPH, E. 2002. New records of intersexuality in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Decapoda, Parastacidae). **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, **22**, 377-389.
- RUDOLPH, E. & L. ZAPATA. 1986. Desarrollo embrionario y postlarval del camarón de las vegas *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882), em condiciones de laboratorio, **Biota**, Valparaiso, **2**, 37-50.
- RUDOLPH, E. & J. RÍOS. 1987. Desarrollo ontogenético del camarón de las vegas *Parastacus pugnax* (Poeppig, 1835), em condiciones de laboratorio. **Biota**, Valparaiso, **3**: 45-48.
- RUDOLPH, E. & A. ALMEIDA. 2000. On the sexuality of South American Parastacidae (Crustacea, Parastacidae). **Invertebrate Reproduction and Development**, Rehovot, **37**: 249-257.

- RUDOLPH, E. & J. C. IRACABAL. 1994, Desarrollo embrionario y postembrionario del camaron de rio *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae), em condiciones de laboratorio. **Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción, Chile**, Concepción, **55**: 43-49.
- RUDOLPH E. & A. CRANDALL. 2005. A new species of burrowing crayfish *Virilastacus rucapihulensis* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from southern Chile. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, Washington, **118**: 765-776.
- RUDOLPH, E.; A. VERDI & J. TAPIA. 2001. Intersexuality in the burrowing crayfish *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Decapoda, Parastacidae). **Crustaceana**, Leiden, **74**, 27-37.
- SAGY, A.; I. KHALAILA; A. BARKI; G. HULATA & I. KARPLUS. 1996a. Intersex red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens): functional males with previtellogenic ovaries. **Biological Bulletin**, Standford, **190**: 16-23.
- SAGY, A.; R. SHOUKRUN; I. KHALAILA & M. RISE. 1996b. Gonad maturation, morphological and physiological changes during the first reproductive cycle of the crayfish *Cherax quadricarinatus* female. **Invertebrate Reproduction and Development**, Rehovot, **29**: 235-242.
- SAGY, A.; R. MANOR; C. SEGALL; C. DAVIS & I. KHALAILA. 2002. On intersexuality in the crayfish *Cherax quadricarinatus*: an inducible sexual plasticity model. **Invertebrate reproduction and Development**, Rehovot, **41**: 27-33.
- SANTOS, S., NEGREIROS-FRANZOZO, M. L. AND FRANZOZO, A., 1995, Estructura poblacional de *Portunus spinimanus* Latreille, 1819 (Crustacea, Brachyura, Portunidae) en la Enseada de la Fortaleza, Ubatuba (SP). **Revista de Investigaciones Marinas**, Valparaiso, **16**(1-3), 37-43.

- SHIMODA, K. & A. TAMAKI. 2004. Burrow morphology of the ghost shrimp *Nihonotrypaea petalura* (Decapoda: Thalassinidea: Callinassidae) from western Kyushu, Japan. **Marine Biology**, Berlin, **144**, 723-734.
- SKURDAL, J. & T. TAUGBOL. 2002. *Astacus*. p.467-510. *In*: D. M. Holdich (Ed.). **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, United Kingdom.
- SUTER, P. J. & A. M. M. RICHARDSON. 1977. The biology of two species of *Engaeus* (Decapoda: Parastacidae) in Tasmania III. Habitat, Food, Associated Fauna and Distribution. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, Melbourne, **28**: 95-103.
- TAYLOR, C. A. 2002. Taxonomy and Conservation of Native Crayfish Stocks. p. 236-257. *In*: D. M. HOLDICH (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. London, Blackwell Science Ltd, XVII + 702p.
- THOMAS, W. J. 1973. The hatchling setae of *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) (Decapoda, Astacidae). **Crustaceana**, Leiden, **24**, 77-89.
- VOGT, G. 2002. Functional anatomy. p. 53-151. *In*: D. M. HOLDICH (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. London, Blackwell Science Ltd, XVII + 702p .
- ZOLESSI, L. C. & M. E. PHILIPPI. 1995. Lista sistemática de Decapoda del Uruguay (Arthropoda: Crustacea). **Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo**, Montevideo, **12**: 1-24.
- WILLIAMS, D. D.; N. E. WILLIAMS & H. B. N. HYNES. 1974. Observations on the life history and burrow construction of the crayfish *Cambarus fodiens* (Cottle) in temporary stream in southern Ontario. **Canadian Journal of Zoology**, Ontario, **52**: 365-370.

## SÍNTESE DOS RESULTADOS

- A água contida no interior das galerias de *Parastacus defossus* apresentou-se ligeiramente ácida e o conteúdo de oxigênio dissolvido foi baixo (média 1,43 mg/L) (18,2%), mínimo 0,7 mg/L, máximo 1,93 mg/L. O pH variou pouco durante o período de amostragem, com média de 5,2. A temperatura da água variou de 16,6 °C (outono 2004) a 23 °C (primavera 2003) (média 19,6°C).

- Nas águas superficiais a média da temperatura da água foi 21,6°C, o oxigênio dissolvido teve uma média de 6,48 mg/L e o pH 6,2.

- Amostras do solo não revelaram diferenças entre áreas com galerias e áreas sem galerias. O solo apresentou maior porcentagem de areia grossa, areia fina e silte.

- Em uma área de 100 m<sup>2</sup>, o número médio de aberturas foi de 2,37/ m<sup>2</sup>. A distribuição de Poisson não se ajustou a frequência observada, portanto a hipótese distribuição randômica das aberturas foi rejeitada. A Distribuição Binomial negativa teve um ajuste significativo ( $\alpha=0,01$ ) (inverno/03:  $\chi^2=18,34$ ; primavera/03:  $\chi^2=20,92$ ; verão/04:  $\chi^2=23,47$ ; outono/04:  $\chi^2=27,0$ ; inverno/04:  $\chi^2=20,74$ ), indicando que a distribuição das aberturas é agregada.

- Foi observada uma grande proporção de aberturas obstruídas durante o verão e outono (96,7% e 95,3% respectivamente). Aberturas sem o fechamento foram mais frequentes no inverno (26,7%) e primavera (11,6%). A construção de novas chaminés pelos lagostins foi mais frequente na primavera de 2003, quando foram registradas 118 novas construções.

- As galerias atingiram 1,15 metros de profundidade na área estudada e um comprimento de 1,5 metros. Horizontalmente, a área ocupada por um sistema de galerias pode atingir 1,44 m<sup>2</sup>. As galerias abrem-se na superfície através de uma ou mais aberturas que podem ser reconhecidas por torres cônicas argilosas (chaminés), que resultam do acúmulo de sedimento removido pelo lagostim durante o processo de escavação. As chaminés podem atingir até 20 cm de altura. Da superfície, túneis inclinados, com um diâmetro médio de 8 a 12 cm descem verticalmente e, a aproximadamente 30 cm abaixo da superfície, estes túneis secundários se conectam a um túnel principal, com diâmetro de 11 a 16 cm, sendo que este túnel desce até atingir o nível do lençol freático. Neste ponto, a galeria termina em uma porção mais alargada, conhecida como câmara habitacional.

- Em cada sistema de galerias, foram encontrados, no máximo, dois indivíduos adultos de *P. defossus* (não considerando a estação reprodutiva, quando os juvenis são encontrados juntamente com os adultos na mesma galeria).

- A densidade populacional em uma área de 100 m<sup>2</sup> foi estimada em 120 indivíduos.

- Foi verificado que os apêndices utilizados pelo lagostim para manipular e transportar o sedimento durante o processo de escavação são: terceiros maxilípodos, primeiro e segundo (e, ocasionalmente o terceiro) pereiópodos.

- O processo de escavação pode ser caracterizado em três etapas: 1. O lagostim recolhe uma porção do solo do fundo da toca, utilizando o segundo par de pereiópodos e os terceiros maxilípodos. O material recolhido é retido na região antero-ventral sobre uma espécie de assoalho formado pelo 2º par de pereiópodos e terceiros maxilípodos. A retenção lateral é garantida pelos quelípodos, que se unem ao nível dos dácilios. 2. O substrato (*pellet*) recolhido pelo lagostim é transportado até a abertura da galeria, na superfície, onde é depositado pelo afastamento dos pereiópodos 1 e 2 e com auxílio do

terceiro maxilípodo. 3. Na superfície, o *pellet* é manipulado pelo animal, que utiliza-se principalmente dos terceiros maxilípodos, da face externa dos quelípodos e do 2° pereiópodo. Ocasionalmente o animal utiliza também o terceiro par de pereiópodos. O tempo de manipulação do sedimento variou de 2 a 12 segundos.

- O tempo para a construção de um tunnel de 30 cm de profundidade variou de 3 a 32 dias. No nível da água, foi possível observar uma porção mais alargada, formando uma câmara onde o animal permaneceu a maior parte do tempo.

- O peso médio de sedimento transportado por um lagostim em 48 horas foi 345,43 g ( $\pm 35,26$  g), e o volume médio foi 312,42 cm<sup>3</sup> ( $\pm 36,48$  cm<sup>3</sup>). Pode-se estimar que em um ano um único lagostim pode escavar o mínimo de 18,8 kg por ano.

- A fauna predominante na água das galerias e na água das poças superficiais foi Copepoda. Cladocera, Ostracoda e larvas de Diptera Chironomidae e Culicidae e de Ephemeroptera (Baetidae) foram os mais abundantes nas águas superficiais. O isopodo Janirideo *Heterias exul* e espécimes de Tardigrada foram registrados somente no interior das galerias. Oligochaeta, Nematoda, Acarina e Rotifera foram registrados em ambos ambientes. Verifica-se que somente Tardigrada, Isopoda Janiridae e algumas espécies de Copepoda são capazes de sobreviver nas condições existentes nos interior das galerias. Desta forma pode-se verificar a existência de uma fauna específica que vive exclusivamente nas galerias de *P. defossus* e podem ser consideradas como constituintes do *pholeteros*.

- Durante o período de Janeiro/03 a Agosto/05 foram amostrados um total de 766 exemplares de *P. defossus*, sendo 315 machos (41,12%), 278 fêmeas (36,30%), 166 juvenis (21,67%) e 7 animais em fase de transição macho-fêmea. (0,91%).

- A localização das gônadas é torácica e consiste de um par de lóbulos. Tanto fêmeas como machos apresentam dois pares de dutos genitais, um par anterior (oviduto) e um par posterior (vaso deferente). Os ovidutos se originam na zona média da gônada, tem o mesmo diâmetro em toda sua extensão e se estendem na direção das aberturas genitais femininas, localizadas na coxa do terceiro pereiópodo. Os vasos deferentes se originam logo atrás do ponto de origem dos ovidutos e se estendem até a coxa do quinto par de pereiópodos, onde localizam-se as aberturas genitais masculinas.

- Indivíduos abaixo de 18 mm, possuíam os terceiros gonóporos sempre obstruídos. Entre 18-22 mm, 8% possuíam o terceiro par de gonóporos obstruídos, entre 22-26mm 4,5% e entre 26-30mm 1,6%. A dissecação dos animais (entre 18 a 30mm) demonstrou que apesar do poro obstruído, as gônadas já se apresentavam diferenciadas. Entre as fêmeas intersexuadas, 86,5%, apresentaram os terceiros gonóporos cobertos por uma fina membrana, porém, 14% apresentaram este gonóporo obstruído. Estas fêmeas apresentaram gônadas com vários graus de desenvolvimento, desde gônadas imaturas (de coloração branca) até gônadas maduras (de coloração verde).

- Através da análise macroscópica e histológica das gônadas foi possível distinguir 3 formas sexuais: fêmeas intersexuadas (246), machos intersexuados (259) e indivíduos com gônada mista (ovotestis) (7).

- **Fêmeas intersexuadas:** Os ovários são formados por dois túbulos paralelos unidos somente na porção anterior e circundado por uma membrana de tecido conectivo. Observa-se o início da diferenciação do ovário já em animais com 8,70mm Cc. Nas fêmeas imaturas, os ovários são pequenos e possuem uma coloração de translúcida a branca. Com a proximidade da maturidade, os oócitos aumentam em volume e sua

coloração sofre um gradual escurecimento até adquirirem uma coloração castanho-esverdeada.

- As oogônias organizam-se constituindo ninhos, possuem núcleo grande e citoplasma escasso e pouco basófilo. Rodeando os ninhos estão às células foliculares de aspecto arredondado e de coloração basófila. Os oócitos primários encontram-se ao redor das oogônias e possuem um citoplasma homogêneo e basófilo. Os oócitos primários de maior tamanho são rodeados por uma camada de células foliculares, constituindo o início da formação dos folículos do ovário. Oócitos secundários são encontrados em fêmeas maduras e caracterizam-se pelo citoplasma eosinófilo e cheio de grânulos de vitelo.

- Os ovários foram classificados em seis diferentes estágios de desenvolvimento:

**Estágio I:** Não desenvolvido ou imaturo. Ovário de tamanho reduzido com uma coloração de translúcida a branca, encontrado em animais juvenis com tamanho de 8,70 mm a até 18,00 mm de comprimento de carapaça Apresenta grande quantidade de oogônias e poucos oócitos primários; **Estágio II:** Ovários em desenvolvimento, no estágio de maturação inicial. Ovário possui coloração branca e apresenta tamanho maior em relação ao estágio I. Apresenta grande número de oócitos primários e apenas poucos oócitos com início da formação de grânulos de vitelo na periferia das células. Encontrado em animais entre 18,00 a 30,69mm de Cc; **Estágio III:** Ovários em maturação. Os lobos ovarianos estão completamente evidenciados, sendo as gônadas mais volumosas em toda sua extensão e apresentam coloração amarela. Histologia semelhante ao ovário de coloração branca, mas já possuem alguns oócitos em início de vitelogênese secundária, com grânulos de vitelo com diâmetro de até 30 µm que se localizam na periferia do oócito, juntamente com oócitos em estágio de desenvolvimento inicial. Encontrado em animais entre 18,46 a 30,22mm de Cc; **Estágio IV:** Ovários em maturação avançada, gônadas muito volumosas e com

coloração laranja. Encontrado em animais entre 20,23 a 31,26mm de Cc. Predominam nesta fase grandes oócitos vitelogênicos com grandes placas vitelinas, com grânulos que podem atingir até 90 µm de diâmetro e que caracterizam a coloração intensa da gônada; **Estágio V:** Coloração verde oliva. Semelhante ao estágio anterior, porém com maior número de oócitos secundários. Encontrado em animais com tamanho entre 21,35 a 32,32mm de Cc; **Estágio VI:** Gasto ou desovado. Foi observado em animais com tamanho entre 22,63 a 30,46mm de CC. Ovários após desova que se apresentam com características macroscópicas similares as da gônada imatura. Histologicamente, o estroma ovariano apresenta-se desorganizado com numerosos espaços vazios, correspondentes aos locais em que se encontravam os ovócitos antes do processo de desova (folículos vazios). Observam-se também células germinais em maturação e mesmo ovócitos maduros, além de outros em processo de degeneração.

- **Machos intersexuados:** Os testículos são esbranquiçados, com um aspecto globular e são formados por dois túbulos paralelos unidos por tecido conectivo apenas na região anterior. A diferenciação do testículo já pode ser observada em um exemplar de 12,72mm de Cc. O testículo é formado pela parede testicular, pelos ácinos testiculares e pelos túbulos coletores longitudinais. Cada lóbulo testicular apresenta um único estágio da espermatogênese, o que é conhecido como maturação assincrônica. Na base de cada lóbulo testicular foram encontradas várias células não germinativas, ou células de Sertoli.

- O vaso deferente é macroscopicamente indiferenciado, curto e fino. Nos machos os ovidutos se mostram muito finos e translúcidos o que, juntamente com a obstrução dos gonóporos correspondentes, indicam a ausência de funcionalidade da função feminina.

- No interior do vaso deferente pode-se registrar a presença do espermátóforo, que é composto por uma matriz PAS positiva que circunda a massa de espermatozóides.

Microscopicamente pode-se distinguir três diferentes regiões: região proximal, média e distal. Na porção média encontra-se localizada a glândula androgênica.

- **Indivíduos transicionais:** Foram encontrados 7 indivíduos com gônada mista, com tamanhos entre 21,88 a 31,24 mm Cc. Estes exemplares apresentaram o poro feminino obstruído. Na gônada, observou-se tecido ovariano na região anterior e tecido testicular na porção posterior. A região ovariana apresentou oócitos em previtelogênese e vitelogênese primária. O testículo apresentou ácinos em atividade, sendo que no seu interior foi possível observar espermatogônias, espermatócitos e espermátides. Dos 7 exemplares analisados, 4 apresentaram a região ovariana mais desenvolvida, enquanto que nos outros 3 o tecido testicular ocupava a maior porção, estando presente apenas poucos oócitos primários ou oócitos primários e alguns oócitos em início de vitelogênese.

- Foram obtidos dados de comprimento de 754 exemplares de *Parastacus defossus*, sendo 588 adultos e 166 juvenis. O maior macho coletado em campo mediu 32,42 mm, a maior fêmea 32,32mm e o menor animal coletado foi um juvenil com 3,23 mm de Cc.

- A entrada de juvenis na população (recrutamento) ocorreu na primavera de 2003 e no verão 2005, a partir do qual é possível observar três grupo etários: o primeiro grupo representa a geração de animais juvenis que entraram na população, uma segunda geração de animais com aproximadamente um ano de idade e tamanho aproximado entre 16-18mm Cc, e a terceira geração, de indivíduos maiores e mais velhos, com idade aproximada de 2 anos e com tamanhos superiores a 24 mm de Cc.

- A curva de crescimento em comprimento para os indivíduos de *P. defossus* coletados em campo é descrita pela equação:  $Ct = 30,98 [1 - e^{-0,0026 (t + 44,86)}]$  (fig 3). O comprimento assintótico estimado pela curva de crescimento (30,98mm) ficou muito próximo do comprimento do cefalotórax do maior animal medido em campo (32,42mm).

- A longevidade, calculada pela fórmula inversa de von BETALLANFY, foi estimada em 1.219,56 dias, e pelo método de PAULY (1980), 1.198,7 dias, o que representa uma longevidade de aproximadamente 40 meses para a espécie em questão.

- A curva de crescimento em comprimento do cefalotórax para os juvenis de *P. defossus* cultivados em laboratório é descrita pela equação:  $Ct = 19,29 [1 - e^{-0,0048(t + 37,14)}]$ .

- Machos e fêmeas estiveram presentes durante todos os meses de amostragem e em todas as classes de tamanho, sendo que a maior frequência (tanto machos como fêmeas) foi registrada nas classes de tamanho ente 24 a 30 mm de Cc.

- Diferenças significativas no tamanho de machos e fêmeas foram observadas nas classes de tamanho de 26-28 mm ( $\chi^2=5,54$ ;  $p>0,05$ ), bem como na classe 28-30 mm ( $\chi^2=4,77$ ;  $p>0,05$ ). Observa-se uma diminuição de frequência nas classes de tamanho maiores, que pode ser resultado da mortalidade.

- A proporção sexual durante o período de amostragem foi de 1:0,88 (macho:fêmea) ( $\chi^2=2,3$ ;  $p>0,05$ ). Analisando a proporção sexual sazonalmente não foram constatadas diferenças significativas na proporção de machos e fêmeas ( $p>0,05$ ). Na análise da proporção sexual entre as classes de tamanho, foram constatadas diferenças significativas apenas nas classes de tamanho 26-28 mm ( $\chi^2=5,43$ ;  $p>0,05$ ). e 28-30 mm ( $\chi^2=4,77$ ;  $p>0,05$ ) de Cc, nas quais os machos foram mais frequentes.

- A presença de fêmeas ovígeras foi registrada em outubro e novembro de 2003 e em novembro e dezembro de 2004, sendo a estação reprodutiva bem definida no período da primavera. Durante o período de amostragem das 278 fêmeas coletadas, apenas 17 estavam ovígeras (6,11%), a menor com tamanho de 22,63 mm (nov/04) e a maior 30,46 mm (dez/04).

- A estimativa do número aproximado de ovos liberado por uma fêmea na estação reprodutiva, foi determinado com base em duas fêmeas ovígeras (28,22mm e 30,32mm de Cc), que possuíam 30 e 35 ovos, respectivamente, aderidos na região abdominal.

- A maior percentagem de animais com gônadas maduras (coloração laranja e verde) encontrou-se no inverno e primavera. Estes dados corroboram com o período de aparecimento das fêmeas ovígeras que ocorre no fim da primavera. Portanto, no inverno e primavera as gônadas se preparam para a estação reprodutiva, no fim da primavera encontram-se as fêmeas ovígeras e a partir do verão, há uma grande porcentagem de fêmeas com gônadas imaturas (coloração branca e amarela) que indica que os oocitos já tenham sido liberados dos ovários.

- Devido ao baixo número de fêmeas ovígeras capturadas (17), a maturidade sexual das fêmeas de *P. defossus* foi estimada através da análise da menor fêmea com gônada madura. A menor fêmea com ovário com coloração laranja mediu 20,23mm e com coloração verde mediu 21,35mm. Considerando que a menor fêmea ovígera captura mediu 22,63mm, é possível supor que a maturidade sexual das fêmeas ocorra a partir de 20mm de comprimento cefalotorácico, o que corresponde a aproximadamente um ano de idade.

- Foram analisados 175 estômagos de *P. defossus*. Destes, 3 (1,71%) estavam vazios, 23 (13,14%) parcialmente vazios, 35 (20%) de vazio a médio, 33 (18,86%) médios, 61 (34,86%) de médio a cheio e 20 (11,43%) completamente cheios.

- Foram identificados oito (8) itens alimentares: material lenhoso, restos de raízes e caules, sementes, fragmentos de folhas verdes de gramíneas, algas filamentosas, fragmentos vegetais não identificados, matéria animal e matéria não identificada. Entre os itens de matéria de origem animal foram encontrados partes de Arthropoda como cabeças,

mandíbulas e patas e animais não fragmentados, como formigas, ácaros, larvas de Diptera Chironomidae, Isopoda Janiridae, Copepoda, Nematoda e Oligochaeta.

- A matéria de origem vegetal foi o item predominante nos estômagos. O item mais freqüente foi matéria de origem vegetal não identificado, seguido de fragmentos de raízes e caules. A matéria de origem animal esteve pouco presente no conteúdo estomacal. O verão foi a estação onde a matéria de origem animal esteve mais presente com 6,09%; já no outono (0,63%), inverno (1,21%) e primavera (1,42%) os valores foram baixos.

# CAPÍTULO 1

Running head: Noro, C. K. and Buckup, L., The burrows of *Parastacus defossus*

**THE BURROWS OF *PARASTACUS DEFOSSUS* (DECAPODA, PARASTACIDAE)  
A FOSSORIAL FRESHWATER CRAYFISH FROM SOUTH BRAZIL.**

*Clarissa Köhler Noro and Ludwig Buckup*

Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, prédio 43435, sala  
214, Porto Alegre, Brasil. (CKN: [clarissanoro@hotmail.com](mailto:clarissanoro@hotmail.com))

**Artigo submetido: Journal of Crustacean Biology**

## ABSTRACT

*Parastacus defossus* is a fossorial crayfish species, which constructs its tunnel systems in swampy areas in Uruguay and in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. The present field study was carried out in Lami, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, from May 2003 through August 2005. Environmental measurements (temperature, pH, dissolved oxygen, and water-table depth) of the water in the galleries were made monthly. Burrow morphology was analyzed by means of resin and gypsum casts. The spatial distribution and changes in the number and shape of the surface openings over time were observed in a 100 m<sup>2</sup> area. To estimate the spatial distribution of the openings, the observed distribution was compared with the expected distribution by the Poisson and Negative Binomial frequency-distribution models. The population density was estimated by direct observation and counts in the study area. Inside the burrows of *P. defossus* the water temperature ranged between 16.6 °C (autumn 2004) and 23 °C (spring 2003). The water was hypoxic and slightly acidic and the dissolved oxygen content was very low (mean 1.43 mg/L) (18.2%). The soil in the sampling area had high percentages of coarse sand, fine sand, and silt. The spatial distribution of the openings had a significant fit to the Negative Binomial distribution, indicating that the distribution of the openings is aggregated, which could be confirmed from the burrow morphology. The galleries are always formed by a central tunnel with multiple branchings that connect the underground water to the soil surface by one or more openings that can be recognized by the chimneys. From knowledge of the burrow morphology, the population density was estimated in 120 individuals/100 m<sup>2</sup>.

## INTRODUCTION

Members of several groups of decapod crustaceans live in subterranean habitats, from marine-intertidal zones to semiterrestrial environments. Among the reptant crustaceans, construction of burrows is known and documented in species of the suborders Astacidea, Thalassinidea and Brachyura (Rice and Chapman, 1971; Vannini, 1980; Dworschak, 1983, 2001; Nash et al., 1984; Atkinson and Taylor, 1988; Shimoda and Tamaki, 2004). Among the diverse functions attributed to decapod galleries are as a refuge from predators, a site for molting and copulation, incubation of eggs, or protection of the young. In semiterrestrial species, the principal function is protection from adverse environmental conditions, such as temperature and humidity extremes, and guarantee access to water (Nash et al., 1984; Atkinson and Taylor, 1988; Gherardi, 2002; Shimoda and Tamaki, 2004).

In the suborder Astacidea, the burrowing habit is known in the marine lobsters of the genus *Nephrops* (L.) (Rice and Chapman, 1971) and in the superfamilies Astacoidea and Parastacoidea which include the families of freshwater crayfishes. Crayfishes belonging to the family Parastacidae occur in Oceania (Australia and Tasmania), Madagascar, and South America. They live in a wide variety of habitats, including creeks, rivers, lakes, reservoirs, marshes, and irrigation canals; these crayfishes are among the best-adapted members of the group to adverse environmental conditions (Hogger, 1988; Richardson, 1983; Rudolph, 1997; Buckup, 1999). Although the majority of species are confined to the margins of streams and lakes, some are found in peat bogs and clayey soils at long distances from sources of surface water (Richardson, 1983; Buckup, 1999).

Different species of the family Parastacidae may burrow to a greater or lesser extent, and their tunnels can vary in structure, from simple and unbranched, such as *Cherax plebejus* (Hess, 1865) (Horwitz and Knott, 1983), to complex systems of galleries with several surface openings and extensive branching, such as in the species of the genera *Engaeus* and *Parastacoides* (Horwitz et al., 1985a; Gherardi, 2002). Aspects of the bio-ecological characteristics of species of Parastacidae of Oceania have been studied for a longer time, resulting in diverse publications that have treated subterranean habitations (Lake and Newcombe, 1975; Suter and Richardson, 1977; Richardson and Swain, 1980; Horwitz and Knott, 1983; Horwitz et al., 1985 a,b; Horwitz and Richardson, 1986; Grown and Richardson, 1988).

According to Riek (1972), the species of Parastacidae can be separated into two distinct ecological groups. Primary burrowers are represented by species which permanently inhabit subterranean waters, live in complex tunnels, and show a moderate to strong burrowing habit. Secondary burrowers inhabit lotic or lentic waters and show weak burrowing activity. The species of Astacoidea of the Northern Hemisphere belonging to the families Cambaridae and Astacidae are composed principally of tertiary burrowers, which live in open surface waters, and few of their species have a burrowing habit (Richardson and Swain, 1980).

In South America there are representatives of two of the ecological groups proposed by Riek (1972). *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) inhabits rivers and lakes in Chile and Lake Nahuel-Huapi in Argentina (Manning and Hobbs, 1977). *Virilastacus araucanius* (Faxon, 1914) and the eight species of the genus *Parastacus* inhabit subterranean waters in southern Brazil, Uruguay, and south-central Chile (Buckup and Rossi, 1980, 1993; Rudolph, 1997; Buckup 1999). *Virilastacus rucapihuelensis*, a recently described species,

was collected in subterranean galleries in the province of Osorno, Chile (Rudolph and Crandall, 2005).

The sparse information on subterranean habitations of species in South America is limited to the work of Kilian (1986) and Rudolph (1997) on the Chilean species *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882). For the Brazilian species *P. pilimanus* (von Martens, 1869), Buckup and Rossi (1980) described the gallery morphology; for the other species, there are only references to the locality where specimens were collected (Buckup and Rossi, 1980). For *P. defossus* Faxon, 1898, it is known that, in contrast to *P. brasiliensis* (von Marten, 1869) and *P. varicosus* faxon, 1898 which construct their galleries along the banks or in the streambeds of watercourses (Buckup and Rossi, 1980; Fries, 1984), this species generally lives farther from open water, preferring muddy fields, where it constructs its subterranean habitations, which reach the level of the water table (Buckup, 1999; Buckup and Rossi, 1980, 1993). Faxon (1898), describing the type material, related that the three specimens were collected together with *P. saffordi* Faxon, 1898 in “holes” 2 meters deep, in Montevideo, Uruguay.

Because of the small number of studies on bio-ecological characteristics of the Brazilian species, the present investigation had the objective of describing the subterranean habitations, as well as assessing the environmental conditions in which the fossorial species *Parastacus defossus* lives. This species has been recorded only in Brazil (Rio Grande do Sul) (Buckup and Rossi, 1980) and in Uruguay (Zolessi and Philippi, 1995).

## MATERIALS AND METHODS

The field study was carried out on a privately owned farm located in Lami (30°11'41" S – 51°06'00" W), Porto Alegre Municipality, State of Rio Grande do Sul, Brazil, from May 2003 through August 2005.

### **Environmental parameters**

Each month, three burrow systems were chosen in the research area, and temperature, pH, and dissolved oxygen were measured in the water inhabited by the crayfish. The measurements were made 10 cm below the burrow openings. During the summer months of 2004 and 2005, measurements could not be made because the extreme drought in this period sharply lowered the groundwater level, and the measuring instruments could not be used. To monitor the variation of the water table in the soil, a 1.5 m deep piezometer was set up. Soil samples were collected once during the field study, and their particle sizes analyzed.

### **Burrow morphology**

To investigate the morphology of the burrow systems, we used three different materials to obtain tunnel casts: gypsum, polyurethane foam, and polyester resin. Gypsum was used in four galleries. After approximately 48 hours, the casts were carefully excavated. The gypsum produced good casts, but is also fragile and easily breakable, so that it was impossible to dig out a complete one-piece structure. Polyurethane foam was tested in one gallery, but did not give good results. The reaction with the chemical reagent in this material is so rapid that the spume is produced before the primary liquid can completely fill the tunnel system, resulting in an incomplete cast. Polyester resin produced far superior casts. We used non-saturated polyester resin (Polyte) with its appropriate

catalyzer (Methyl-Ethyl-Acetone Peroxide) (Brasnox DM50) in three galleries. The resulting casts were very robust, and could be removed in one piece.

### **Spatial distribution**

Spatial distribution and changes in the number and shape of the surface burrow openings were monitored seasonally, from August 2003 to August 2004. An area of 100 m<sup>2</sup> was delimited and divided into 100 quadrats of 1 m<sup>2</sup>, with a nylon rope. In each season, all openings in each quadrat were located and plotted, and the status (sealed or unsealed) was recorded. The dispersion pattern of the openings was examined by comparing the observed frequency distribution of openings with the expected distribution, as described by the Poisson Distribution and Negative Binomial Distribution.

The Poisson Distribution is given by the function (Poole, 1974):  $P_x = a^x e^{-a} / x!$ , where,  $x$  is the number of individuals per unit,  $a$  is the mean number of individuals per unit, and  $x!$  is the  $x$  factorial. The Negative Binomial Distribution is given by the function:  $P_x = (1/q^k) [(k)(k+1)(k+2)...(k+x-1)/x!](p/q)^x$ , where  $p = \text{mean } x/k$ ,  $q = p+1$ , and  $k$  is a parameter of the distribution. The chi-square value was calculated to compare the observed and expected frequencies.

### **Population density**

The population density was calculated by direct observation, in a 100 m<sup>2</sup> area. In this area, the number of gallery systems was estimated by directly counting the openings. From previous knowledge of the structure of the subterranean tunnels and the number of individuals that inhabit each system, we could estimate the mean number of individuals per gallery, and from this the population density.

## RESULTS

### **Environmental parameters**

Inside the burrows of *P. defossus*, the water temperature ranged between 16.6 °C (autumn 2004) and 23 °C (spring 2003). The water was hypoxic and slightly acidic. The dissolved oxygen content was very low (mean 1.43 mg/L) (18.2%), minimum 0.7 mg/L, maximum 1.93 mg/L. The pH varied little during the year, averaging 5.2 (Table 1).

In autumn and winter, the soil became completely saturated or flooded (9 cm above the soil surface). In summer, the depth of the water table sank to up to 1.5 m deep. The soil where *Parastacus defossus* occurred had higher percentages of coarse sand, fine sand and silt (Table 2).

### **Spatial distribution**

In the study area (100 m<sup>2</sup>), the mean number of burrow openings was 2.37/ m<sup>2</sup>. The Poisson distribution model did not fit the observed frequency, and therefore the hypothesis that the burrows are randomly distributed was rejected. The Negative Binomial distribution had a significant fit ( $\alpha=0.01$ ) (winter/03:  $\chi^2=18.34$ ; spring/03:  $\chi^2=20.92$ ; summer/04:  $\chi^2=23.47$ ; autumn/04:  $\chi^2=27.0$ ; winter/04:  $\chi^2=20.74$ ), indicating that the distribution of the openings is aggregated, which could be confirmed from the burrow morphology. Actually, a tunnel system is always formed by a central tunnel with branches that open onto the surface.

There were a high proportion of sealed openings during summer and autumn (96.7% and 95.3% respectively). Unsealed openings were more frequent in winter (26.7%) and spring (11.6%). The construction of new chimneys by the crayfish was more frequent in

spring 2003, when 118 new chimneys were recorded. Construction of new chimneys was positively correlated with the rainy season.

### **Burrow morphology**

Analysis of the gypsum and resin casts indicated that the burrows of *P. defossus* may reach 1.15 meters depth, with a length of 1.50 meters. Horizontally, the area occupied by a gallery system may reach 1.44 m<sup>2</sup>. The galleries usually consist of several inclined tunnels that connect the underground water to the soil surface. The galleries open on the surface by one or more openings that can be recognized by the conical towers (chimneys), which result from deposition of sediment removed by crayfish during the burrowing process. The chimneys can reach 20 cm high and number 5 to 12. From the surface, inclined tunnels with a mean diameter of 8 to 12 cm descend. At 30 cm beneath the surface, these secondary tunnels connect to the larger main tunnel, which may be 11 to 16 cm in diameter, and this tunnel descends vertically or obliquely until it reaches the water table. The gallery ends in an enlarged portion, known as the habitation chamber, which is always at the level of the water table.

### **Population density**

During the field study, a maximum of 2 adult individuals of *P. defossus* were found per burrow (not considering the reproductive season, when juveniles were present together with adults in the same burrow). From knowledge of the burrow morphology, the population density in an area of 100 m<sup>2</sup> could be estimated at 120 individuals.

## **DISCUSSION**

The area in Lami where *P. defossus* occurs consists, in geological terms, of recent sedimentary deposits, mainly sand with some fine sand and clay (Printes, 2002). In this

area, *P. defossus*, as noted by others (Faxon, 1898; Buckup and Rossi, 1980), construct their tunnels far from open water bodies, preferring muddy fields where the underground water remains close to the surface for most of the year.

The soil texture analysis showed no differences between soils with and without crayfish burrows. In contrast, the Chilean species *P. nicoleti* occurs in areas with high percentages of fine sand, and is not found in areas with high percentages of coarse sand (Rudolph, 1997). In Australia, *Engaeus tuberculatus* and *E. urostrictus* prefer soils with high percentages of sand (40.6% and 47.6%), clay (34.8% and 29.5%), and silt (21.3% and 18.1%), respectively (Horwitz et al., 1985a). In the study area, the more important factors in the distribution of *P. defossus* were soil humidity and the level of the underground water, because the crayfish are confined to swampy areas.

The water in the subterranean tunnels of *P. defossus* is hypoxic and slightly acidic, and with a marked seasonal oscillation in the water-table level. The mean annual pH value in the environment of *P. nicoleti* is about 6.1 (Rudolph, 1997); however, an acidic environment seems to be common for many freshwater crayfishes. In Tasmania, Newcombe (1975) observed that water with a pH of 4.5 is typical in the galleries of *Parastacoides tasmanicus*, although pH values below 2.75 are lethal for this species.

Some of the physical and chemical factors from the burrow water seem to be directly related to precipitation. During the autumn and spring, the water table remained near the surface, or the soil became completely saturated or flooded. In this period, the water temperature inside the burrows varied little, and these oscillations may be milder in deeper regions of the burrow. During the dry months in summer and early autumn, the level of the water table declined sharply, making it impossible to access the water inside the burrows. In these dry conditions, we presume that dissolved oxygen and pH reached

minimum values, as observed elsewhere by Lake and Newcombe (1975) and Rudolph (1997). Because of this, the summer season seems to be a period of stress for the crayfish. The burrows serve an essential function in the biology of many crayfishes, mainly in species that live far from open water bodies, because the tunnels function as a refuge against extreme environmental conditions and provide the only access to water (Gherardi, 2002).

In spite of the advantages of the burrows, the low oxygen concentration in the water seems to be a common problem for all burrowing crayfishes. As well as in the present study with *P. defossus*, low oxygen concentrations have also been recorded in tunnels of Australian parastacids (Lake and Newcombe, 1975; Suter and Richardson, 1977; Horwitz et al., 1985), Chilean parastacids (Rudolph, 1997), and the North American cambarid *Fallicambarus devastator* (Hobbs and Whitman, 1991).

Many freshwater crayfishes are able to survive through long dry periods by remaining in the water retained in the habitation chamber of their burrow (Gherardi, 2002); when the water table is very deep, they are also able to remain completely exposed to the air. To deal with these extreme conditions, most burrowing crayfishes have adaptations that permit them to utilize aerial respiration to survive the dry conditions inside the burrow (Suter and Richardson, 1977; Grow and Merchant, 1980; Atkinson and Taylor, 1988; McMahon, 2002). Both *Cherax* sp. and *Procambarus clarkii*, although only temporary burrowers, can survive periods in excess of 28 days without any access to water, in conditions of relatively humid air (Huner, 1989).

### **Seasonal alterations**

The low number of open chimneys during the dry summer can be explained as a strategy to maintain humidity inside the burrows and maintain favorable conditions for

survival during the dry season. The higher number of newly constructed chimneys observed in spring may be related to a period of greater activity of the animals, which coincides with the reproductive season (between October and December) and with the rainy season.

### **Burrow morphology**

*Parastacus defossus* is a strong burrowing species, which constructs galleries with multiple branchings. These structures are very similar to the burrow morphology described for other species of parastacids from Oceania and South America (Lake and Newcombe, 1975; Suter and Richardson, 1977; Buckup and Rossi, 1980; Horwitz et al., 1985a,b; Rudolph, 1997).

Besides the similarity in the burrow morphology, parastacids may show variations in their galleries, depending on the area where they occur. Complex systems have been reported for *Cherax destructor* and for species of *Engaeus* (Suter and Richardson, 1977; Horwitz et al., 1985a,b; Hogger, 1988). The burrows of *Parastacooides tasmanicus tasmanicus* can vary from simple structures to many-branched systems (Lake and Newcombe, 1975; Harm and Richardson, 1994; Gherardi, 2002); other species, such as *Cherax plebejus*, construct very simple galleries (Horwitz and Knott, 1983). Of the South American species, *P. nicoleti* (see Kilian, 1986; Rudolph, 1997) and *P. pilimanus* (see Buckup and Rossi, 1980) build burrows that are organized similarly to those of *P. defossus*.

The depth of parastacid burrows is also determined by the water-table depth, and consequently the depth can vary with locality. Galleries 3 meters deep have been recorded for *Cherax destructor* and *E. tuberculatus* (Hogger, 1988).

Many authors, in their descriptions of parastacid galleries, have mentioned the presence of “blind chambers” that end among vegetation, assumed that these areas are used for feeding, and termed them “feeding chambers” (Lake and Newcombe, 1975; Richardson

and Swain, 1978; Horwitz and Knott, 1983; Horwitz et al., 1985; Hamr and Richardson, 1994; Rudolph, 1997). However, such chambers were not observed in the *P. defossus* galleries.

The models proposed by Hobbs (1942) to classify North American crayfish, and by Riek (1972) to classify the species of Parastacidae are both based on their burrowing behavior. In Australia, however, Horwitz and Richardson (1986) found a group of crayfish that dig burrows on hill slopes without connecting to the water table, and that do not conform to any of Hobbs' and Riek's categories. Therefore they proposed a new classification for the Australian crayfish, based on the relationship with the water table: 1. burrows in, or connected to open water; 2. burrows connected to the water table; 3. burrows independent of the water table. However, according to Hobbs (1942) and Horwitz and Richardson (1986), rarely will a crayfish belong to a single class of burrowers, because their habits can vary depending on the area where they live.

According to Hobbs (1942), *P. defossus* could be classified as a primary burrower, because it constructs complex burrow systems where it spends its life. In the classification of Horwitz and Richardson (1986), *P. defossus* could be classified as Type 2, because its galleries are connected to the underground water. However, like the Australian species *E. cisternarius* and *E. tuberculatus* (Suter and Richardson, 1977; Horwitz et al., 1985) and *P. nicolet* from Chile, *P. defossus* were also found on hill slopes in the collecting area in Lami, and therefore their galleries could be classified as Type 3.

### **Effects of the burrowing on the surrounding soil**

The effects of crayfish burrowing in the soil have been examined by a number of authors (see revision of Gherardi, 2002) who verified that crayfish are unable to construct galleries in coarse-grained soils; and also, that some species such as *Procambarus clarkii*

and *P. zonangulus* can redistribute 7500 cm<sup>3</sup> of soil within the space of a few days. Some investigators have mentioned the benefits of this burrowing, such as improved gas exchange in deeper soil (Lake and Newcombe, 1975; Richardson, 1983). However, in Texas, Hobbs and Whiteman (1991) described the damage caused by *Fallicambarus devastator* to plantations, because of the effects of sodium salts that were brought to the surface by the crayfish. According to Correia and Ferreira (1995), the burrowing activity of *P. clarkii* causes extensive harm to agriculture, mainly in ricefields, and this crayfish is considered a plague in many countries.

Table 1. Physical and chemical parameters (seasonal means) of the water in the burrows of *Parastacus defossus*.

Season	Water temperature (°C)	Dissolved oxygen		pH	Water table level (cm)
		(mg/L)	%		
Autumn/03	19,7	1,46	21,2	5,10	-
Winter/03	18,0	1,44	17	4,95	8,5
Spring/03	23,0	1,93	31,8	5,30	7,3
Summer/04	-	-	-	-	-
Autumn/04	16,6	1,33	13,3	6,03	9,0
Winter/04	17,9	1,74	22,9	5,58	7,5
Spring/04	22,8	0,7	8,9	-	7,5
Summer/04	-	-	-	-	-
Autumn/05	20,9	1,0	13,5	4,4	8,0
Winter/05	18,0	1,86	18,3	5,2	9,0

Table 2. Soil texture analyses in areas with and without burrows of *Parastacus defossus*.

	Clay	coarse sand	Fine sand	Silt
Area with burrows	10	39	26	25
	13	50	21	16
	8	32	20	40
Area without burrows	11	44	24	21

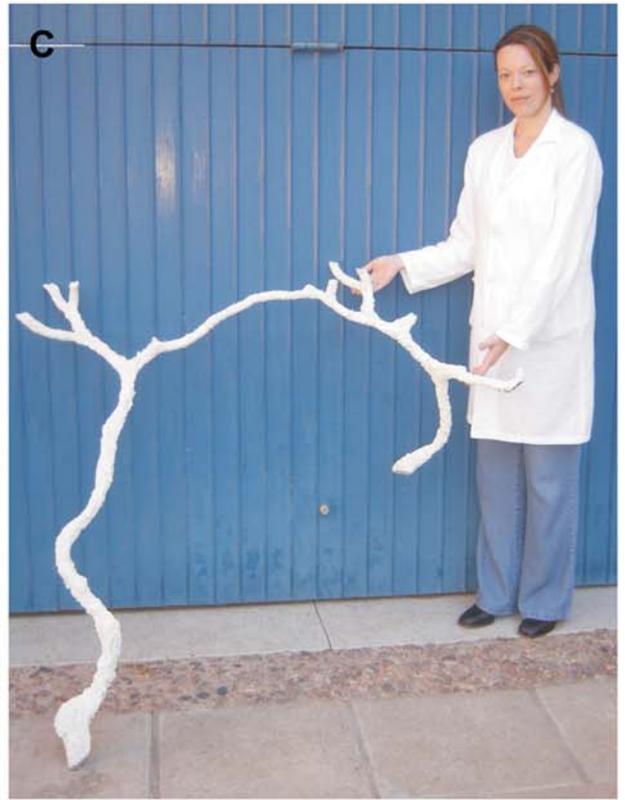


Figure 1. Burrow casts of *Parastacus defossus*. A. Excavation process of resin cast. B. Excavation process of gypsum cast. C, D, E. Ready burrows casts. Scale: 40cm.

#### LITERATURE CITED

- Atkinson, R. J. A. and A. C. Taylor. 1988. Physiological ecology of burrowing decapods. Symposium of Zoology Society of London, 59: 201-226.
- Buckup, L. and A. Rossi. 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). Revista Brasileira de Biologia 40 (4): 663-681.
- Buckup, L. and A. Rossi. 1993. Os Parastacidae do espaço maridional andino (Crustacea, Astacidea). Revista Brasileira de Biologia 53(2): 167-176.
- Buckup, L. 1999. Família Parastacidae, pp.319-327. In, L. Buckup and G. Bond-Buckup, ed. Os Crustáceos do Rio Grande do Sul. Editora UFRGS, Porto Alegre.
- Correia, A. M. and O. Ferreira. 1995. Burrowing behavior of the introduced red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae) in Portugal. Journal of Crustacean Biology, 15(2): 248-257.
- Dworschak, P. C. 1983. The biology of *Upogebia pusilla* (Petagna) (Decapoda, Thalassinidea). I. The burrows. Marine Ecology, 4: 19-43.
- Dworschak, P. C. 2001. The burrows of *Callianassa tyrrhena* (Petagna 1792) (Decapoda: Thalassinidea). Marine Ecology, 22(1-2): 155-166.
- Faxon, W. 1898. Observations on the Astacidae in the United States National Museum and in the Museum of Comparative Zoology, with descriptions of new species. Proceedings of the United States Natural Museum, 20: 642-694.
- Fries, B. G. 1984. Observações sobre o lagostin de água doce *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) em condições de cultivo experimental em laboratório (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). Revista Brasileira de Biologia, 44 (4): 409-416.
- Gherardi, F. 2002. Behaviour, pp.258-281. In, D. M Holdich, ed. Biology of freshwater crayfish. Blackwell Science Ltd., United Kingdon.

- Grow, L. and H. Merchant. 1980. The burrow habitat of the crayfish *Cambarus Diogenes*.  
American Midland Naturalist, 103: 231-237.
- Grows, I. O. and A. M. M. Richardson. 1988. Diet and burrowing habits of the freshwater  
crayfish, *Parastacoides tasmanicus tasmanicus* Clark (Decapoda:Parastacidae).  
Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 39: 525-534.
- Hamr, P. and A. M. M. Richardson. 1994. Life history of *Parastacoides tasmanicus*  
*tasmanicus* Clarke, a burrowing Freshwater crayfish from South-western Tasmania.  
Australian Journal of Marine and Freshwater research, 45: 455-470.
- Hobbs, H. H. Jr. 1942. The crayfishes of Florida. University of Florida Publications,  
Biological Science Series, 3: 1-79.
- Hobbs, H. H. and M. Whiteman. 1991. Notes on the burrow, behavior, and color of the  
crayfish *Fallicambarus devastator* (Decapoda: Cambaridae). The Southwestern  
Naturalist, 36 (1): 128-135.
- Hogger, J. B. 1988. Ecology, Population Biology and Behaviour, pp.114-144. In, D. M  
Holdich and R. S. Lowery, ed. Freshwater Crayfish, Biology, Management and  
Exploitation. Timber Press, Portland.
- Horwitz, P.H. and A. M. M. Richardson. 1986. An ecological classification of the burrows  
of Australian freshwater crayfish. Australian Journal of Marine and Freshwater  
Research, 37: 237-242.
- Horwitz, P.H.; A. M. M. Richardson and A. Boulton. 1985a. The burrow habit of two  
sympatric species of land crayfish, *Engaeus urostrictus* and *E.tuberculatus* (Decapoda:  
Parastacidae). Victoria Naturalist, 102: 188-197.

- Horwitz, P. H. J.; A.M.M. Richardson and P. M. Cramp. 1985b. Aspects of the life history of the burrowing crayfish, *Engaeus leptorhynchus*, at Rattrays Marshes, North East Tasmania. *Tasmanian Naturalist*, 82: 1-5.
- Horwitz, P. and B. Knott. 1983. The burrowing habitat of the koonac *Cherax plebeus* (Decapoda: Parastacidae) *Western Australian Naturalist*: 113-117.
- Huner, J. V. 1989. Survival of the red swamp and white river crayfish under simulated burrow conditions. *Crayfish tales* 8(1): 29.
- Filian, E. F. 1986. La construccion de los tudos habitacionales del *Parastacus nicoleti* (Philippi). pp.1-7. Facultad de Estudios generales, Universidad Austral de Chile.
- Lake, P. S. and K. J. Newcombe. 1975. Observations on the ecology of the crayfish *Parastacoides tasmanicus* (Decapoda: Parastacidae) from South Western tasmania. *Australian Zoologist*, 18: 197-214
- Manning, R. B. and H. H. Jr. Hobbs. 1977. Decapoda, pp. 157-162. In, S. H. Hulbert, ed. *Biota Acuática de Sudamérica Austral*. San Diego State University, San Diego, C.A.
- McMahon, B. R. 2002. Physiological Adaptation to Environment, pp.327-369. In, D. M. Holdich ed. *Biology of freshwater crayfish*. Blackwell Science Ltd. United Kingdom.
- Nash, R. D. M.; C. J. Chapman; R. J. A Atkinson and P. J. Morgan. 1984. Observations on the burrows and burrowing behavior of *Calocaris macandreae* (crustacean: Decapoda: Thalassinoidea). *Journal of Zoology*: 425-439.
- Newcombe, K. J. 1975. The pH tolerance of the crayfish *Parastacoides tasmanicus* (Erichson) (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana*, 29 (3): 231-234.
- Poole, R. W. 1974. *An introduction to Quantitative Ecology*. International Student Edition. 532p.

- Printes, R. C. (Org). 2002. Plano de manejo Participativo da Reserva Biológica do Lami. Porto Alegre: SMAM. 102p.
- Rice, A. L. and C. J. Chapman. 1971. Observations on the burrows and burrowing behavior of two mud-dwelling decapod crustaceans, *Nephrops norvegicus* and *Goneplax rhomboids*. *Marine Biology*, 10: 330-342.
- Richardson, A.M.M. and R. Swain. 1980. Habitat requirements and distribution of *Engaeus cisternarius* and three subspecies of *Parastacoides tasmanicus* (Decapoda: Parastacidae), burrowing crayfish from an area of south-western Tasmania. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 31: 475-484.
- Richardson, A. M. M. 1983. The effect of the burrows of a crayfish on the respiration of the surrounding soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 15: 239-242.
- Riek, E. F. 1972. The phylogeny of the Parastacidae (Crustacea: Astacoidea) and description of a new genus of Australian freshwater crayfishes. *Australian Journal of Zoology*, 20: 369-389.
- Rudolph, E. 1997. Aspectos Fisicoquimicos del Habitat y Morfologia de las Galerias del Camaron Excavador *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae) em el Sur de Chile. *Gayana Zoologia*, 61 (2): 97-108.
- Rudolph, E. and K. A. Crandall. 2005. A new specie of burrowing crayfish, *Virilastacus rucapihuelensis* (Crustacea: Decapoda:Parastacidae), from southern Chile. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 118 (4): 765-776.
- Shimoda, K. and A. Tamaki. 2004. Burrow morphology of the gost shrimp *Nihonotrypaea petalura* (Decapoda: Thalassinidea: Callianassidae) from western Kyushu, Japan. *Marine Biology*, 144: 723-734.

- Suter, P. J. and A. M. M. Richardson. 1977. The biology of two species of *Engaeus* (Decapoda: Parastacidae) in Tasmania III. Habitat, Food, Associated Fauna and Distribution. Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 28: 95-103.
- Vannini, M. 1980. Researches on the coast of Somalia. The shore and the dune of Sar Uanle. 27. Burrows and digging behaviour in *Ocypode* and other crabs (Crustacea, Brachyura). Monitore zoologico Italiano (Suppl.) 13: 11-44.
- Zolessi, L. C. and M. E. Philippi. 1995. Lista sistemática de Decapoda del Uruguay (Arthropoda: Crustacea). Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia natural de Montevideo, 12: 1-24.

## CAPÍTULO 2

**The burrowing behavior of *Parastacus defossus* Faxon 1898 (Decapoda, Parastacidae)**

NORO, C. K.; FONSECA, L. S.; BUCKUP, L.; BOND-BUCKUP, G.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia. Av. Bento Gonçalves 9500, Brasil.  
[clarissanoro@hotmail.com](mailto:clarissanoro@hotmail.com)

**Artigo submetido: Hydrobiologia**

**Abstract.** The aim of this study was to investigate the burrowing behavior of *Parastacus defossus*, a species that excavates burrows in marshy areas of Uruguay and the state of Rio Grande do Sul, south Brazil. The specimens were collected between July and September 2005 in Lami, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. In the laboratory they were maintained in individual aquaria containing water and soil from the original habitat. Observations of digging behavior were made by direct observation and by video recordings under infrared light. To estimate the amount of sediment transported by one animal, the material deposited around the burrow opening in 48 hours was weighed. From the laboratory observations, we can report that the appendages used by *Parastacus defossus* to transport and manipulate the sediment were the third maxillipeds and the first and second, and occasionally the third pereopods. The entire burrowing process could be divided into three steps. The time spent to burrow a 30-cm deep tunnel varied from 3 to 32 days. The mean weight of the sediment transported in 48 hours was 345.43 g ( $\pm$  35.26 g), and the mean volume was 312.42 cm<sup>3</sup> ( $\pm$  36.48 cm<sup>3</sup>).

Key words: crayfish, burrows, excavation process, appendages, sediment

## Introduction

The fossorial habit is common in the life histories of various groups of decapod crustaceans; the construction of subterranean burrows is known for a range of species that inhabit marine-intertidal zones to semi-terrestrial environments. A number of functions have been attributed to the decapod burrows, such as a refuge against predators, a place to molt and mate, incubate the eggs, or shelter the brood. In semi-terrestrial species, their principal function may be protection from harsh environmental conditions, such as extreme temperature and humidity, and guaranteed access to water (Nash *et al.*, 1984; Atkinson & Taylor 1988; Gherardi *et al.* 2000b; Shimoda & Tamaki 2004).

Among the marine decapod crustaceans, the burrow constructions are well known for thalassinids (Rice & Chapman 1971; Dworschok 1983, 2001), and in the intertidal zone, burrow construction were verified in brachyuran crabs, mainly the Ocypodidae and the Grapsidae (see review by Vannini 1980). In freshwater decapods, the fossorial mode of life is known in freshwater crayfishes of the suborder Astacidea. The freshwater crayfishes occur in the northern hemisphere, where they are represented by the families Astacidae and Cambaridae; and in the southern hemisphere, by only one family, Parastacidae, with species in Australia, New Zealand, Madagascar, Tasmania, and South America (Buckup 1999). Many crayfishes species are capable of constructing complex subterranean burrow systems, a habit especially well-developed in the families Cambaridae and Parastacidae. The tunnels open onto the soil surface, and can be recognized by the conical towers or “chimneys”, result from the accumulation of sediment (“pellets”) removed by the crayfish during the burrowing process (Buckup & Rossi 1993; Rudolph 1997; Buckup 1999).

Parastacids live in a wide range of habitats, and are among the crayfishes that exhibit the greatest adaptations to extreme environmental conditions (Richardson 1983;

Hogger 1988). Some species are found in peaty and clay soils far from open waterbodies (Richardson 1983; Buckup 1999); for these species, the galleries are of major importance as a means of assuring access to water and maintaining an environment with a high level of humidity, as well as a more stable habitat (Vannini 1980).

The Australian species of parastacids have been studied for a long time. Among the studies on burrow construction, we mention the works of Suter & Richardson (1977), Richardson & Swain (1980), Horwitz *et al.* (1985a,b), Horwitz & Richardson (1986), and Growns & Richardson (1988). In South America, only the Chilean species *P. nicoleti* (Kilian 1986; Rudolph 1997b) and the Brazilian species *P. brasiliensis* (Fries 1984; Fontoura & Buckup 1989 a,b) and *P. defossus* (Noro *et al.*, 2004) have been investigated.

*Parastacus defossus*, the object of the present study, is a typical fossorial species, which constructs its burrows in clay and swamp soils. This species occurs only in Rio Grande do Sul State, Brazil, and in a small area in northeastern Uruguay (Buckup 1999). There is few detailed, published information about the burrowing process of freshwater crayfishes, especially about the appendages used by the animals and about the weight and volume of the excavated sediment transported. Because of this lacuna in available information, the authors decided to develop an observational and experimental study on this theme, using crayfish of the species *Parastacus defossus* maintained in the laboratory.

## **Materials and methods**

The specimens of *P. defossus* used in the experiments were collected with a partial-vacuum pump in Lami, Porto Alegre Municipality, Rio Grande do Sul (30° 11'41'' S – 51° 06' 00'' W), between July and September 2005. In the laboratory, the crayfishes were

weighed and the cephalothorax length was measured with a digital caliper. Only adult crayfish with cephalothorax lengths between 23.32 mm and 29.56 mm were used for the experiments. The crayfish were kept in aquaria with water and the same clay soil from the collection site, and were used in two different experiments.

### **Experiment 1: burrowing behavior**

Five adult specimens of *P. defossus* were used for the observations of burrowing behavior. Two repetitions were done for each animal, totaling 10 observations. The animals were kept in individual aquaria (height 50 cm, length 45 cm, width 5 cm) with sediment and water. The aquaria were maintained in a room with mean temperature 20°C. Because crayfish are nocturnal, in order to facilitate the observations, the photoperiod of the room was inverted (day from 18:00 h to 6:00 h and night from 6:00 h to 18:00 h). Direct visual observations were complemented by recordings with an analog camera with infrared illumination. The 5-cm width of each aquarium was essential for observing the animals' subterranean activity.

A single crayfish was placed in each of 5 aquaria. The animals were monitored until the moment that they began the excavation process. When they began to burrow, their movements, the periodicity, and the means by which they transported the sediment from inside the tunnel to the surface, and also the appendages used during this activity were carefully observed.

### **Experiment 2: amount of transported sediment**

To estimate the amount of sediment transported by each crayfish from its tunnel, nine adult specimens of *P. defossus* were kept in individual aquaria (height 20 cm, length

25 cm, width 17 cm) filled with sediment and water from the collection site. For each individual, three repetitions were done, totaling 27 observations. All the sediment deposited around the openings in 48 hours (resulting from the animal's burrowing activity) was removed and weighed. To record the amount of sediment transported by each animal each time that it came to the surface, the individual pellets deposited by each crayfish on its chimney were removed and weighed.

## **Results**

The animals were observed daily, during the morning (corresponding to the dark period in the laboratory) from July through November 2005. This totaled 6 h per week of observations, plus 2 h 50 min of video recordings of the animals' activity. Confirming previous observations, we observed that burrowing activity occurred during the period of darkness; the animals were very rarely active during the day.

Through the laboratory observations it was possible to distinguish that the appendages used by the crayfish to transport and manipulate the sediment during the burrowing process are the third maxillipeds and the first and second (and occasionally the third) pereopods. The burrowing process was carried out in three steps: 1. In the first step, the crayfish collects a portion of soil from the bottom of the gallery, using its second pereopods and third maxillipeds. The material collected is held in the antero-ventral region on a kind of floor formed by the second pereopods and the third maxillipeds. Lateral support is provided by the chelipeds, which join each other at the dactyls (Figure 1B). 2. The substrate (pellet) taken by the crayfish is transported to the gallery opening at the surface, where it is deposited by turning over the first and second pereopods, with the aid of the third maxillipeds (Figure 2). 3. The pellet, still on the surface, is then manipulated by

the crayfish, which uses principally its third maxillipeds, the outer surface of the chelipeds, and the second pereopods (Figure 2). Occasionally, the crayfish may also use the third pereopods to manipulate the sediment. The time spent by the animal to manipulate the soil is quite variable, and in these experiments ranged from 2 to 12 seconds.

The sediment (pellet) transported by the animal was always removed from the deepest portion of the gallery and deposited on the soil surface, around the gallery opening, forming a "chimney" (the most common situation) (Figure 1 A). This sediment could also be carried to points up to 20 cm distant from the burrow opening. In a few cases, the pellets were deposited inside the habitation chamber.

The time spent to construct a tunnel in the aquaria varied among the different animals used in the experiment, and also among repetitions with the same animal (Table 1). To construct a tunnel 30 cm deep that corresponded to the dimensions of the aquaria, the time spent varied from 3 to 32 days. Two of the crayfish used in this experiment did not burrow at all. Most of the tunnels were inclined, and at the groundwater level they were enlarged, forming a chamber where the animal remained most of the time (Figure 1C). As the level of the water drops, the animal excavates a new chamber to secure access to the water.

The mean weight of sediment transported by one crayfish in 48 h was 345.43 g ( $\pm$  35.26 g), and the mean volume was 312.42 cm<sup>3</sup> ( $\pm$  36.48 cm<sup>3</sup>). The pellet weight was proportional to the animal's weight (Table 2); however, there was no correlation between a crayfish's size and its burrowing speed. Although the larger animals removed more sediment (mean 495.83 g), the animal that transported the least amount of sediment (mean 166.76 g) had a cephalothorax length of 27.14 mm (Table 3). The amount of sediment transported by the crayfish during the second experiment varied from 51.5 g.d<sup>-1</sup> to 277.9

g.d<sup>-1</sup>. Using these data for a one-year period, we estimated that a single crayfish can excavate a minimum of 18.8 kg per year.

## **Discussion**

Among the freshwater crayfish of the family Parastacidae there are species that burrow to a greater or lesser extent, and their tunnels can vary in structure from simple and unbranched, such as in *Cherax plebejus* (Horwitz & Knott 1983), to complex gallery systems with several openings and numerous branchings, such as in the species of the genera *Engaeus* and *Parastacoides* (Horwitz *et al.* 1985a; Gherardi 2002).

Riek (1972) proposed that the species of Parastacidae could be separated into two distinct ecological groups. The first group, termed primary burrowers, includes species that live permanently in subterranean waters, inhabiting complex tunnels and showing a moderate to strong burrowing habit. The second group includes species that inhabit lotic and lentic waters and show weak burrowing activity. According to this classification, *Parastacus defossus* would be a primary burrower, because it constructs galleries with several branches that reach groundwater level (Noro *et al.* 2004). For their mode of life in subterranean habitations, the species of *Parastacus* show several morphological adaptations. The abdomen is relatively small, because of the loss of its importance as a locomotory structure; the chelipeds are short and globose (Buckup & Rossi, 1980); and like all burrowing parastacids, the dactyls move in a vertical plane for greater efficiency in excavating (Riek 1972; Rudolph 1997).

The mode of excavation and transport of sediment from the galleries of *P. defossus* conforms to the pattern previously described for decapod crustaceans such as lobsters, langoustines, thalassinids, and alpheid shrimps, which also use the first three pairs of

pereiopods and the third maxillipeds to excavate and transport sediment (Stevens 1929; Rice & Chapman 1971; Howard & Bennett 1979; Grow 1981; Nash *et al.* 1984; Yanagisawa 1984).

In some species, the first pereiopods appear to have the main role, such as in *Upogebia* spp. (Stevens 1929). In others they are less used, such as in *Nephrops norvegicus*, which also uses the second and sometimes the third pair of pereiopods for transporting the excavated material to the surface (Rice & Chapman 1971). In this species, the main appendages used to manipulate the sediment are the third maxillipeds (Rice & Chapman 1971). Crabs normally use one or both of the chelipeds together with the second and third pairs of pereiopods to carry excavated sediment (Vannini 1988). In the Nearctic freshwater crayfish *Cambarus diogenes diogenes*, two excavation patterns have been observed: pushing or carrying the sediment, in which the chelae appear to be fundamental to the pushing process, together with the third maxillipeds (Grow 1981). On depositing the sediment at the opening of its gallery, *P. defossus* also uses its chelae to push the sediment. The burrowing behavior described by Kilian (1986) for the Chilean species *Parastacus nicoleti* appears very similar to that of *P. defossus*.

The construction of chimneys is known in several species of parastacids, such as the genera *Engaeus* (Suter & Richardson 1977; Horwitz *et al.* 1985a,b) and *Parastacus* (Kilian 1959; Rudolph 1997), and in cambarid species of the genera *Cambarus* and *Fallicambarus* (Grow 1981; Grow & Merchant 2003; Hobbs & Whiteman 1991). In *Fallicambarus devastator* the chimney can reach 30 cm in height and weigh up to 36 kg (Hobbs & Whiteman 1991).

In the experiments with *P. defossus*, there was wide variation in the time required to construct a burrow 30 cm deep. Grow (1981), observing the burrowing habit of *C. d.*

*diogenes*, established that 48 hours to 21 days are necessary to complete the last stage of the tunnel. Individuals of the thalassinid *Calocaris macandreae* dug a U-shaped tunnel in 24 hours (Nash *et al.* 1984).

In the laboratory experiments, the animals continued to excavate straight down as the water level in the aquarium dropped, clearly with the objective of maintaining contact with the more humid regions. The same phenomenon was observed in *P. nicoleti* (Kilian 1986), which confirms that the depth of the tunnels depends on the groundwater level.

In spite of their capacity to dig to great depths and to live in an environment that allows access to groundwater, inside their galleries the crayfish confront the problem of low dissolved oxygen content. In the galleries of *P. defossus* at Lami, we recorded a mean dissolved oxygen content of 1.5 mg/L; the lowest levels were recorded in the driest seasons, summer and the beginning of autumn (Noro *et al.* 2004).

To address the problem of hypoxia and lack of water, burrowing crayfishes are capable of adjusting to the gallery environment, using aerial respiration (MacMahon 2002; Suter & Richardson 1977). Species of *Cherax* and *Procambarus clarkii*, even though they are temporary burrowers, can survive for about 28 days without access to water, in humid conditions. Laboratory observations showed that even when the habitation chambers were full of water, the animals passed most of their time breathing air (MacMahon & Stuart 1999). This behavior is possible because of the structure of the branchia, which are cylindrical (trichobranchia) rather than lamellar, and therefore do not collapse in contact with air, permitting a dual respiration mode (McMahon 2002; Vogt 2002).

A similar behavior was observed in our experiments with *P. defossus*: the animals often positioned themselves at the air-water interface, or even completely exposed to air. This behavior was also observed by Williams *et al.* (1974) in *Fallicambarus fodiens*, and

by Grow & Merchant (1980) in *Cambarus diogenes diogenes*. These workers assumed that the crayfish must extract oxygen from the air in the burrows, and that the low oxygen content in the water is compensated by aerial respiration by diffusion through the gills.

Because freshwater crayfish, mainly parastacids, are such strong burrowers, the effects of their activity in the soil have been examined by some investigators, such as Grow & Merchant (1979), Richardson (1983), Hobbs & Whiteman (1991), and Richardson & Wong (1995). These authors observed that the crayfish can move up to 40,000 kg ha<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup> of soil. For example, *Procambarus clarkii* and *P. zonangulus* can redistribute 7500 cm<sup>3</sup> of soil within a few days (Gherardi 2002). Studies with *Fallicambarus devastator* showed that from 17 to 40 kg of soil were brought to the surface yearly (Hobbs & Whiteman 1991).

Estimating from the results of the laboratory experiments, the quantity of sediment moved by a single individual of *P. defossus* in one year would be at least 18.8 kg. From these data, the impact of the activity of *P. defossus* on the ecosystem of which it is a part was shown to be very significant. Moreover, the tunnels constructed by *P. defossus* create a microhabitat with higher humidity and stable temperatures, even in periods of drought. Taking advantage of these conditions, other groups of crustaceans such as Copepoda and Isopoda (Janiridae) use the burrows as a refuge and a place to reproduce (Reid *et al.* 2004, Noro *et al.* 2004). In this context, we can characterize *P. defossus* as an “ecosystem engineer” (in the expression of Lawton & Jones 1993), that is, an organism which modulates the availability of resources for other species, as it creates, maintains, or modifies habitats through its own activities.

Table 1. Time (days) estimated for individuals of *Parastacus defossus* to excavate a tunnel to a depth of 30 cm.

Cephalothorax length (mm)	Time (days) to excavate 30 cm	
	1st repetition	2nd repetition
26.82	3	7
27.87	0	0
28.71	13	28
28.77	13	32
29.56	0	0

Table 2. Weight of the pellets transported by each individual of *Parastacus defossus*.

Cephalothorax length (mm)	Crayfish weight (g)	Pellet mean weight (g)	Pellet weight as a proportion (%) of crayfish weight
29.56	7.249	5.867	80.9
23.00	3.5	3.861	110.3
26.82	5.258	4.791	91.1
23.73	3.67	3.24	88.2

Table 3. Weight and volume of the sediment transported by individuals of *Parastacus defossus* in 48 hours.

Cephalothorax length (mm)	Weight and volume of the sediment transported in 48 hours			
	Observation 1	Observation 2	Observation 3	mean
24.55	345.5 g 170 ml	421.6 g 220 ml	248.4 g 140 ml	338.5 g 176.66 ml
25.68	393.7 g 200 ml	173.4 g -	232.8 g 125 ml	266.63 g 162.5 ml
26.65	522.5 g -	382.1 g 200 ml	365.9 g 195 ml	423.5 g 197.5 ml
26.71	459.1 g -	477 g 250 ml	305.9 g 155 ml	414.0 g 202.5 ml
27.14	221.1 g 120 ml	103 g -	176.2 g 90 ml	166.76 g 105 ml
27.65	466.3 g 230 ml	512.1 g 260 ml	319.2 g 160 ml	432.53 g 216.66 ml
28.02	296 g 145 ml	364.2 g 185 ml	318.3 g 150 ml	326.16 g 480 ml
28.16	225.9 g 115 ml	264.9 g 140 ml	244.7 g 130 ml	245.16 g 128.33 ml
28.38	530 g 270 ml	401.1 g 205 ml	555.8 g 280 ml	495.83 g 251.66 ml

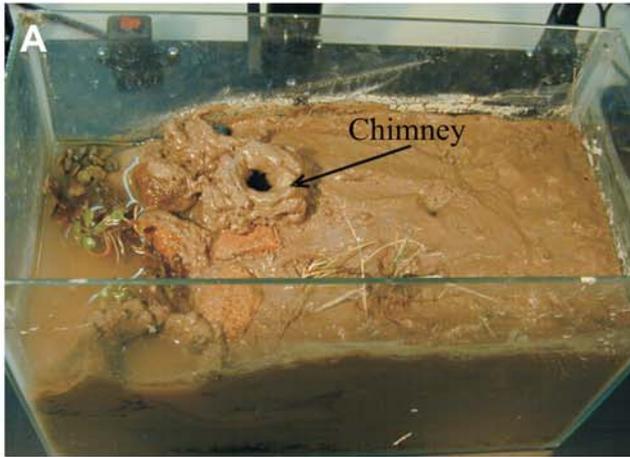


Figure 1. Burrowing behaviour of *P. defossus* in laboratory conditions. A: Chimney construction; B: Crayfish carrying a pellet of mud outside the burrow system; C: Tunnel constructed by a crayfish in aquaria. The arrow show the crayfish position in the tunnel.

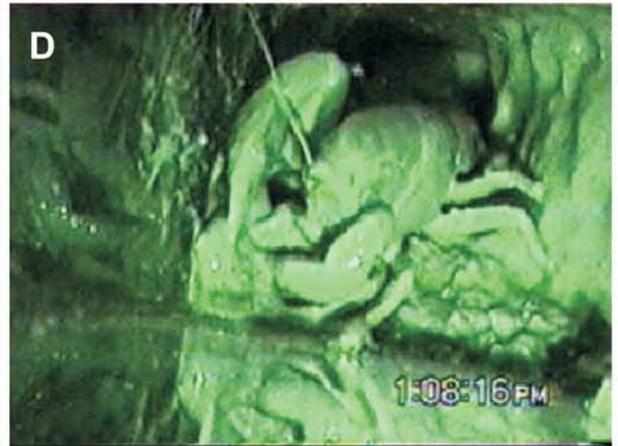
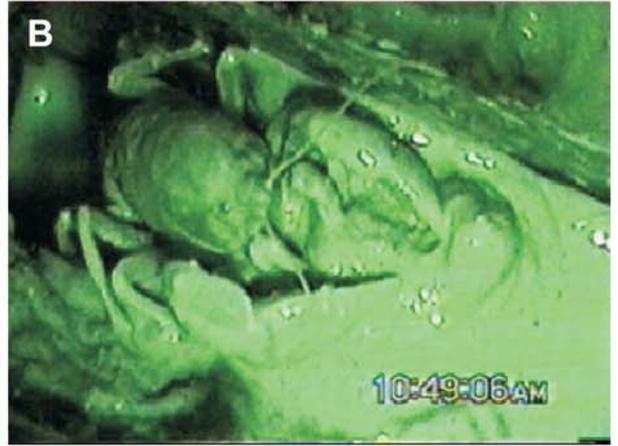


Figure 2. Sequences of video camera recordings of the burrowing behavior of *P. defossus* in laboratory conditions. Sequence 1 (A-B) and sequence 2 (C-D): The substrate (pellet) taken by the crayfish is transported to the gallery opening at the surface, where it is deposited and is then manipulated by the crayfish.

## References

- Atinkson, R. J. A & A. C. Taylor, 1988. Physiological ecology of burrowing decapods. Symposium of Zoology of Society of London 59: 201-226.
- Buckup, L. & A. Rossi, 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). Revista Brasileira de Biologia 40: 663-681.
- Buckup, L. & A. Rossi, 1993. Os Parastacidae do espaço meridional andino (Crustacea, Astacidea). Revista Brasileira de Biologia 53: 167-176.
- Buckup, L., 1999. Família Parastacidae. In L. Buckup & G. Bond-Buckup (eds), Os Crustáceos do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre: 319-327.
- Buckup, L. & M. M. Grala, 2001. The burrows of *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea, Parastacidae). In 'Fifth Internacional Crustacean Congress and Summer 2001 Meeting of the Crustacean Society', (Melbourne, Austrália).
- Crandall, K. A., J. W. Fetzner, C. G. Jara & L. Buckup, 2000. On the phylogenetic position of the South American freshwater crayfish genera (Decapoda: Parastacidae). Journal of Crustacean Biology 20: 350-540.
- Dworschak, P. C., 1983. The biology of *Upogebia pusilla* (Petagna) (Decapoda, Thalassinidea). I. The burrows. Marine Ecology, 4: 19-43.
- Dworschak, P. C., 2001. The burrows of *Callinassa tyrrena* (Petagna 1792) (Decapoda: Thalassinidea). Marine Ecology, 2: 155-165.
- Fries, B. G., 1984. Observações sobre o lagostin de água doce *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) em condições de cultivo experimental em laboratório (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). Revista Brasileira de Biologia 44: 409-416.

- Gherardi, F., A. Raddi, S. Barbaresi & G. Salvi, 2000. Life history patterns of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in an irrigation ditch in Tuscany, Italy. *Crustacean Issues* 12: 99-108.
- Gherardi, F., 2002. Behavior. In D. Holdich (ed), *Biology of freshwater crayfish*, Blackwell Science, London: 258-290.
- Grow, L., 1981. Burrowing behavior in the crayfish, *Cambarus diogenes Diogenes* Girard. *Animal Behavior* 29: 351-356.
- Grow, L. & H Merchant, 1980. The burrow habitat of the crayfish *Cambarus diogenes diogenes* (Girard). *American Midland Naturalist* 103: 231-237.
- Growns, I.O. & A. M. M. Richardson, 1988. Diet and burrowing habits of the freshwater crayfish *Parastacoides tasmanicus tasmanicus* Clarck (Decapoda: Parastacidae). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 39: 525-34
- Hobbs, H. H. & M. Whiteman, 1991. Notes on the burrow, behavior, and color of the crayfish *Fallicambarus devastator* (Decapoda: Cambaridae). *The Southwestern Naturalist* 36: 128-135.
- Hogger, J. B., 1988. Ecology, Population Biology and Behaviour. In D. M. Holdich & R. S. Lowery (eds), *Freshwater Crayfish, Biology, Management and Exploitation*, Timber Press: 114-144.
- Horwitz, P.H. & A. M. M. Richardson, 1986. An ecological classification of the burrows of Australian freshwater crayfish. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 37: 237-242.
- Horwitz, P. & B. Knott, 1983. The burrowing habitat of the koonac *Cherax plebeus* (Decapoda: Parastacidae) *Western Australian Naturalist*, 113-117

- Horwitz, P.H.; A. M. M. Richardson & A. Boulton, 1985a. The burrow habit of two sympatric species of land crayfish, *Engaeus urostrictus* and *E.tuberculatus* (Decapoda: Parastacidae). *Victoria Naturalist* 102: 188-197.
- Horwitz, P. H. J.; A. M. M. Richardson & P. M. Cramp, 1985b. Aspects of the life history of the burrowing crayfish, *Engaeus leptorhynchus*, at Rattrays Marshes, North East Tasmania. *Tasmanian Naturalist* 82: 1-5.
- Howard, A. E. & D. B. Bennett, 1979. The substrate preference and burrowing behaviour of juvenile lobsters (*Homarus gammarus*). *Journal of Natural History* 13: 433-438.
- Kilian, E. F., 1986. La construccion de los tudos habitacionales del *Parastacus nicoleti* (Philippi). *Facultad de Estudios Generales, Universidad Austral de Chile*, 1-7.
- Macginite, G.E. & N. Macginite, 1968. *Natural history of marine animals*. McGraw-Hill Book Co., New York.
- Nash, R.D.M., C.J. Chapman, R.J.A. Atkinson & P. J. Morgan, 1984. observations on the burrows and burrowing behavior of *Calocaris macandreae* (Crustacea: Decapoda: Thalassinoidea). *Journal of Zoology* 202: 425-439.
- Noro, C. K., L. Buckup, & J. Bisol, 2004. The Habitat of *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Decapoda, Parastacidae). In 'Proceedings of the 3rd Brazilian Crustacean Congress and The Crustacean Society Meeting. p. 76.
- Reid, J. W.; C. K Noro; L. Buckup & J. Bisol. 2004. Copepod Crustaceans from burrows of *Parastacus defossus* in Southern Brazil. *Nauplius* 14(1): 23-30.
- Rice, A. L. & C. J. Chapman, 1971. Observations on the burrows and burrowing behaviour of two mud-dwelling decapod crustaceans, *Nephrops norvegicus* and *Goneplax rhomboides*. *Marine Biology* 10: 330-342.

- Richardson, A. M. M. & V. Wong, 1995. The effect of a burrowing crayfish, *Parastacooides* sp., on the vegetation of Tasmanian wet heathlands. *Freshwater Crayfish* 10: 174-182.
- Richardson, A. M. M., 1983. The effect of the burrows of a crayfish on the respiration of the surrounding soil. *Soil Biology and Biochemistry* 15: 239-242.
- Richardson, A. M. M. & R. Swain, 1980. Habitat requirements and distribution of *Engaeus cisternarius* and three subspecies of *Parastacooides tasmanicus* (Decapoda: Parastacidae), burrowing crayfish from an area of south-western Tasmania. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 31: 475-484.
- Riek, E. F., 1971. The freshwater crayfishes of South America. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 84: 129-136.
- Riek, E. F., 1972. The phylogeny of the Parastacidae (Crustacea: Astacoidea) and description of a new genus of Australian freshwater crayfishes. *Australian Journal of Zoology* 20: 369-389.
- Rudolph, E., 1997b. Aspectos Fisicoquimicos del Habitat y Morfologia de las Galerias del Camaron Excavador *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae) em el Sur de Chile. *Gayana Zoologica* 61: 97-108.
- Shimoda, K. & A. Tamaki, 2004. Burrow morphology of the gost shrimp *Nihonotrypaea petalura* (Decapoda: Thalassinidea: callianassidae) from western Kyushu, Japan. *Marine Biology*, 144: 723-734.
- Suter, P. J. & A. M. M. Richardson, 1977. The biology of two species of *Engaeus* (Decapoda:Parastacidae) in Tasmania III. Habitat, Food, Associated Fauna and Distribution. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 28: 95-103.
- Stevens, B.E., 1929. Ecological observation on Callianassidae of Puget Sound. *Ecology* 10: 399-405.

- Vannini, M., 1980. Researches on the coast of Somalia. The shore and the dune of Sar Uanle. 27. Burrows and digging behaviour in *Ocypode* and other crabs (Crustacea, Brachyura). *Monitore zologico Italiano (Supplemento)* 13: 11-44.
- Yanagisawa, Y., 1984. Studies on the interspecific relationship between gobiid fish and snapping shrimp. II. Life history and pair formation of snapping shrimp *Alpheus bellulus*. *Publications of The Seto Marine Biological Laboratory* 29: 93-116.

## CAPÍTULO 3

**The faunal assemblage found in the burrow water of the South American crayfish**

***Parastacus defossus* Faxon 1898 (Decapoda, Parastacidae)**

Clarissa K. Noro<sup>1</sup> & Ludwig Backup<sup>1</sup>

Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, prédio 4345, sala  
214, Brasil. [clarissanoro@hotmail.com](mailto:clarissanoro@hotmail.com); [lbuckup@yahoo.com.br](mailto:lbuckup@yahoo.com.br)

**Artigo a ser submetido**

ABSTRACT. In the crayfish burrow water, many kinds of aquatic invertebrates have been found and the term “Pholeteros” was proposed to identify the assemblage of animals found in this habitat. The field study was carried out in Lami in the Municipality of Porto Alegre, Rio Grande do Sul. The samples were taken monthly from July through November 2004. Each month, a 50 ml water sample was taken from four burrows and a 160 ml sample of water was collected in nearby puddles. The pH, dissolved oxygen and water temperature were measured in the surface waterbodies and in the burrows each month. In the small pools the mean water temperature was 21.6°C. The dissolved oxygen has a mean of 6.48 mg/L and the pH has a mean of 6.2. Inside the burrows the mean water temperature was 19.6°C. The dissolved oxygen had a mean of 1.42 mg/L and the pH has a mean of 5.46. The groups that predominate in the galleries and in surface waterbodies were crustacean. Copepoda predominate in both samples. Cladocerans and Ostracods predominate in surface waters, but were occasionally registered in galleries. The Janirid Isopod *Heterias exul* was registered only in the subterranean tunnels. Oligochaets and nematodes were verified in both samples. Among the Insecta the specimens appeared to be more frequent in the surface waterbodies than in the burrows. Among the Diptera, Chironomidae and Culicidae larvae were the most abundant group in surface waterbodies, although a few chironomids larvae were found in galleries. Larvae of Ephemeroptera (Baetidae) were also common in surface water bodies and were collected only once in the galleries. Other groups found in both habitats included Acarina and Rotifera. Specimens of Tardigrada were collected only in galleries. Only Copepoda, Oligochaeta, Nematoda and Acarina, occurred in both environments and only Tardigrada, Isopoda Janiridae and some Copepoda species occurred in the ongoing conditions inside the galleries. For these species, the burrow may serve as a refuge during the dry summer season. In this way we could verify a specific fauna that live

exclusively in the burrow water and could be considered part of the pholeteros that is: janirid isopods, tardigrads and some copepods.

Key words: aquatic invertebrates, burrows, pholeteros

## INTRODUCTION

Crayfishes belonging to the family Parastacidae occur in a wide variety of habitats, including creeks, rivers, lakes, reservoirs, marshes, and irrigation canals in Oceania (Australia and Tasmania), Madagascar and South America. Parastacids are among the crayfishes that exhibit the greatest adaptations to extreme environmental conditions (RICHARDSON 1983; HOGGER 1988; RUDOLPH 1997; BUCKUP 1999). Although the majority of species are confined to the margins of streams and lakes, some are found in peat bogs and clayey soils at long distances from sources of surface water and many are capable of constructing complex subterranean burrow systems (for these species, the galleries are of major importance as a means of assuring access to water), a habit especially well-developed in members of the Parastacidae family (RICHARDSON, 1983; BUCKUP & ROSSI 1993; RUDOLPH 1997; BUCKUP 1999).

In the burrows of crayfish, many kinds of aquatic invertebrates have been found. LAKE (1977) and LAKE & COLLEMAN (1977) has been coined the term "Pholeteros" (from the Greek for "one who lurks in a hole") to identify the assemblage of animals found in the crayfish burrow water. The first record in Australia of aquatic animals occurring in the burrows of crayfish appears to be by NICHOLLS (1931) that collected a syncarid from water in the burrows of "*Engaeus*" on the west coast of Tasmania (second LAKE & COLLEMAN 1977 it is most likely that the burrows belonged to *Parastacoides*).

Since then, a wide variety of crustaceans have been registered in the burrows of parastacids from Oceania. This include species of syncarids (DRUMMOND 1959; LAKE & NEWCOMBE 1975), copepods (LAKE & NEWCOMBE 1975 HORWITZ *et al.* 1985b), isopods (LAKE & NEWCOMBE 1975; SUTER & RICHARDSON 1977) and amphipods (LAKE & NEWCOMBE 1975; SUTER & RICHARDSON 1977; HORWITZ *et al.* 1985a,b). Although

crustaceans appear to be the most frequent group, other taxa have also been found, like molluscs, acarina, araneae, collembola, dermaptera and larvae of Diptera and Coleoptera, nematodes, turbellarians and oligochaetes (HORWITZ *et al.* 1985a,b).

Pholeteros has also been recorded in North America. CREASER (1931) recorded ostracods, copepods and amphipods from the burrow water of *Cambarus Diogenes* Girard, 1852. WILLIAMS *et al.* (1974) found protozoans, nematodes, oligochaetes, larval chironomids, adult collembolan, ostracods, cyclopid and harpacticoid copepods and amphipods in the burrow water of *Cambarus fodiens* from Canada.

The species of copepods reported from crayfish burrows in Europe, North America, Australia, and Tasmania were reviewed by REID (2001).

Ecological studies of the freshwater crayfishes of South America have been very limited. The burrows of the Chilean species *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) was studied by KILIAN (1986) and by RUDOLPH (1997) but the authors didn't give any data about the fauna present in the burrows. REID *et al.* 2006, analyzing the copepod fauna from the burrows of *Parastacus defossus* Faxon, 1898 found twelve species of copepods found either consistently or occasionally in the burrows. These collections provided several new geographical records from South America, from Brazil and from the State of Rio Grande do Sul.

The burrowing crayfish *Parastacus defossus* is a typical fossorial species that occurs only in the central depression of Rio Grande do Sul State (Brazil) and in a small area in northeastern Uruguay (ZOLESSI & PHILIPPI 1995; BUCKUP 1999). In Rio Grande do Sul, this crayfish is common in the clay soils of the floodplain near Guaiba Lake (BUCKUP & ROSSI 1980, 1993) where they construct subterranean burrows that can reach over 2 meters deep

with branched tunnels that extend from the groundwater level to the soil surface (NORO & BUCKUP submitted).

## **MATERIAL AND METHODS**

The field study was carried out in Lami in the Municipality of Porto Alegre, Rio Grande do Sul (30°11'41"S, 51°06'00"W). The samples were taken monthly from July through November 2004. Each month, a 50 ml water sample was taken from four burrows of *Parastacus defossus*, and a 160 ml sample of water was collected in nearby pools or puddles. The burrow-water samples were taken with the aid of a length of narrow plastic tubing fitted with a squeeze bulb to provide suction. The water in the puddles was collected by direct sampling with a bottle. The pH, dissolved oxygen and water temperature were measured in surface waterbodies and in the burrows each month.

In the laboratory, the specimens were sorted out from the sediment, preserved in 70% ethanol and the specimens were identified to taxa level. The specimens are deposited in the crustacean scientific collection of Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio grande do Sul.

## **RESULTS**

In the small pools the mean water temperature was 21,6°C, the minimum was registered in autumn/04 (16,3°C) and the maximum in sprin/03 (26°C). The dissolved oxygen has a mean of 6,48 mg/L (minimum 4,76, maximum 7,33mg/L) and the pH has a mean of 6,2. During the summer it was not possible to register any of the environmental parameters because of the dry season (Table I).

Inside the burrows the mean water temperature was 19,6°C, the minimum was registered in autumn/04 (16,6°C) and the maximum in spring/03 (23°C). The dissolved oxygen has a mean of 1,42 mg/L (minimum 0,7; maximum 1,93mg/L) and the pH has a mean of 5,46 (Table I).

The groups that predominate in samples from the galleries and from surface waterbodies were crustacean (93,6% and 86,5% respectively)(Table II, III). Copepoda predominate in both samples (83,9% in galleries and 61,6% in surface waters), both adults and juvenile forms with the highest number of individuals registered in spring. Cladocerans and Ostracods predominate in surface waters, but were occasionally registered in galleries. In surface waters, cladocerans had a peak of individuals registered in the winter/04.

The group of crustaceans registered only in the subterranean tunnels was the Janirid Isopod *Heterias exul* (Müller, 1982) (originally described as *Fritzianira exul*), the spring being the season with the high number of individuals. Oligochaets and nematodes were verified in both samples. Among the Insecta the specimens appeared to be more frequent in the surface waterbodies (8,5%) than in the burrows (0,75%). Its presence in the burrows appears to be occasional; probably this fauna is transported with the water into the burrows. Among the Diptera, Chironomidae (3,97%) and Culicidae (1,8%) larvae were the most abundant group in surface waterbodies, mainly in spring/03, although a few chironomids larvae were found in the galleries (0,47%). Larvae of Ephemeroptera (Baetidae) were also common in surface water bodies (1,32%) and were collected only once in the galleries. Other groups found in both habitats included Acarina and Rotifera. Specimens of Tartigrada were collected only in galleries, not been found in surface waters (Table II, III).

## DISCUSSION

The occurrence area of *P. defossus* in Lami region is characterized by muddy fields where the underground water remains close to the surface for most of the year and the soil became completely saturated or flooded (9cm above the soil surface) (NORO & BUCKUP submitted), forming small pools or puddles in the region. However, during the summer (December through February), with the reduction of the rain, the water table decrease for very low levels, up to 1.5m deep (NORO & BUCKUP submitted), and, in this dry period, the burrow water became isolated from any remaining surface waterbodies.

In this way, the habitat of *P. defossus* is a very distinctive habitat, with physico-chemical characteristics very distinctive when compared with the neighboring surface waterbodies. Inside the burrows the temperature is more stable but the major difference from the surface waters is the dissolved oxygen content that remained at very low levels indicated nearly anaerobic conditions in the burrows.

The most frequent taxa found in both samples were Copepoda. In this study the copepods represent 83,9% of the fauna found in the burrow waters and 61,6% of the fauna found in the surface waterbodies.

REID *et al.* (2007), analyzing the copepod fauna from the burrows of *Parastacus defossus* found twelve species of copepods found either consistently or occasionally in the burrows. Species that occurred more often in the burrows than in surface water consists of *Diacyclops uruguayensis*, *Mesocyclops annulatus*, *Attheyella fuhrmanni* and *Attheyella godeti*. The remaining species cannot be considered as part of a pholeteros because they showed no predilection for the burrows or did not appear in them at all. This group includes *Paracyclops chiltoni* and *Elaphoidella bidens*, which occurred equally in the burrows and in surface waters; and *Microcyclops anceps* and *Tropocyclops prasinus meridionalis*, which

were frequent in surface waters but were found much less often in burrows. *Acanthocyclops smithae* and *Microcyclops ceibaensis* were found only in surface waters (REID *et al.* 2007).

Groups that prevailed in the superficial water were also Cladocera, Ostracoda, Oligochaeta, Nematoda and larvae of Diptera Chironomidae and Culicidae. Unlike Copepoda that were found repeatedly in both samples, Cladocera and Ostracoda appeared in a very small number in the water inside the galleries. The same occurs with larvae of Diptera, Culicidae and Chironomidae. This points toward the explanation that these organisms are not capable to live in the ongoing conditions inside the galleries and, therefore, this environment would not act as a refuge during the dry season, and the presence of these inside the tunnels would be only accidental. By the analysis of the collected samples it can be verified that only Copepoda, Oligochaeta, Nematoda and Acarina, can survive in both environments and only Tardigrada, Isopoda Janiridae and some Copepoda species (REID *et al.* 2007) live exclusively in the waters of the galleries of *P. defossus*.

Although the lack of information for the faunal assemblage in South America, in Australia, there are many data about the fauna present in crayfishes burrows. NICHOLLS (1931) collected the syncarid *Micraspides calmani* from water in the burrows of “*Engaeus*” on the west coast of Tasmania (second LAKE & COLLEMAN, 1977 it is most likely that the burrows belonged to *Parastacoides*). DRUMMOND (1959) notes that syncarids (family Koonungidae) live in crayfish burrows (most likely to be of the genus *Engaeus*) and in times of heavy rain they are often flushed from the burrows into nearby surface waters. The burrows of *Parastacoides tasmanicus* and *Engaeus*, like *P. defossus*, are also characterized by its acidity and very low oxygen concentrations (LAKE & NEWCOMBE 1975; SUTER & RICHARDSON 1977). The Syncarids *Allanaspides helonomus* and *A. hickmanii* have been

found in the hypogean environment of the burrow systems of *Parastacooides tasmanicus* by LAKE & NEWCOMBE (1975); blind Anfibipodos were found in tunnels of *E. cisternarius* and janirid isopodos (*Pseudasellus* sp.) in the tunnels of *E. fossor* (SUTER & RICHARDSON 1977).

Pholeteros has also been recorded in North America. CREASER (1931) recorded ostracods, copepods and amphipods from the burrow water of *Cambarus Diogenes*. WILLIAMS *et al.* (1974) found protozoans, nematodes, oligochaetes, larval chironomids, adult collembolan, ostracods, cyclopoid and harpacticoid copepods and amphipods in the burrow water of *Cambarus fodiens* from Canada.

CREASER (1931) e WILLIAMS *et al.* (1974) suggested that the burrow fauna may be involved in the reestablishment of the fauna of temporary ponds as well as possibly evolving into a “subterranean crustacean fauna”. WILLIAMS *et al.* (1974) regard the burrow system as refuges for part of the temporary stream fauna until the streams start flowing again (LAKE & COLLEMAN 1977). LAKE & NEWCOMBE (1975) suggest that the animals found in the pholeteros in south-west Tasmânia have adapted to the subterranean existence of crayfish burrow water in order to survive the dry conditions of Summer when many of the shallow pools of water in the button grass swamps dry up.

In the present study, we could verify that during the rainy season when the burrows became flooded, some species present in surface waterbodies were transported together with this water into the burrows, and the presence of this fauna is only accidental, but probably for other species, the burrow may serve as a refuge during the dry summer season. Although the burrows provide access to water, this fauna should be adapted to the specific conditions found in the burrows like darkness and the low dissolved oxygen. In this way we could verify a specific fauna that live exclusively in the burrow water and could be

considered part of the pholeteros that is: janirid isopods, tardigrads and some species of copepods (REID *et al.* 2007). Moreover, some copepod species may be able to reproduce successfully within the burrows, as evidenced by the large number of nauplii and copepodid juveniles found by REID *et al.* (2007).

Table I. Mean values of pH, dissolved oxygen and water temperature measured in surface waterbodies and in the burrows each month.

	<b>Burrows water</b>			<b>Surface waters</b>		
	water temperature (°C)	Dissolved oxygen (mg/L)	pH	water temperature (°C)	Dissolved oxygen (mg/L)	pH
Winter/03	18,0	1,44	4,95	20,2	6,84	5,06
Spring/03	23,0	1,93	5,30	26,0	6,20	5,89
Summer/04	-	-	-	-	-	-
Outunn/04	16,6	1,33	6,03	16,3	7,33	6,85
Winter/04	17,9	1,74	5,58	19,8	7,27	6,16
Spring/04	22,8	0,7	-	25,9	4,76	7,41

Table II. Taxa found in burrow waters in the field study area.

Taxa	Season					Total
	Winter/03	Spring/03	Autumn/04	Winter/04	Spring/04	
Copepoda	146	390	30	189	475	1230
Cladocera	0	0	0	2	3	5
Ostracoda	0	2	0	0	1	3
Isopoda Janiridae	15	48	1	14	56	134
Oligochaeta	0	8	23	4	2	37
Nematoda	3	13	5	7	1	29
Formicidae	0	2	0	0	1	3
Diptera Chironimidae larvae	1	1	0	5	0	7
Ephemeroptera Baetidae	0	1	0	0	0	1
Acarina	1	6	2	1	0	10
Tartigrada	0	1	0	5	1	7

Table III. Taxa found in surface waters in the field study area.

Taxa	Season					Total
	Winter/03	Spring/03	Autumn/04	Winter/04	Spring/04	
Copepoda	94	187	43	125	342	791
Cladocera	46	19	30	149	54	298
Ostracoda	2	2	3	5	10	22
Oligochaeta	8	9	6	5	0	28
Nematoda	1	6	9	6	0	22
Hymenoptera pupa	0	1	0	0	0	1
Diptera Chironimidae larvae	3	31	2	9	6	51
Diptera Culicidae larvae	8	12	0	3	0	23
Diptera pupa	5	2	0	0	1	8
Ephemeroptera Baetidae	8	1	0	3	5	17
Hemiptera Corixidae	2	1	0	0	1	4
Tricoptera Hydroptilidae	1	0	0	0	0	1
Coleoptera Hydrophilidae	1	2	1	0	0	4
Coleoptera Ditiscidae	0	0	0	0	3	3
Acarina	2	1	1	1	1	6
Mollusca Gastropoda	0	1	2	1	0	4
Amphibia tadpole	0	3	1	0	0	4

## REFERENCES

- BUCKUP, L. 1999. Família Parastacidae. p. 319-327. In: Buckup, L. & G. Bond-Buckup (Eds.). Os Crustáceos do Rio Grande do Sul. Ed. UFRGS, Rio Grande, 503p.
- BUCKUP, L. & A. ROSSI. 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). Revista Brasileira de Biologia, Rio de Janeiro, 40(4): 663-681.
- BUCKUP, L. & A. ROSSI. 1993. Os Parastacidae do espaço meridional andino (Crustacea, Astacidea). Revista Brasileira de Biologia, Rio de Janeiro, 53(2): 167-176.
- CREASER, E. P. 1931. Some cohabitants of burrowing crayfish. Ecology, 12: 243-244.
- DRUMMOND, F. H. 1959. The syncarid Crustacea, a living link with remote geological ages. Aust. Mus. Mag. 13:63-64.
- HOGGER J. B. 1988. Ecology, Population Biology and Behaviour, p.114-144. In: D. M Holdich & R. S. Lowery (Eds.). Freshwater Crayfish, Biology, Management and Exploitation. Timber Press, Portland.
- HORWITZ P. H.; A. M. M. RICHARDSON & A. BOULTON. 1985a. The burrow habit of two sympatric species of land crayfish, *Engaeus urostrictus* and *E. tuberculatus* (Decapoda: Parastacidae). Victoria Naturalist, 102: 188-197.
- HORWITZ P. H. J.; A. M. M. RICHARDSON & P. M. CRAMP. 1985b. Aspects of the life history of the burrowing crayfish, *Engaeus leptorhynchus*, at Rattrays Marshes, North East Tasmania. Tasmanian Naturalist, 82: 1-5.
- KILIAN E. F. 1986. La construccion de los tudos habitacionales del *Parastacus nicoleti* (Philippi). pp.1-7. Facultad de Estudios generales, Universidade Austral de Chile.
- LAKE P. S. & K. J. NEWCOMBE. 1975. Observations on the ecology of the crayfish *Parastacoides tasmanicus* (Decapoda: Parastacidae) from South Western Tasmania. Australian Zoologist, 18: 197-214

- LAKE, P. S. 1977. Pholeteros – the faunal assemblage found in crayfish burrows. Newsletter of the Australian Society for Limnology, 15: 57-60.
- LAKE, P. S. & D. J. COLEMAN. 1977. On the subterranean syncarids of Tasmania. Helictite, 15: 12-17.
- NICHOLLS, G. E. 1931. *Micraspides calmani*, a new syncaridan from the west coast of Tasmania. Journal of the Linnological Society of London (Zool), London, 37: 437-488.
- NORO, C. K. & L. BUCKUP. The burrows of *Parastacus defossus* (Decapoda, Parastacidae) a fossorial freshwater crayfish from south Brazil. Submetido a Journal of Crustacean Biology.
- REID, J. W. 2001. A human challenge: discovering and understanding continental copepod habitats. Hydrobiologia, 453/454: 201-226.
- REID, J. W.; C. K. NORO; L. BUCKUP & J. BISOL. 2004. Copepod Crustaceans from burrows of *Parastacus defossus* in Southern Brazil. Nauplius, 14(1): 23-30.
- RICHARDSON, A. M. M. 1983. The effect of the burrows of a crayfish on the respiration of the surrounding soil. Soil Biology and Biochemistry, 15: 239-242.
- RUDOLPH E. 1997. Aspectos Fisicoquimicos del Habitat y Morfologia de las Galerias del Camaron Excavador *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae) em el Sur de Chile. Gayana Zoologia, 61 (2): 97-108.
- SUTER P. J. & A. M. M. RICHARDSON. 1977. The biology of two species of *Engaeus* (Decapoda: Parastacidae) in Tasmania III. Habitat, Food, Associated Fauna and Distribution. Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 28: 95-103.
- WILLIAMS, D. D.; N. E. WILLIAMS & H. B. N. HYNES. 1974. Observations on the life history and burrow construction of the crayfish *Cambarus fodiens* (Cottle) in temporary stream in southern Ontario. Canadian Journal of Zoology, 52: 365-370.

ZOLESSI, L. C. & M. E. PHILIPPI. 1995. Lista sistemática de Decapoda del Uruguay  
(Arthropoda: Crustacea). Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de  
Montevideo, Montevideo, 12: 1-24.

## CAPÍTULO 4

**Gonad morphology and type of sexuality in *Parastacus defossus* Faxon 1898, a burrowing, intersexed crayfish from south Brazil (Decapoda: Parastacidae)**

NORO, C. K.<sup>1</sup>; LÓPEZ-GRECO, L. S.<sup>2</sup>; BUCKUP, L.<sup>1</sup>

1) PPG-BAN, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (clarissanoro@hotmail.com). 2) Departamento de Biodiversidade e Biologia Experimental, FCEyN, Universidade de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

**Running head:** Gonad morphology and type of sexuality in *Parastacus*

**Artigo submetido: Acta Zoologica**

ABSTRACT. The aim of this study was to characterize the morphology of the reproductive system and the type of sexuality of *P. defossus*, an intersexed, freshwater crayfish that occurs in southern South America. The specimens were examined for the appearance of the genital pores, and the gonads were macroscopically analyzed by size and color. The histology of some gonads was examined. Males and females have two pairs of genital ducts, one anterior (oviduct) and one posterior (vas deferens). The gonads are located in the thorax and consist of one pair of lobules. Through macroscopic and histological analyses of the female gonads, six stages of ovarian development could be distinguished. The histological description of the testis was made only from adult males. Through analyses of the genital pores and gonads, three sexual forms were distinguished in *P. defossus*: intersexed females (246), intersexed males (259), and individuals with an ootestis (7). Individuals with an ootestis had a gonad that produced male and female reproductive cells simultaneously. *Parastacus defossus* can be classified as a partially protandric hermaphrodite species. Clarissa K. Noro. Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. clarissanoro@hotmail.com.

**Key-words:** Parastacidae, intersexuality, gonad morphology, hermaphroditism.

## Introduction

The infraorder Astacidea includes the Northern Hemisphere freshwater crayfishes of the families Astacidae and Cambaridae, and the Southern Hemisphere freshwater crayfishes of the family Parastacidae. The Parastacidae includes 14 genera occurring in Australia, Tasmania, New Zealand, Madagascar and South America (Buckup and Rossi 1980; Buckup 1999).

Freshwater crayfishes are generally gonochoric, with defined males and females. However, intersexed individuals, showing external female and male morphological characteristics simultaneously, occur in some species, particularly in the Parastacoidea (Rudolph 1995a; Vogt 2002). Intersexuality is characterized by the presence of male and female sexual characteristics in the same individual, in gonochoric or hermaphroditic species, and may be limited to the external morphology or may extend to gonadal morphological differentiation (Sagi *et al.* 1996a; Vogt 2002).

In the family Parastacidae, cases of intersexuality have been recorded in species of Oceania and South America. In the genus *Parastacus*, which occurs in South America, the presence of male and female gonopores in the same individual is a common characteristic (Rudolph and Almeida 2000). The Chilean species *Parastacus nicoleti* (Philippi) is an exception, with some individuals having gonopores of both sexes (Rudolph 1995b). For the other two South American genera, *Samastacus* and *Virilastacus*, existing records indicate the presence of only one pair of gonopores in each individual. However, intersexed specimens of *Samastacus spinifrons* were recently collected in rivers in Chile (Rudolph 1999, 2002); and in the description of a new species, *V. rucapihulensis*, Rudolph and Crandal (2005) also noted the presence of specimens with extra gonopores.

Intersexuality has also been observed in the species of Parastacidae of Oceania, such as in the Australian genera *Engaewa* Riek, 1967, *Engaeus* Erichson, 1846, *Euastacus* and *Cherax* Erichson, 1846 (Horwitz 1988; Sokol 1988, Medley and Rouse 1993; Sagi *et al.* 1996a). Studies on anatomical and morphological aspects of the gonads have made possible complete knowledge of the reproductive cycle of *Cherax quadricarinatus* (Sagi *et al.* 1996a,b; Abdu *et al.* 2000) and of the cambarid *Procambarus clarkii* (Kulkarni *et al.* 1991; Ando and Makioka 1998).

Although intersexuality is common in parastacids and is a strong indication of the occurrence of hermaphroditism, functional hermaphroditism is rare among crayfishes and is of the protandric type (Rudolph 1995b). In the species of Parastacidae of South America, studies of the functional significance of the existence of supernumerary gonopores are recent and have treated only a few species, such as *Parastacus nicoleti* (see Rudolph 1995b), *P. pugnax* (see Rudolph 1997), *Samastacus spinifrons* (see Rudolph 1999; 2002), *P. varicosus* (see Rudolph *et al.* 2001; Silva-Castiglioni 2006) and *P. brasiliensis* (see Almeida and Buckup 1997, 2000). The first case of hermaphroditism in the genus *Parastacus*, of the sequential protandric type, was described by Rudolph (1995) for the Chilean species *P. nicoleti*. Hermaphroditism was later reported for *P. brasiliensis* and *Samastacus spinifrons*, by Almeida and Buckup (2000) and Rudolph (1999, 2002), respectively. Almeida and Buckup (1999), studying *P. defossus*, reported the occurrence of one specimen with a mixed gonad; however, they came to no conclusions regarding the type of sexuality of this species.

*Parastacus defossus* Faxon, 1898 is a burrowing species reported only from Rio Grande do Sul in Brazil, and from Uruguay (Buckup and Rossi 1980). There are few published reports on aspects of the biology of this species. In order to characterize the

gonads of *P. defossus* and to determine if it is a hermaphroditic species or a gonochoric species with intersexed individuals, the developmental stages of the gonads were described macroscopically and histologically.

## **Methodology**

The specimens of *P. defossus* were sampled with a partial-vacuum pump, monthly from July 2003 to August 2005, in the Lami region, Porto Alegre Municipality, Rio Grande do Sul State, Brazil. In the laboratory, the cephalothoracic length was measured with a digital caliper and the morphology of the genital pores was noted, according to Almeida and Buckup (1999). The specimens were placed in a freezer for 20 min, and the gonads and gonoducts were then dissected out. In females, the gonads were characterized by color and size.

Specimens of each sex were selected for histological analysis. The gonads were removed and fixed in Bouin's solution for 4-6 hours. Next, they were dehydrated in an ascending ethanol series (70% to 100%), cleared in xylol, and impregnated with paraffin or historesin (Leica). Histological sections of 7  $\mu\text{m}$  were made, and the slides were stained with hematoxylin-Eosin, PAS, and Alcian Blue.

In females, the different developmental stages of the ovaries were described by histological analysis. Oocyte diameter was measured with an ocular micrometer, and the mean diameter for each ovary stage was calculated for 15 oocytes per ovary. Only cells for which the cross-section included the nucleus were used for these measurements.

## Results

To analyze the sexual pores and to characterize the gonads macroscopically, 512 animals were analyzed. For the gonad histology, 72 animals, 17 males, 48 females and 7 individuals with ootestes were used.

The gonads have a thoracic position, consisting of a pair of lobules with an anterior portion located posterior to the stomach, and a posterior portion located under the heart and over the anterior gut. Both males and females possess two pairs of genital ducts, one anterior (oviduct) and one posterior (vas deferens). The oviducts originate in the middle zone of the gonad and extend toward the female openings on the coxae of the third pereopods. The vas deferens originates just behind the oviducts and extends to the coxae of the fifth pereopods, where the male genital openings are located.

From the genital pores it was possible to distinguish two sexual forms: animals with the female gonopore blocked, and animals with the female gonopore covered by a thin membrane. Animals with a cephalothoracic length less than 18 mm always had this gonopore blocked. Between 18 and 22 mm, 8% of the animals had the female gonopores blocked; between 22 and 26 mm, 4.5%; and between 26 and 30 mm, 1.6%. Dissection of the animals with cephalothoracic length between 18 and 30 mm that had this blocked gonopore showed that the female gonads were already differentiated. In intersexed females, 86% had the female gonopores covered by a thin membrane; 14% of these females had this gonopore blocked, and had ovaries in different developmental stages.

Through macroscopic and histological analyses of the gonads of *P. defossus*, it was possible to distinguish three sexual forms: intersexed females (246), intersexed males (259) and animals with an ootestis (7).

## **Intersexed females**

The ovaries are two parallel tubules, connected only in the anterior part, and covered by connective tissue. The stages of maturity of the ovary can be defined by changes in color, which vary according to the developmental stages of the oocytes. In immature females, the ovaries are small and vary from translucent to whitish. Nearing maturity, the oocytes increase in volume and darken to brownish-green (Fig. 1).

Histological analyses of the ovaries were done for 48 females, including 18 juveniles with cephalothoracic lengths between 8.70 and 18 mm and 30 adults with cephalothoracic lengths between 18.46 and 30.78 mm. Ovarian differentiation was observed in one female of 8.70 mm Cl.

From the histological sections it could be observed that the oogonia organize into nests, and are characterized by a large nucleus, little cytoplasm, and little basophily, with diameters from 6.5 to 30  $\mu\text{m}$ . Surrounding these nests are the follicular cells, which are rounded and have a basophilic coloration. The primary oocytes surround the oogonia and are characterized by an abundant, homogeneous and basophilic cytoplasm. Primary oocytes vary widely in size, from 32 to 420  $\mu\text{m}$  in diameter. The larger primary oocytes are surrounded by a layer of follicular cells, constituting the beginning of the formation of the ovarian follicles. Secondary oocytes were found in mature females and are characterized by an eosinophilic cytoplasm with vitelline granules. With the deposition of vitellum in the cytoplasm, the oocyte diameter reaches 2.2 mm, and the layer of follicular cells that surrounds these cells thickens (Table 1) (Fig. 2).

## Ovary developmental stages

Through macroscopic and microscopic observations on the gonads of *P. defossus*, the ovaries could be classified in six developmental stages:

**Stage I:** Not developed or immature. Ovary small, translucent to whitish. Found in juveniles with cephalothoracic lengths between 8.70 mm and 18.00 mm. Many oogonia and a few primary oocytes are present (Fig. 2 A,B).

**Stage II:** Ovaries in development, beginning maturation. Ovary whitish, larger than in stage I (Fig. 1 A, B). Many primary oocytes and a few oocytes are beginning to accumulate vitellin in the periphery of the cells. The appearance of vitellin granules in the cytoplasm indicates the beginning of vitellogenesis (Fig. 2 C). Occurs in animals from 18.00 to 30.69 mm Cl.

**Stage III:** Ovaries in maturation. In this stage the ovarian lobes are fully developed, and the gonads are larger, more voluminous, and yellow (Fig. 1C). The histology is very similar to that of stage II, but now some oocytes are beginning secondary vitellogenesis, showing vitellin granules with diameters of up to 30  $\mu\text{m}$  in the periphery of the oocytes; oocytes in initial development stages are still present (Fig. 2 D). Occurs in animals from 18.46 to 30.22 mm Cl.

**Stage IV:** Ovaries in advanced maturation. The gonads are very voluminous and orange (Fig. 1D). Found in animals from 20.23 to 31.26 mm Cl. Characterized by the presence of many nests of oogonia, primary oocytes of various sizes, and secondary oocytes. In this stage, large vitellogenic oocytes that have large vitelline granules predominate. These granules may reach 90  $\mu\text{m}$  in diameter, and are responsible for the intense coloration of the gonad at this stage. Because of the large size of the oocytes, these cells lose the spherical form and in histological section appear polyhedric (Fig. 2 E).

**Stage V:** Dark green (Fig. 1E). Similar to stage IV, but with many secondary oocytes (Fig. 2 F). Occurs in animals from 21.35 to 32.32 mm Cl.

**Stage VI:** Spent or "laid." Observed in animals between 22.63 to 30.46 mm Cl. Post-laying ovaries, which show similar macroscopic features to the immature ovary. Histologically, the ovarian estroma appears disorganized, with many empty spaces, which correspond to places where the oocytes were located before laying. It was also possible to observe germinal cells in maturation process and mature oocytes, as well as other oocytes in the process of degeneration.

### **Intersexed males**

The testes are whitish, globular, and formed by two parallel tubules that are connected by connective tissue in the anterior region (Fig. 1 F).

For the histological description of the testis, two juveniles (12.72 and 17.66 mm Cl) and 15 adult animals with cephalothoracic lengths between 18.44 and 32.42 mm were analyzed. Testis differentiation could be observed in an animal of 12.72 mm Cl (Fig. 3D). The testis is composed of the testicular wall, the testicular acini (also called seminiferous tubules or testicular lobules), and the collecting tubules (Fig. 3). Each testicular lobule shows a stage of spermatogenesis that is independent of the stages of the adjacent lobules; this state is known as asynchronous maturation. In the base of each testicular lobe, non-germinative cells or Sertoli cells were found (Fig. 3).

From the middle zone of the testis arises the vas deferens, which is macroscopically undifferentiated. The oviducts are very thin and translucent, and together with the condition of obstruction of the female gonopore, indicate the lack of functionality of the female function.

## **Transitionals**

Seven animals with an ootestis, with cephalothoracic lengths between 21.88 and 31.24 mm, were found (Table 2). These animals had the female gonopore obstructed (closed), as is usual in males or females before they reach sexual maturity. In the gonad, it was possible to observe the simultaneous presence of ovarian tissue in the anterior region and testicular tissue in the posterior region. The ovarian tissue has oocytes in previtellogenesis and in primary vitellogenesis. The testicular tissue has acini in activity, and within these acini we could observe spermatogonia, spermatocytes, and spermatids. Of the seven animals analyzed, four showed the ovarian region more developed, whereas in the other three animals the testicular tissue was more developed, with the ovarian portion constituted only by a few primary oocytes and some oocytes in the beginning of vitellogenesis (Table 2) (Fig. 3 E-F).

## **Discussion**

In the freshwater crayfishes of the Northern Hemisphere (families Cambaridae and Astacidae), the main external character of sexual differentiation is the form of the pleopods, especially of the first abdominal somite: in males, the pleopods are modified for spermatophore transfer (Holdich 2002). In the Parastacidae, the first abdominal somite bears no pleopods in either males or females, and the simultaneous and constant presence of both pairs of genital pores in individuals of *Parastacus* renders identification of the sex in these animals difficult (Holdich 2002). The exception is the Chilean species *P. nicoleti*, which shows wide variability of sexual forms, with six external forms (Rudolph 1995b).

The existence of two forms of sexual pores in *Parastacus defossus* was described by Almeida and Buckup (1999). In this species, individuals with unobstructed anterior openings may be either males or immature females; individuals that have these openings partially or completely unobstructed are mature females. This situation was observed in the present study, where 14% of the females up to 18 mm CI that had the female gonopore obstructed (closed) had an ovary that appeared that these females had not yet passed through the first reproductive period. In *P. varicosus*, individuals smaller than 22.6 mm CI had the third gonopore calcified, although the gonads were already differentiated (Rudolph *et al.* 2001); in *P. pugnax*, this situation occurred in individuals less than 26 mm CI (Rudolph 1997). From these data, we can infer that females of *P. defossus* had the puberty molt from 18 mm CI, a size at which we could observe the female gonopores covered by a thin membrane. Laboratory observations indicated that females retain this morphological state even after oviposition. However, Almeida and Buckup (1997) observed that after oviposition, females of *P. brasiliensis* show gradual hardening of the female gonopores.

The stages of maturity of the ovaries of *P. defossus* could be defined by changes in their size and color, which vary with the vitellogenesis stage of their oocytes. These changes are linked to the proximity of the reproductive season: during this period, the ovary accumulates organic and inorganic components in the oocytes, a process known as vitellogenesis (Adiyodi and Subramoniam 1983, Krol *et al.* 1992; Sagi *et al.* 1996a,b). In *P. defossus*, as in other crayfishes and in lobsters (Kulkarni *et al.* 1991; Krol *et al.* 1992; Ando and Makioka 1998), nutrients accumulate through the deposition of vitelline granules, which concentrate first at the periphery, and gradually spread through the cytoplasm. Together with the growth of the oocytes, follicular cells accumulate at the periphery of the oocytes. According to Adiyodi and Subramoniam (1983), the follicular cells play a

fundamental role in obtaining vitellin proteins from outside the oocytes, and also function to reabsorb the mature oocytes that are not released from the ovary.

The testicular morphology of *P. defossus* is similar to that described for other South American species (Almeida and Buckup 1997, 1999; Rudolph 1995b, 1997, 1999; Rudolph *et al.* 2001). The testis of *P. defossus* differs from other species in being connected only in the anterior part. In *P. brasiliensis* the lobules are connected along the length of the testis (Almeida and Buckup 1997), whereas in *P. varicosus* the testis consists of two lobules without a connection (Rudolph *et al.*, 2001). The asynchronous pattern of maturation of the testis found in *P. defossus* was previously observed in other South American parastacids (Almeida and Buckup 1997; Rudolph *et al.* 2001; Rudolph 2002; Silva-Castiglioni 2006) and in the Australian parastacid *Cherax quadricarinatus* (see López-Greco *et al.* 2004, 2006). In the base of each testicular lobe of *P. defossus*, non-germinative cells, or Sertoli cells, were found. According to Hinsh (1993a,b) these cells are involved in spermatogenesis and spermiogenesis, and may also be involved in the production and secretion of the mucopolysaccharide capsule that evolves each spermatozoan.

### **Intersexuality X hermaphroditism**

Knowledge of the sexual system of the South American freshwater crayfishes of the family Parastacidae is still limited, but three sexual systems have been described: gonochorism, permanent intersexuality, and partial protandric hermaphroditism. Protandric hermaphroditism was found in the Chilean species *P. nicoleti* and *S. spinifrons* (Rudolph 1995b; Rudolph and Almeida 2000) and in the Brazilian species *P. brasiliensis* (Almeida and Buckup 2000). In lacustrine populations of *S. spinifrons* and in *Virilastacus araucanius*, only gonochorism has been found (Rudolph 1995a, Rudolph and Almeida

2000). Permanent intersexuality was found in *P. pugnax* (see Rudolph 1997). For the other species, studies are few or inexistent.

The presence of intersexed animals in natural populations of decapods may indicate sexual reversion (Charniaux-Cotton & Payen 1985; Rudolph 1995b; Sagi *et al.* 1996a) where these individuals represent transitional phases in the sex-change process (Rudolph 1995; Khalaila and Sagi 1997). However, in some South American parastacid species, permanent intersexuality does exist, where all males and females are intersexed, with gonoducts and gonopores of both sexes, but with no evidence of hermaphroditism (Rudolph 1997; Rudolph *et al.* 2001).

The redifferentiation of the gonad could be explained by the control of the androgenic gland of the differentiation of the male reproductive system of malacostracans (Charniaux-Cotton and Payen 1985; Katakura 1989; Hasewaga *et al.* 1993; Sagi *et al.* 1996; 1997). According to Charniaux-Cotton (1954), the androgenic gland produces a hormone responsible for the differentiation of the male sexual characters. This hormone acts on the bisexual primordia, and at the same time that it activates the genes for male sexual differentiation, it represses the genes for female sexual differentiation (Gisburger-Vogel and Charniaux-Cotton 1982; Charniaux-Cotton and Payen 1985; Hasewaga *et al.* 1993). Knowledge of the function of the androgenic gland in the masculinization process of crayfishes is due to studies with the parastacid *Cherax quadricarinatus* (Taketomi and Nishikawa 1996; Khalaila and Sagi 1997; Khalaila *et al.* 1999; Sagi *et al.* 2002) and with the cambarid *Procambarus clarkii* (Nagamine and Knight 1987). In these species, implanting the androgenic gland into sexually mature females induces the appearance of male characters (Taketomi and Nishikawa 1996); whereas andrectomy allowed secondary vitellogenesis to occur and caused atrophy in the testicular region (Khalaila *et al.* 1999).

Therefore, oogenesis could occur inside the male gonad, responding to a decrease in the androgenic hormone level (Charniaux-Cotton and Payen 1985; Vogt 2002).

The presence of seven individuals of *P. defossus* with ootestes suggests that these individuals are in a transitional stage in the change from the male to the female sex, which is known as protandric hermaphroditism. The overlap in the size classes of males, females and individuals with an ootestis indicates that only a portion of the population changes sex. The presence of females in all size classes and of large-sized males suggest the existence of primary males that never change sex. This is known as partial protandry, a phenomenon that was first described in a caridean shrimp by Bauer (1986). In summary, our results suggest that *P. defossus*, like *P. nicoleti*, *S. spinifrons* and *P. brasiliensis*, probably constitutes a case of partial protandric hermaphroditism.

Sequential hermaphroditism is well known and documented in several species of caridean shrimps (Gherardi and Caloni 1993; Bauer and Holt 1998; Bauer 2000, 2001, 2002; Correa and Thiel 2003). However, until now it has not been possible to determine what factors are responsible for the sex change in these species.

In these species, hermaphroditism would be in accord with the *gene dispersal model* and the *size advantage model*, two theoretical models proposed by Ghiselin (1969) to explain the evolution of sequential hermaphroditism. The *gene dispersal model* explains the evolution of sequential hermaphroditism in species that live in small, isolated populations, with little capacity for dispersal, as is the case for *P. defossus*. The *size advantage model* explains the hermaphroditism when the relationship between reproductive success and size or age is different between the sexes, i.e., in protandry, the female reproductive function is more advantageous with a larger size, and therefore the reproductive success of females is directly related to the size of their bodies (Chiba *et al.* 2003).

*P. defossus*, like *P. nicoleti*, is a fossorial species that lives in subterranean galleries where they spend all their lives. In the burrows of *P. defossus*, normally only one animal was collected in each burrow. In some burrows, pairs (one male and one female) were collected; more than two adults were never found in the same burrow system. In the reproductive season, juveniles were found in the burrows. This mode of life, in low densities and with a fossorial habit, may explain the sex change in some individuals. The low density of *P. defossus* may account for the hermaphroditism. Ghiselin (1969) observed that, in these conditions, the difficulty of finding a partner of the opposite sex is a selective force for sex change. In this species, hermaphroditism is an adaptation to the fossorial mode of life, which decreases the dispersal capacity of the species and limits gene flow (Rudolph, 1995). Therefore, in these species, hermaphroditism compensates for the limitation in gene flow, and protandric hermaphroditism confers advantages by increasing the number of reproductive females in the population.

It has not so far been possible to determine which factors are responsible for the change of sex, or which factor is responsible for the degeneration of the androgenic gland. Even in caridean shrimps, in which the process of sex change has been extensively studied by Bauer and collaborators, it has not been possible to determine the factors that control the sex change, whether genetic, hormonal or determined by ambient conditions.

For a better understanding of the functionality of sex change (or of the different sexual systems) it is of fundamental importance to study sexual differentiation in the juvenile stages, to understand the mechanisms responsible for the alterations that lead to the induction of sex change in crayfishes.

Table 1. Size of the different cell types found in different developmental stages of the ovaries of *Parastacus defossus*.

Developmental stage		Oogonias ( $\mu\text{m}$ ) Mean $\pm$ SE (min-max)	Primary oocytes Mean $\pm$ SE (min-max)	Oocytes beginning the vitelogenesis Mean $\pm$ SE (min-max)	Secondary oocytes Mean $\pm$ SE (min-max)
Stage I	Immature	14,08 $\pm$ 1,22 (7 – 25)	97,04 $\pm$ 8,27 (32 - 170)	- -	- -
Stage II (white)	In development	14,10 $\pm$ 1,31 (7 - 30)	178,38 $\pm$ 10,58 (50 -355)	449,55 $\pm$ 15,27 (345 – 580)	- -
Stage III (yellow)	In maturation	12,83 $\pm$ 1,08 (7,5 – 28)	203,33 $\pm$ 12,33 (65 – 415)	571,67 $\pm$ 15,22 (340 – 750)	796,25 $\pm$ 14,16 (690 – 870)
Stage IV (orange)	Advanced maturation	13,62 $\pm$ 1,32 (6,5 – 30)	195,45 $\pm$ 17,77 (55 – 420)	562 $\pm$ 50,54 (345 -785)	994,33 $\pm$ 37,63 (590 – 2180)
Stage V (green)	Advanced maturation	13,85 $\pm$ 1,06 (7 – 23)	198,64 $\pm$ 16,74 (63 – 355)	553,48 $\pm$ 15,02 (351 – 700)	997,53 $\pm$ 31,45 (650 – 2210)
Stage VI	Spent	12,5 $\pm$ 0,98 (7 – 21)	169,42 $\pm$ 15,22 (55 – 350)	-	987,72 $\pm$ 31,01 (620 – 2200)

Table 2. Characterization of individuals of *Parastacus defossus* with an ootestis.

Date	Cc (mm)	Female gonopore	Macroscopic characterization	Microscopic characterization	
				Male portion	Female portion
October 2003	31,24	obstructed	White ovary and a reduced testicular region	Male tissue with a disorganized aspect	Oogonia and primary oocytes
November 2003	23,31	obstructed	White ovary	Male tissue with a disorganized aspect	Oogonia and primary oocytes
November 2003	28,49	obstructed	White ovary	Male tissue with a disorganized aspect	Oogonia and primary and secondary oocytes
November 2004	23,75	obstructed	White ovary (very small) and testicular region more developed	Spermatids and spermatozooids	Oogonia, primary oocytes and few secondary oocytes
May 2005	26,87	obstructed	White ovary (very small) and testicular region more developed	Spermatids and spermatozooids	Oogonia and primary oocytes
May 2005	24,43	obstructed	White ovary (very small) and testicular region more developed	Spermatids	Oogonia and primary oocytes
June 2005	21,88	obstructed	White ovary with the same size of the testicular portion	Spermatids	Oogonia, primary oocytes and few secondary oocytes

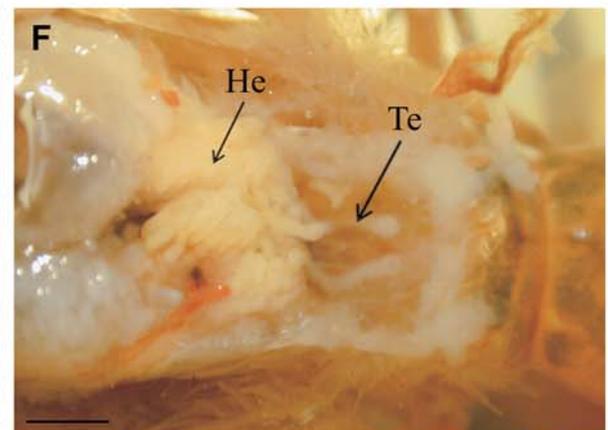
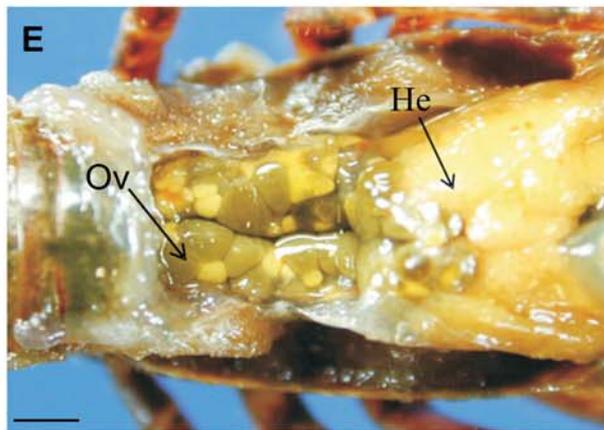
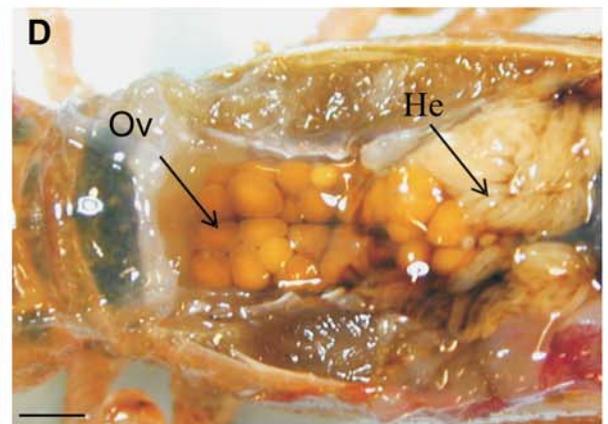
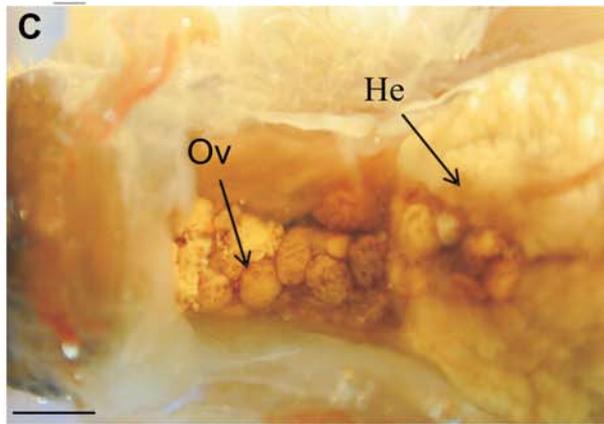
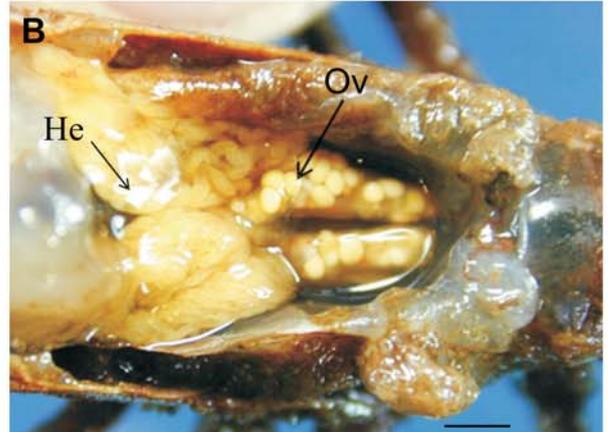
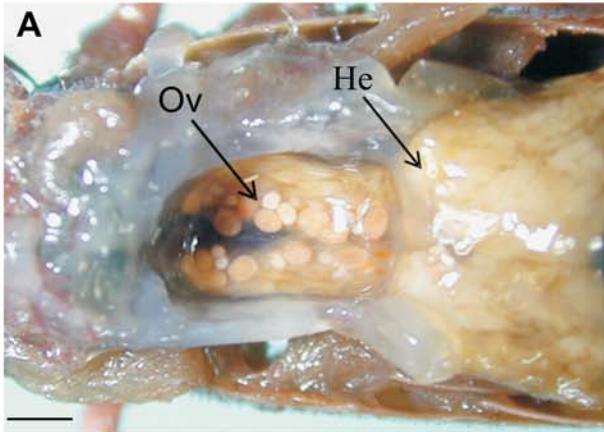


Figure 1. Macroscopic differentiation of the gonads of *Parastacus defossus*. A-B. Stage II (white ovary); C. Stage III (yellow ovary); D. Stage IV (orange ovary); E. Stage V (green ovary). F. Testis. He: hepatopancreas; Te: testis. Bar scale: 6 mm.

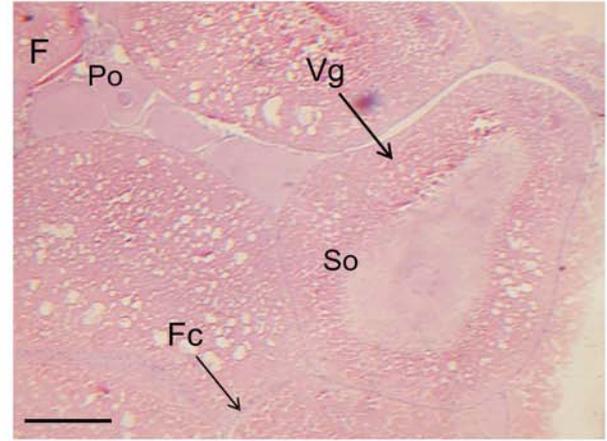
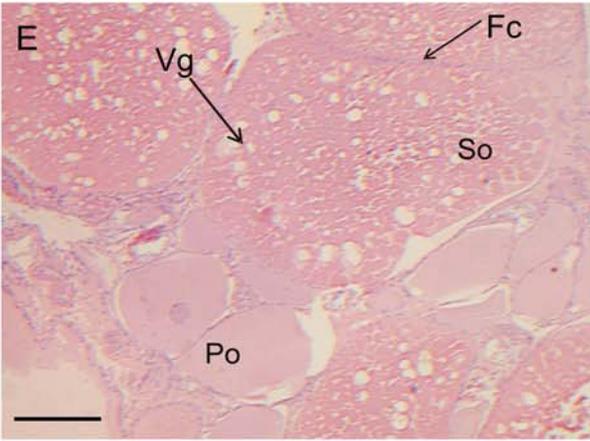
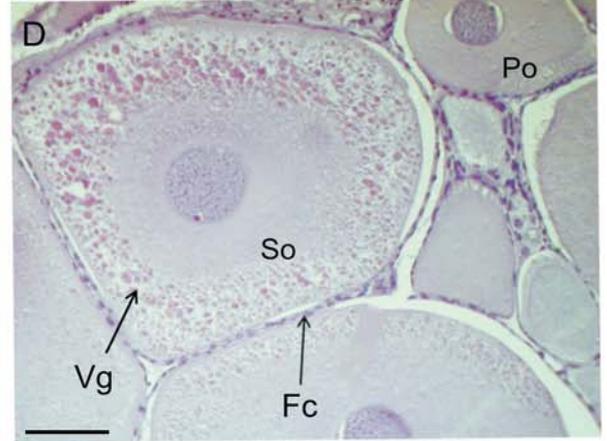
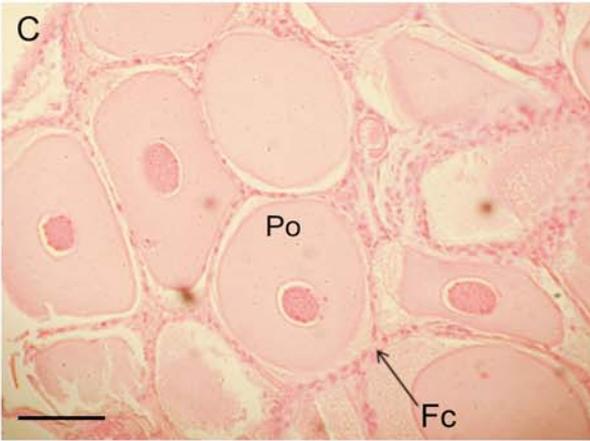
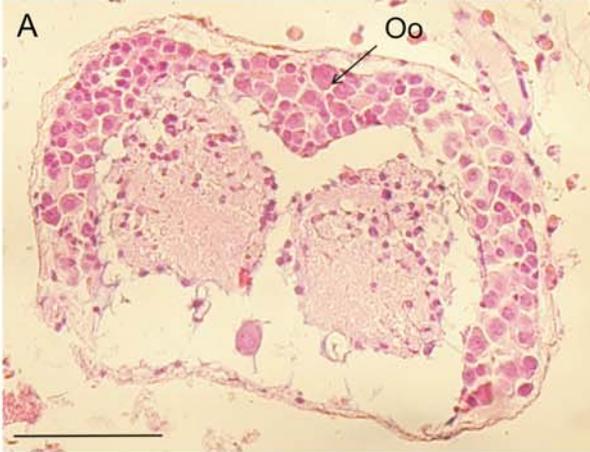


Figure 2. Histology of the ovaries of *Parastacus defossus* in the different developmental stages. Bar scale: 0.1 mm. A-B. Stage I, juvenile ovaries (12.40 mm and 12.51 mm Cl); C. Stage II (white ovary); D. Stage III (yellow ovary); E. Stage IV (orange ovary); F. Stage V (green ovary). Oo: oogonia; Po: primary oocyte; So: secondary oocyte; Fc: follicular cells; Vg: vitelin granules.

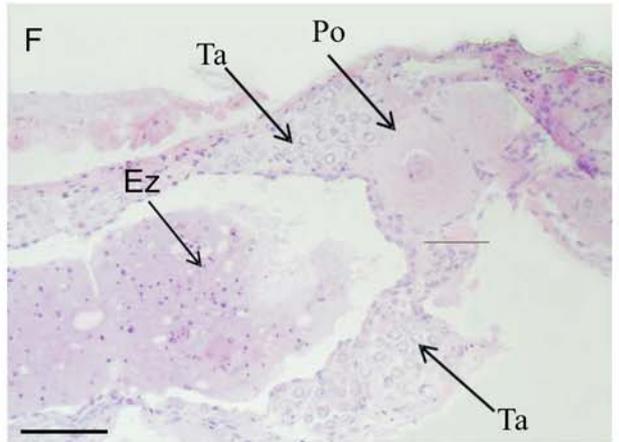
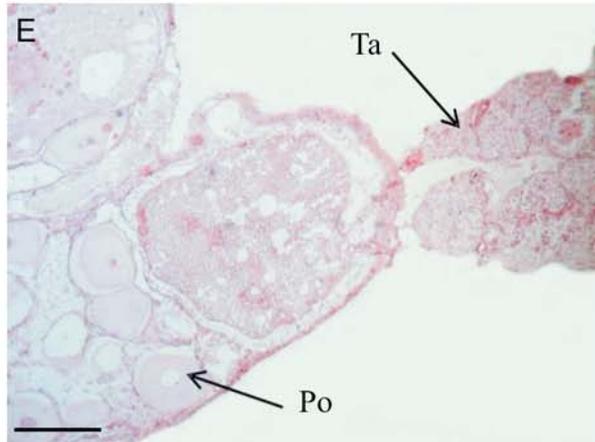
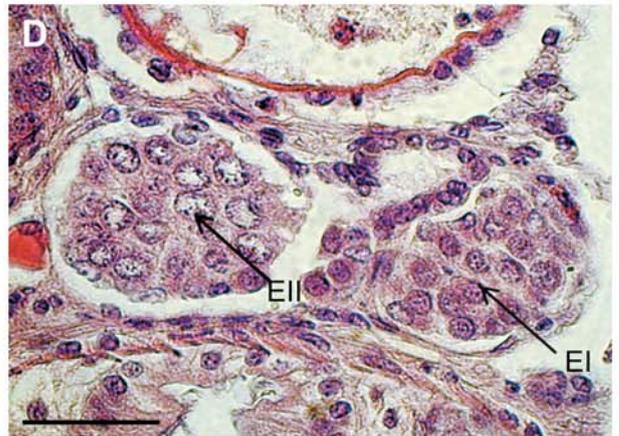
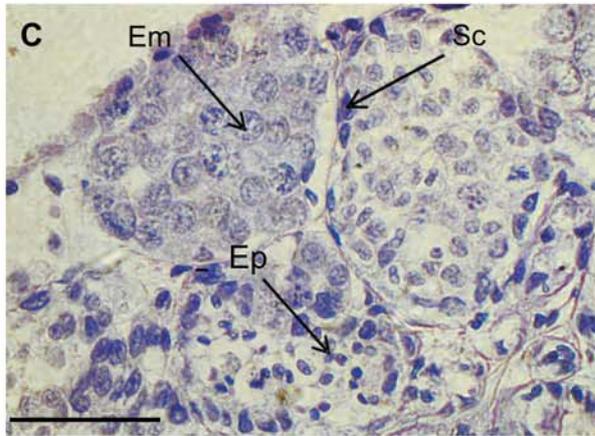
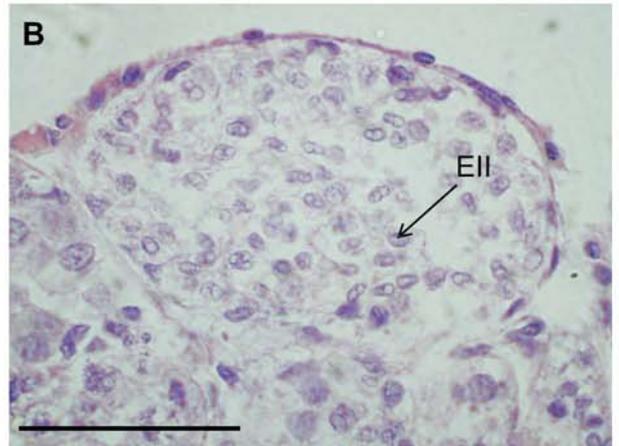
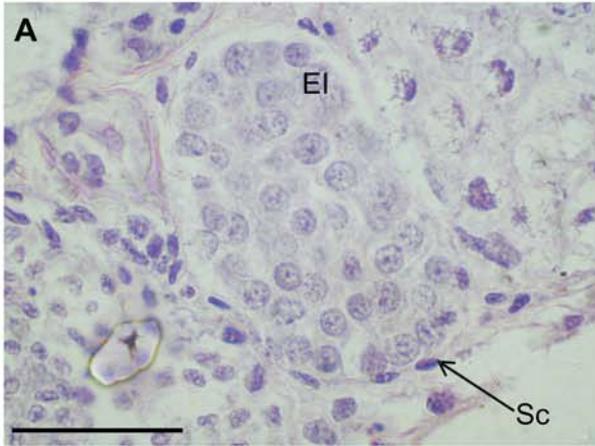


Figure 3. Histology of the testis of *Parastacus defossus*. A-C. Testicular acini; D. Beginning of testicular differentiation in a juvenile of 12.72 mm Cl. Bar scale: 0.05 mm. E-F. Ootestis. Em: spermatogonia; EI: spermatocytes I; EII: spermatocytes II; Ep: spermatids; Ez: spermatozoids; Ta: testicular acini; Sc: Sertoli cells; Po: Primary oocytes.

## REFERENCES

- Abdu, U., Yehezkel, G. and Sagi, A. 2000. Oocyte development and polypeptide dynamics during ovarian maturation in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Invertebrate reproduction and Development* **37** (1): 75-83.
- Adiyodi, R. G. and Subramoniam, T. 1983. Arthropoda-Crustacea,. In: K. G. Adiyodi and R. G. Adiyodi (Eds). *Reproductive Biology of Invertebrates: Oogenesis, Oviposition and Oosorption*, vol 1. pp. 443-495. John Wiley e Sons, London.
- Almeida, A. O. and Buckup, L. 1997. Aspectos anatômicos e funcionais do aparelho reprodutor de *Parastacus brasiliensis* (von Martens) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Zoologia* **14** (2): 497-509.
- Almeida, A.O. and Buckup, L. 1999. Caracteres sexuais primários e secundários do lagostim *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea, Parastacidae). *Nauplius* **7**: 113-126.
- Almeida, A.O. and Buckup, L. 2000. Occurrence of protandric hermafroditism in a population of the neotropical freshwater crayfish *Parastacus brasiliensis* (Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology* **20** (2): 224-230.
- Ando, H and Makioka, T. 1998. Structure of the ovary and mode of oogenesis in a freshwater crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard). *Zoological Science* **15**: 893-901.
- Bauer, R. T. 1986. Sex change and life history pattern in the shrimp *Thor manningi* (Decapoda: Caridea): a novel case of partial protandric hermaphroditism. *Biological Bulletin* **170**: 11-31.
- Bauer, R. T. and Holt, G. J.. 1998. Simultaneous hermafroditism in the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae): an undescribed sexual system in the Decapod Crustacea. *Marine Biology* **132**: 223-235.

- Bauer, R. T. 2000. Simultaneous hermaphroditism in caridean shrimps: a unique and puzzling sexual system in the decapoda. *Journal of Crustacean Biology* **20**, special number 2: 116-128.
- Bauer, R. T. 2001. Hermafroditismo em camarones: el sistema sexual y su relación con atributos socioecológicos. *Interciência* **26** (10): 434-439.
- Bauer, R. T. 2002. Reproductive ecology of a protandric simultaneous hermaphrodite, the shrimp *Lysmata wurdemanni* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae). *Journal of Crustacean Biology* **22**: 742-749.
- Buckup, L. and Rossi, A. 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia* **40** (4): 663-681.
- Buckup, L. 1999. Família Parastacidae, p.319-327. In Buckup, L. and Bond-Buckup, G. (Eds): *Os Crustáceos do Rio Grande do Sul*, Ed.UFRGS, Porto Alegre.
- Charniaux-Cotton, H. 1954. Endocrinologie et génétique du sexe chez les Crustacés supérieurs. *Annu. d'Endocrinologie*, 36-42.
- Charniaux-Cotton, H. and Payen, G. 1985. Sexual Differentiation, p. 217-299. In: Dorothy E. Bliss (Ed.): *The Biology of Crustacea*, vol. 9. Academic Press, X + 550p, New York,
- Chiba, S.; Goshima, S. and Shinomiya, Y. 2003. Male-male competition selects for delayed sex change in the protandrous shrimp *Pandalus latirostris*. *Marine Biology* **142**: 1153-1157.
- Correa, C. and Thiel, M. 2003. Mating systems in caridean shrimp (Decapoda, Caridea) and their evolutionary consequences for sexual dimorphism and reproductive biology. *Revista Chilena de Historia Natural* **76**: 187-203.

- Gherardi, F. and Calloni, C. 1993. Protandrous hermaphroditism in the tropical shrimp *Athanas indicus* (Decapoda: Caridea), a symbiont of the sea urchins. *Journal of Crustacean Biology* **13** (4): 675-689.
- Ghiselin, M. T. 1969. The evolution of hermaphroditism among animals. *Quarterly Reviews of Biology* **44**: 189-208.
- Gisburger-Vogel, T. and Charniaux-Cotton, H. 1982. Sex determination. In *The Biology of Crustacea*, vol 2, pp. 257-281, Academic Press, New York.
- Hasewaga, Y., Hirose, E. and Katakura, Y. 1993. Hormonal control of sexual differentiation and reproduction in Crustacea. *American Zoologist* **33**: 403-411.
- Hinsch, G. 1993a. Ultrastructure of spermatogonia, spermatocytes and Sertoli cells in the testis of the crayfish, *Procambarus paeninsulanus*. *Tissue and Cell* **25**: 737-742.
- Hinsch, G. 1993b. The role of Sertoli cells in spermatid maturation in the testis of the crayfish *Procambarus paeninsulanus*. *Tissue and Cell* **25**: 743-749.
- Horwitz, P. 1988. Secondary sexual characteristics of females of the freshwater crayfish genus *Engaeus* (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana* **54** (1): 25-32.
- Katakura, Y. 1989. Endocrine and genetic control of Sex differentiation in the Malacostracan Crustacea. *Invertebrate Reproduction and Development* **16**: 177-182.
- Khalaila, I. and Sagi, A. 1997. Intersexuality and its control by the androgenic gland in the crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Reproduction and Development* **43**, Suppl, 69-70.
- Khalaila, I., Weil, S. and Sagi, A. 1999. Endocrine balance between male and female components of the reproductive system in intersex *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Journal of Experimental Zoology* **283**: 286-294.

- Krol, R. M., Hawkins, W. E., and Overstreet, R. M. 1992. Reproductive components. In Harrison, F. W. and Humes A. G. (Eds), *Microscopic Anatomy of the Invertebrates*, vol 10, pp. 295-343, Willey-Liss, New York.
- Kulkarni, G. K.; Glade, L. and Fingerman, M. 1991. Oogenesis and effects of neuroendocrine tissues on in vitro synthesis of protein by the ovary of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard). *Journal of Crustacean Biology* **11**(4): 513-522.
- López-Greco, Ls, Chaulet A, Vazquez Fj, and Rodríguez E.M. Morphology of testes, *vasa deferentia* and spermatophores in the freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Parastacidae). *3<sup>rd</sup> Brazilian Crustacean Congress and 2004 TCS Summer Meeting, Santinho*, Florianópolis, Brasil del 24 al 28 de octubre de 2004.
- López-Greco, L.S.; Lo Nostro, F.L.; and Vazquez, F.J. 2006. Estructura del espermatóforo de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae)". "X Congreso Argentino de Ciencias Morfológicas" Tandil, Buenos Aires, del 15 al 17 de marzo de 2006.
- Medley, P. B. and Rouse, D. B. 1993. Intersex australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). *Journal of Shellfish Research* **12** (1): 93-94.
- Nagamine, C. and Knight, A. W. 1987. Masculinization of female crayfish *Procambarus clarkii* (Girard). *International Journal of Invertebrate Reproduction and Development* **11**: 77-85.
- Rudolph, E. 1990. Caracteres sexuales externos del camarón excavador, *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882). *Biota*, **6**: 19-34.
- Rudolph, E. H. 1995b. Partial protandric hermaphroditism in the burrowing crayfish *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology* **15**: 720-732.

- Rudolph, E. H. 1997. Intersexualidad en el camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poeppig, 1835) (Decapoda, Parastacidae). *Investigaciones Marinas* **25**: 7-18.
- Rudolph, E. H. 1999. Intersexuality in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana* **72**: 325-337.
- Rudolph, E. 2002. New records of intersexuality in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Decapoda, Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology* **22**: 377-389.
- Rudolph, E and Almeida, A. 2000. On the sexuality of South American Parastacidae (Crustacea, Parastacidae). *Invertebrate Reproduction and Development* **37**: 249-257.
- Rudolph, E., Verdi, A. and Tapia, J. 2001. Intersexuality in the burrowing crayfish *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana* **74**: 27-37.
- Rudolph, E. and Crandall, A. 2005. A new species of burrowing crayfish *Virilastacus rucapihuelensis* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from southern Chile. *Proceedings of the Biological Society of Washington* **118**: 765-776.
- Sagy, A., Khalaila, I., Barki, A., Hulata, G. and Karplus, I. 1996. Intersex red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens): functional males with previtellogenic ovaries. *Biological Bulletin* **190**: 16-23.
- Sagy, A., Shoukrun, R., Khalaila, I. and Rise, M. 1996b. Gonad maturation, morphological and physiological changes during the first reproductive cycle of the crayfish *Cherax quadricarinatus* female. *Invertebrate Reproduction and Development* **29**: 235-242.
- Sagy, A., Snir, E. and Khalaila, I. 1997. Sexual differentiation in decapod crustaceans: role of the androgenic glands. *Invertebrate Reproduction and Development* **31** (1-3): 55-61.
- Sagy, A., Manor, R., Segall, C., Davis C. and Khalaila, I. 2002. On intersexuality in the crayfish *Cherax quadricarinatus*: an inducible sexual plasticity model. *Invertebrate reproduction and Development* **41**: 27-33.

- Silva-Castiglioni, 2006. Biologia Reprodutiva do Lagostim *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 na bacia do Rio Gravataí, Rio grande do Sul (decapoda, Parastacidae). Thesis.
- Sokol, A. 1988. The australian yaby. In D. M. Holdich and R. S. Lowery (Eds): *Freshwater crayfish: Biology, Management and exploitation*, pp.401-425, Croom Helm. London/Sidney.
- Taketomi, Y. and Nishikawa, S. 1996. Implantation of androgenic glands into immature female crayfish, *Procambarus clarki*, with masculinization of sexual characteristics. *Journal of Crustacean Biology* **16**: 232-239.
- Taketomi, Y and Nishikawa, S. 1996. Testis and androgenic gland during development of external sexual characteristics of the crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of Crustacean Biology* **16**: 24-34.
- Vogt, V. 2002. Functional Anatomy. Pp.53-151. In D. M. Holdich. (Ed): *Biology of Freshwater Crayfish*. Blackwell Science

## CAPÍTULO 5

**Morphology of the vasa deferentia of *Parastacus defossus* and *P. varicosus*  
and comparison within the Parastacidae**

Clarissa K. Noro<sup>1</sup>, Daiana da Silva-Castiglioni<sup>1</sup>, Laura López-Greco<sup>2</sup>, Ludwig  
Buckup<sup>1</sup> and Georgina Bond-Buckup<sup>1</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves 9500, prédio  
432435, 9501970, Porto Alegre, RS (clarissanoro@hotmail.com). 2. Laboratory of  
Comparative Animal Physiology, Department of Biodiversity and Experimental  
Biology, FCEyN, University of Buenos Aires, Argentina.

**Artigo submetido: Revista Nauplius**

**Abstract.** In decapod crustaceans, spermatophores are specialized structures used for the transfer of mature spermatozoa from male to female during the mating process. With the purpose to characterize the vas deferens and spermatophore formation, two Brazilian species of crayfishes were investigated: *Parastacus defossus* and *P. varicosus*. Members of the freshwater crayfish family Parastacidae have two patterns of spermatophores: in the genus *Cherax*, found in Oceania, the spermatophore is composed of two layers, and each vas deferens is highly convoluted and has three macroscopically distinguishable parts; in Brazilian species *P. defossus* and *P. varicosus*, the vas deferens is short and straight, and no macroscopically different parts can be identified. The spermatophore is formed by only one layer, which consists of a PAS-positive fluid where spermatozoa are embedded. This PAS-positive matrix corresponds to the secondary layer found in the spermatophore of the Australian species of *Cherax*. The spermatophore structure in *Parastacus* is, therefore, simpler than in the studied Astacidae and than in the *Cherax* species.

**Key- words:** Morphology, Parastacidae, *Parastacus*, spermatophore, vas deferens

## Introduction

In decapod crustaceans the male reproductive system is composed of testis and vasa deferentia leading to the external gonopore. The vas deferens functions to pack the spermatozoa into spermatophores which protect them against desiccation and microbial infection, among other functions. Upon exit from the testis into the vas deferens, the spermatozoa are surrounded by epithelial secretions that consolidate the sperm mass and develop the noncellular spermatophore wall layers (Dudenhausem and Talbot, 1983; Bauer, 1986; Subramoniam, 1991; Krol *et al.*, 1992; Vogt, 2002).

The spermatophores are stored in the distal vas deferens and during copulation, they are extruded through the gonopores and transferred to the female. In decapods there is considerable morphological variation and three general types of spermatophores are recognised. The simplest type is found in brachyuran crabs, where the spermatophore is spherical or ellipsoidal and consists of a sperm mass surrounded by a thin, noncellular wall, which is suspended in a seminal fluid in the vas deferens. The second type, produced by most macrurans (Galatheidea, Penaeidea, Caridea, Astacidea, Palinura e Thalassinidea second Milne-Edwards, 1834), is tubular and consists of a sperm mass covered by several investing layers of variable number and thickness. The third type is the pedunculate form present in most anomurans, which is composed of sperm-filled ampullae elevated on stalks which are attached to a common gelatinous base or pedestal (except for species of the family Hippidae) (for more information see Kooda-Cisco and Talbot, 1982; Dudenhausem and Talbot, 1983; Subramoniam, 1984; Bauer, 1986; Tudge, 1991, 1997, 1999).

In the infraorder Astacidea, the spermatophore is of the tubular type. The spermatophore ultrastructure is well known in the marine lobster *Homarus americanus* (Kooda-Cisco and Talbot, 1982) but in freshwater crayfishes it has been examined in only a few species. In the Astacidae, there is information for *Pacifastacus leniusculus* (Dudenhausen and Talbot, 1983; Vogt, 2002) and in the Parastacidae, for *Cherax tenuimanus*, *C. albidus* (Beach and Talbot, 1987; Talbot and Beach, 1989), and *C. quadricarinatus* (López Greco *et al.*, 2007).

There is no information available on the spermatophore structure in Brazilian parastacid species. In addition, another important feature about the South American species of the genus *Parastacus*, is that the presence of male and female gonopores in the same individual is a common characteristic (Rudolph 1995a, Rudolph and Almeida 2000). Although intersexuality is common in parastacids and is a strong indication of the occurrence of hermaphroditism, functional hermaphroditism is rare among crayfishes and is of the protandric type (Rudolph 1995b). The first case of hermaphroditism in the genus, was described by Rudolph (1995) for the Chilean species *P. nicoleti*. Hermaphroditism was later reported for *P. brasiliensis* and *Samastacus spinifrons*, by Almeida and Buckup (2000) and Rudolph (1999, 2002), respectively.

Due to this lack of information and with the purpose to characterize the vas deferens and spermatophore formation, two Brazilian species of crayfishes were investigated: *Parastacus defossus* is a fossorial species found only in Rio Grande do Sul (Brazil) and Uruguay (Buckup & Rossi, 1980), and *Parastacus varicosus*, a species found in freshwater environments in Uruguay, Argentina and Brazil (Buckup, 1999).

## Materials and Methods

Ten male specimens of *Parastacus defossus* were collected with a partial-vacuum pump in the Lami region, Porto Alegre Municipality, Rio Grande do Sul State, Brazil, and ten male specimens of *P. varicosus* were collected with traps at Cova do Touro, Gravataí, Porto Alegre Municipality, Rio Grande do Sul State, Brazil.

In the laboratory, the carapace length of the animals was measured with a digital caliper, then they were anesthetized in a -4 degrees C freezer for 20 min and finally dissected. The testis and vas deferens were removed and fixed in Bouin's solution for 4-6 hours. After they were dehydrated through increasing concentrations of ethanol (from 70% to 100%) (for 20 min) and then embedded in paraffin. The vas deferens were sectioned to 7 µm thick (with a LEICA RM 2145 ultramicrotome) and were stained with haematoxylin-eosin and Periodic Acid Schiff (PAS) (modified from Behmer *et al.* 1976).

The sections were analyzed under a estereomicroscope (Olympus CX31) and photographs of the vas deferens sections were taken.

## Results

The vas deferens histological analysis was made in males with a cephalothoracic length between 27.40 and 31.42mm. Only male fase specimens were used for analysis, which could be confirmed by the observations of the gonads in the moment of the dissection.

In *P. varicosus* and in *P. defossus*, both males and females possess two pairs of genital ducts, the oviducts extend toward the female openings on the

coxae of the third pereopods and the vas deferens extends to the coxae of the fifth pereopods, where the male genital openings are located. In the male fase specimens, the oviducts are very thin and translucent, and together with the condition of obstruction of the female gonopore indicate the lack of functionality of the female function. The vas deferens is short and straight, and no different parts can be macroscopically identified (figure 1A). The mean length of the vas deferens of both species analyzed was 13.02 mm (SE=±0.61mm).

By means of the histological analysis, the vas deferens wall consists of an external layer of connective tissue, a central muscular layer and internal epithelial tissue (Fig. 1C-F). It was possible to microscopically distinguish three regions: proximal, medium and distal vas deferens (figure 1A). The proximal vas deferens has a thin diameter (mean=0.15mm, SE=±0.012mm) and a single-layered epithelium. Above this epithelium, a thin muscular layer is seen. The middle vas deferens also has a thin epithelium and a medium muscular layer and is the thickest portion of the vas deferens (mean=0,53mm, SE=±0.034mm). The androgenic gland occurs in this region (Figure 1B). The distal vas deferens has a thick muscular layer and has a diameter of 0.20mm (SE=±0.012mm) becoming narrower as approximates to the gonopore in the fifth pereopod coxae.

In the lumen of the proximal, middle, and distal vas deferens, PAS-positive material was observed surrounding the mass of spermatozoa (Figure 1 C-F). Our histological observations on *P. defossus* and *P. varicosus* indicate that the spermatophore is formed by only one layer, which consists of a PAS-positive fluid in which spermatozoa are embedded.

## Discussion

In freshwater crayfishes, the spermatophore structure has been examined in only a few species. In the North American astacid crayfish *Pacifastacus leniusculus*, the spermatophore consists of two main parts, a sperm mass composed of spermatozoa embedded in a matrix, and a noncellular wall formed from secretions produced in the vas deferens. Each individual sperm cell is surrounded by a thin capsule. The wall of the spermatophore is composed of three concentric layers, a thin primary layer which directly surrounds the sperm mass, a thick middle layer, and a thick outer globular layer (Dudenhause and Talbot, 1983). On extrusion, the sticky outer layer transforms into a fibrillar thickened ridge anchoring the oval end of the spermatophore to the female body and the middle layer is responsible for the hardening of the spermatophore for prolonged external storage (Dudenhause and Talbot, 1983; Subramoniam, 1991).

In the Parastacidae, the spermatophore structure differs from the three concentric layers found in the Astacidae. In parastacid species found in Oceania (*Cherax albidus*, *C. destructor*, and *C. quadricarinatus*), the spermatophore is composed of two layers, and the vasa deferentia are highly convoluted and have three macroscopically distinguishable portions: proximal, middle, and distal vas deferens (Talbot and Beach, 1989; Jerry, 2001; López Greco *et al.*, 2007). In *C. quadricarinatus*, the proximal vas deferens has a single-layered epithelium composed of tall cylindrical cells. There is also a single layer of muscle cells and connective tissue internal to the epithelium. In the vas deferens lumen, a PAS-positive material surrounds the mass of spermatozoa (primary layer of the spermatophore). In the distal vas deferens a thick muscle layer can be seen and

the contraction of this muscle tissue is responsible for the evacuation of the spermatophore from the gonopore (López Greco *et al.*, 2007). In *C. albidus* and *C. tenuimanus*, the spermatozoa entering the proximal vas deferens, from the testis, are supported in a matrix which becomes surrounded by the primary spermatophore layer during their transit through the proximal segment. The secondary layer begins to be secreted in the middle vas deferens, but the final synthesis occurs in the distal vas deferens, which also functions to store the mature spermatophore (Beach and Talbot, 1987; Talbot and Beach, 1989).

Histologically, the organization of the vas deferens of *P. defossus* and *P. varicosus* is similar to that of *Cherax* species studied by Talbot and Beach (1989) and by López Greco *et al.*, (2007). The vas deferens structure of *P. defossus* and *P. varicosus*, is similar to that of *P. brasiliensis* (see Almeida and Buckup, 1997; 2000) and in the Chilean *P. nicoleti* (see Rudolph, 1995b; Rudolph *et al.*, 2001) but differs from the Chilean species *S. spinifrons* where some kind of macroscopically visible regionalization is observed (Rudolph, 2002); although no histological studies have been done to elucidate microscopic aspects.

For the South American Parastacidae, there are no detailed studies of the spermatophore structure. However, the two-layered spermatophore found in *Cherax* species was not observed in *P. defossus* and *P. varicosus*. Our histological observations on *P. defossus* and *P. varicosus* showed that the spermatophore is formed by only one layer, which consists of a PAS-positive fluid where spermatozoa are embedded. This PAS-positive matrix corresponds to the secondary layer found in the spermatophore of the Australian species of *Cherax* (Talbot and Beach, 1989; López Greco *et al.*, 2007).

Second Subramonian (1993), Lobsters and crayfish spermatophores are generally complex masses consisting mainly of spermatophoric tubes embedded in a protective gelatinous matrix. However, in *Parastacus*, the spermatophoric tubes are absent and this overall spermatophore structure implies that sperm would be evacuated from the testis to the vas deferens without any capsule surrounding each spermatozoa (as in the astacid, *Pacifastacus*) and without the primary acellular layer present in *Cherax* species. The spermatophore structure in *Parastacus* is, therefore, simpler than in the studied Astacidae and than in the *Cherax* species.

Another interesting fact is the size and position of the androgenic gland. In *P. defossus* and *P. varicosus* the androgenic gland could be seen in the middle vas deferens while in *C. destructor* and *C. quadricarinatus*, this gland is located in the distal part of the vas deferens (Fowler and Leonard, 1999), as is also usual in other studied Decapoda (Charniaux-Cotton and Payen, 1985).

Spermatophores of several astacids are known to harden on exposure to water. The mechanism of hardening has long been controversial, mainly because of a lack of information about the chemical nature of the spermatophore layers (Subramoniam, 1991). Recent studies on lobster and crayfish have shed some light on this question, by examining the structural layers of the spermatophore (Kooda-Cisco and Talbot 1982, 1986; Dudenhausen and Talbot, 1983; Beach and Talbot, 1987; Talbot and Beach, 1989; Subramoniam, 1991; López Greco *et al.*, 2007).

Currently, no information is available about the mechanisms involved in spermatophore transfer, hardening, and dehiscence in South American

Parastacidae, and we have never observed females with spermatophores of *P. defossus* and *P. varicosus* neither in nature nor in the laboratory.

Some aspects of the external morphology of the Parastacidae are different from the freshwater crayfishes of the Northern Hemisphere (families Cambaridae and Astacidae) and may be related to different mating strategies. In the Cambaridae e Astacidae, the main external character of sexual differentiation is the form of the pleopods, especially of the first abdominal somite that in males, are modified for spermatophore transfer (Holdich 2002). Secondary sexual characteristics of sexually active cambarid females include a prominent cornified seminal receptacle (*annulus ventralis*) located between the bases of the walking legs where the spermatophore are deposited (Huner and Barr, 1991; Vogt, 2002). In the Parastacidae, the first abdominal somite bears no pleopods in either males or females, and the simultaneous and constant presence of both pairs of genital pores in individuals of *Parastacus* renders identification of the sex in these animals difficult (Holdich 2002). The exception is the Chilean species *P. nicoleti*, which shows wide variability of sexual forms (Rudolph 1995b).

The structural modification in spermatophores of the South American genera *Samastacus* and *Parastacus* compared to *Cherax* and Astacidae is most likely related to different mating strategies (external versus internal), morphology of mating structures (gonopores and pleopods), habitats, life histories or phylogenetic trends that need to be studied.

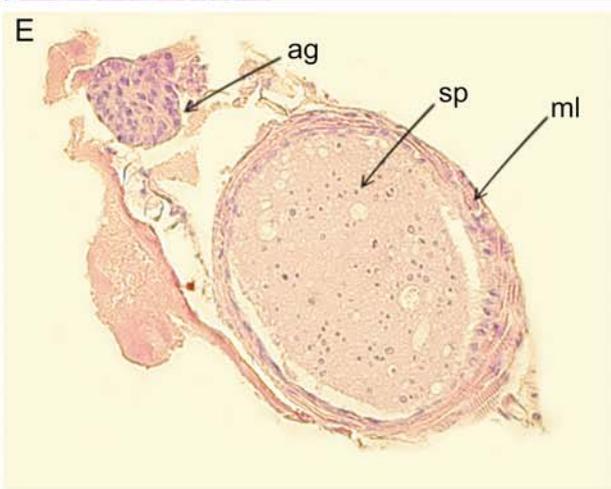
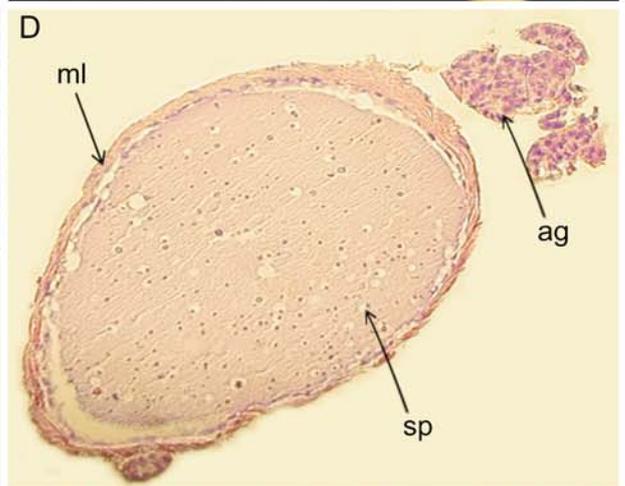
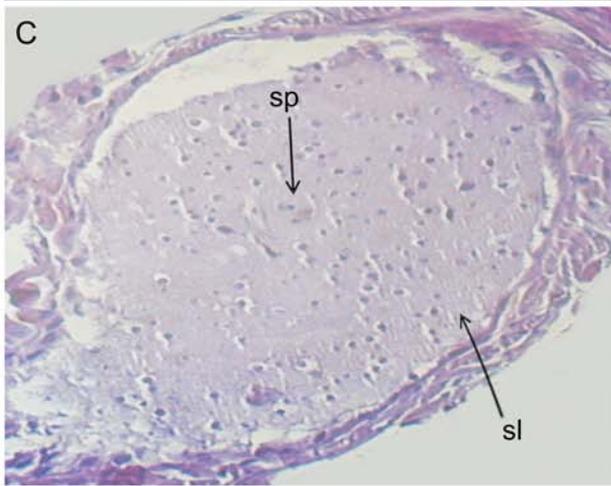
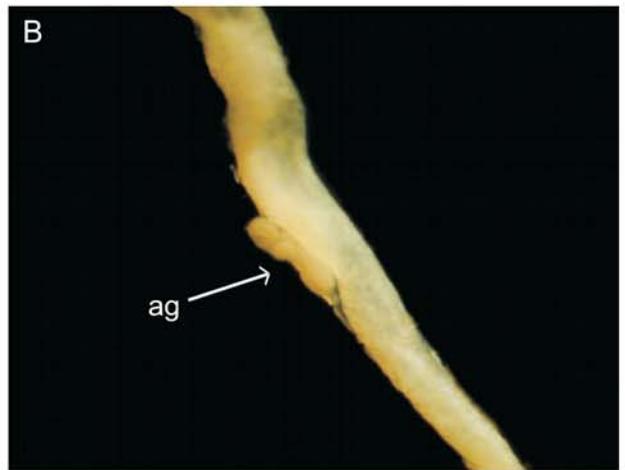
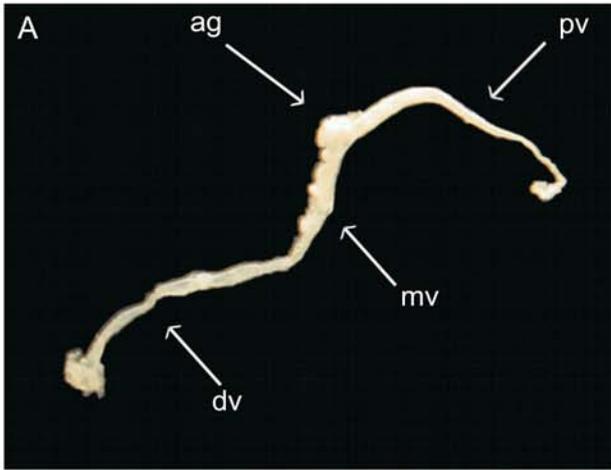


Figure 1. A. *Parastacus defossus*, proximal, middle and distal vas deferens. B. Detail of the androgenic gland. C. *Parastacus varicosus*, histology of middle vas deferens. D-E. *P. defossus* histology of middle vas deferens. F. *P. defossus*, histology of distal vas deferens. Ag: androgenic gland; pv: proximal vas deferens; mv: middle vas deferens; dv; distal vas deferens; Sp: spermatozoa; sl: secondary layer of spermatophore; ml: muscular layer.

## References

- Almeida, A. O. and Buckup, L. 1997. Aspectos anatômicos e funcionais do aparelho reprodutor de *Parastacus brasiliensis* (von Martens) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 14(2): 497-509.
- Almeida, A. O. and Buckup, L. 1999. Caracteres sexuais primários e secundários do lagostim *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea, Parastacidae). *Nauplius*, 7: 113-126.
- Almeida, A. O. and Buckup, L. 2000. Occurrence of protandric hermaphroditism in a population of the neotropical freshwater crayfish *Parastacus brasiliensis* (Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology*, 20(2): 224-230.
- Bauer, R. T. 1986. Phylogenetic trends in sperm transfer and storage complexity in decapod crustaceans. *Journal of Crustacean Biology*, 6: 313-325.
- Beach, D. and Talbot, P. 1987. Ultrastructural comparison of sperm from the crayfishes *Cherax tenuimanus* and *Cherax albidus*. *Journal of Crustacean Biology*, 7: 205-218.
- Behmer O. A., Tolosa E. M. C. and Freitas Neto G. A. 1976. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. EDART-São Paulo, Livraria editora Ltda. Editora da Universidade de São Paulo, 241p
- Buckup, L. 1999. Família Parastacidae. Pp. 319-327. *In* Buckup, L. and Bond-Buckup, G. org. Os Crustáceos do Rio Grande do Sul, Ed. UFRGS.
- Buckup, L. and Rossi, A. 1980. The genus *Parastacus* in Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 40 (4), 663-681.

- Charniaux-Cotton, H. and Payen, G. 1985. Sexual differentiation. Pp. 290-330. *In* Bliss, D. E. and Mantel, L. H. eds. Integument, pigments and hormonal processes. Academic Press, New York.
- Dudenhause, E. E. and Talbot, P. 1983. An ultrastructural comparison of soft and hardened spermatophores from the crayfish *Pacifastacus leniusculus* Dana. Canadian Journal of Zoology, 61: 182-194.
- Fowler, R. J. and Leonard, B. V. 1999. The structure and function of the androgenic gland in *Cherax destructor* (Decapoda: Parastacidae). Aquaculture, 171: 135-148.
- Huner, J. V. and Barr, J. E. 1991. Red swamp crawfish: biology and exploitation, 3<sup>rd</sup> edn. Louisiana Seagrass College Program, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana.
- Jerry, D. R. 2001. Electrical stimulation of spermatophore extrusion in the freshwater yabby (*Cherax destructor*). Aquaculture, 200: 317-322.
- Kooda-Cisco, M. J. and Talbot, P. 1982. A structural analysis of the freshly extruded spermatophore from the lobster, *Homarus americanus*. Journal of Morphology, 172: 193-207.
- Kooda-Cisco, M. and Talbot P. 1986. Ultrastructure and role of the lobster *vas deferens* in spermatophore formation: the proximal segment. Journal of Morphology 188: 91-103
- Krol, R. M.; Hawkins, W. E. and Overstreet, R. M. 1992. Reproductive Components. Pp. 295-343. *In* Harrison, F. W. and Humes, A. G. eds. Microscopic Anatomy of the Invertebrates. Vol. 10. Wiley-Liss, New York.

- López-Greco, L., Vazquez F. and Rodríguez E. (2007). Morphology of the male reproductive system and spermatophore formation in the freshwater “red claw” crayfish *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1898) (Decapoda, Parastacidae). *Acta Zoologica*. In press.
- Rudolph, E. H. 1995a. A case of gynandromorphism in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Decapoda: Parastacidae). *Crustaceana*, 68(6): 705-711.
- Rudolph, E. H. 1995b. Partial protandric hermaphroditism in the burrowing crayfish *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology*, 15: 720-732.
- Rudolph, E. H. 1997. Intersexualidad en el camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poeppig, 1835) (Decapoda, Parastacidae). *Investigaciones Marinas*, 25: 7-18.
- Rudolph, E. H. 1999. Intersexuality in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana*, 72: 325-337.
- Rudolph E., 2002. New records of intersexuality in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Decapoda, Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology*, 22: 377-389.
- Rudolph, E., Verdi, A. and Tapia, J. 2001. Intersexuality in the burrowing crayfish *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana*, 74: 27-37.
- Subramoniam, T. 1984. Spermatophore formation in two intertidal anomuran crabs, *Emerita asiatica* and *Albunea symnista* (Decapoda: Anomura). *Biological Bulletin*, 166:78-95.

- Subramoniam, T. 1991. Chemical composition of spermatophores in Decapod Crustaceans. Pp. 308-321. *In* Bauer, R. T. and Martin, J. W. eds. Crustacean Sexual Biology. Columbia University Press, New York, USA.
- Subramonian, T. 1993. Spermatophores and sperm transfer in Marine Crustaceans. Pp. 129-214. *In* Advances in Marine Biology, Vol 29, Academic Press.
- Talbot P. and Beach, D. 1989. Role of the vas deferens in the formation of the spermatophore of the crayfish (*Cherax*). *Journal of Crustacean Biology*, 9: 9-24.
- Tudge, C.C. 1991. Spermatophore Diversity within and among the Hermit Crab Families, Coenobitidae, Diogenidae, and Paguridae (Paguroidea, Anomura, Decapoda). *Biological Bulletin*, 181 (2): 238-247.
- Tudge, C. C. 1997. Phylogeny of the Anomura (Decapoda: Crustacea): spermatozoa and spermatophore morphological evidence. *Contribution Zoology*, 67: 125–141.
- Tudge, C. C. 1999. Spermatophore morphology in the hermit crab families paguridae and parapaguridae (paguroidea, anomura, decapoda). *Invertebrate Reproduction & Development*, 35 (3): 203-214.
- Vogt V., 2002. Functional Anatomy, p. 53-151. *In* Holdich, D. M. ed. *Biology of Freshwater Crayfish*. Blackwell Science.

## CAPÍTULO 6

**O Crescimento de *Parastacus defossus* Faxon 1898 (Crustacea, Decapoda,  
Parastacidae)**

Clarissa K. Noro<sup>1</sup> & Ludwig Backup<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, prédio 43435, sala  
214, Porto Alegre, Brasil. [clarissanoro@hotmail.com](mailto:clarissanoro@hotmail.com); [lbuckup@yahoo.com.br](mailto:lbuckup@yahoo.com.br)

**Artigo a ser submetido**

RESUMO. O presente trabalho teve como objetivo o estudo do crescimento de *Parastacus defossus*, uma espécie fossorial de ocorrência registrada no Brasil (Rio Grande do Sul) e no Uruguai. A curva de crescimento foi calculada para exemplares provenientes do seu habitat natural bem como para juvenis cultivados em laboratório. Os animais foram coletados uma vez por mês de janeiro de 2003 a agosto de 2005, na região do Lami, município de Porto Alegre. Para estimar o crescimento em comprimento adotou-se o modelo de von BERTALANFFY (1938). Para o cálculo do valor das “modas” utilizou-se o programa PeakFit 4.12© SeaSolve Inc. A curva de crescimento em comprimento para os indivíduos coletados em campo é descrita pela equação:  $Ct = 30,98 [1 - e^{-0,0026 (t + 44,86)}]$  e para os juvenis cultivados em laboratório:  $Ct = 19,29 [1 - e^{-0,0048 (t + 37,14)}]$ . Verifica-se que em condições de cultivo, o crescimento foi mais lento do que em animais provenientes do seu habitat natural. Comparando os dados de *P. defossus* com os de *P. brasiliensis*, verifica-se um crescimento mais lento tanto em condições de laboratório como em campo. A longevidade da espécie estudada (1198,7 dias ou 40 meses) também mostrou-se inferior a longevidade calculada para *P. brasiliensis*.

Palavras chave: curva de crescimento, von Bertalanffy, lagostim de água doce, Parastacidae.

## INTRODUÇÃO

A família Parastacidae reúne os lagostins de água doce do hemisfério Sul, com representantes na Austrália, Tasmânia, Nova Zelândia, Madagascar e América do Sul, sendo que a maior parte das espécies ocorre na região australiana. Na América do Sul os Parastacidae estão representados por dez (10) espécies em três gêneros: *Parastacus* Huxley, 1879, *Samastacus* Riek, 1971 e *Virilastacus* Hobbs, 1991. Apenas o gênero *Parastacus* está representado no Brasil, com as espécies *Parastacus pilimanus* (von Martens, 1869), *P. brasiliensis* (von Martens, 1869), *P. varicosus* Faxon, 1898, *P. defossus* Faxon, 1898, *P. saffordi* Faxon, 1898 e *P. laevigatus* Buckup & Rossi, 1980 (BUCKUP, 1999).

Em 1984, FRIES realizou a primeira investigação sobre o crescimento de uma espécie de *Parastacus* no Brasil, acompanhando o crescimento de uma coorte de *P. brasiliensis* nascida em laboratório. Em 1989, FONTOURA & BUCKUP voltaram a estudar o crescimento de *P. brasiliensis*, pelo modelo de von Bertalanffy, acompanhando o crescimento de animais em sucessivas coletas em um arroio no município de Mariana Pimentel, RS.

As curvas de crescimento podem contribuir na compreensão dos diferentes padrões no ciclo de vida de uma espécie, que associados a outros processos como muda e reprodução, auxiliam no entendimento dos aspectos biológicos de uma população (SANTOS 1978). A determinação da curva de crescimento é de fundamental importância para a análise da estrutura populacional de uma determinada espécie, pois seus parâmetros podem fornecer informações referentes ao tamanho máximo atingido pelos animais, a idade em que este tamanho é alcançado e sobre a taxa de crescimento (VALENTI *et al.* 1987). Para os crustáceos, o estudo da curva de crescimento pode ser feito por meio de cultivo da espécie

ou pelo acompanhamento das coortes etárias resultantes da distribuição de frequências dos organismos em função do tempo (FONTELES-FILHO 1987). O modelo matemático proposto por BERTALANFFY (1938) tem se mostrado eficaz no ajuste dos pontos empíricos, e tem sido usado com sucesso no cálculo do crescimento de diversos crustáceos (DINCAO *et al.*, 1993; FONTOURA & BUCKUP 1989; SAMPAIO & VALENTI 1996; BUENO *et al.* 2000; NORO & BUCKUP 2003).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do crescimento de *Parastacus defossus*, uma espécie fossorial, que constrói suas habitações subterrâneas em forma de galerias ramificadas e interligadas em terrenos baixos e alagadiços, de ocorrência registrada apenas no Brasil (Rio Grande do Sul) (BUCKUP & ROSSI 1980) e no Uruguai (ZOLESSI & PHILIPPI, 1995). A curva de crescimento foi calculada para populações amostradas em seu habitat natural e comparada com o crescimento de juvenis cultivados em laboratório.

## **METODOLOGIA**

Exemplares de *P. defossus* foram coletados uma vez por mês, de janeiro de 2003 a agosto de 2005, em uma propriedade rural particular na região do Lami, município de Porto Alegre, RS. Cerca de trinta (30) exemplares foram extraídos em cada operação mensal de coleta do interior das galerias com o auxílio de uma bomba de sucção em PVC. Em laboratório os animais foram medidos quanto ao comprimento da carapaça com paquímetro digital com precisão de 0,01 mm.

O crescimento em comprimento de *P. defossus* foi estimado pela análise da distribuição de frequência de comprimento da carapaça em intervalos de classe de 2mm, ao longo do ano e conseqüente reconhecimento do deslocamento modal em função do tempo.

Visando aumentar o valor representativo das unidades amostrais, optou-se pelo agrupamento trimestral correspondente às estações do ano.

Para a identificação dos valores das modas foi utilizado o software estatístico PeakFit 4.12© SeaSolve Inc., que contém um algoritmo capaz de estimar as distribuições Gaussianas ou normais contidas nas frequências dos grupos de comprimento, identificando um parâmetro central (“Peak”, a1 da amplitude Gaussiana) que pode ser entendido como correspondente a moda. Para a escolha dos parâmetros centrais e traçado gráfico inicial da curva de crescimento, priorizou-se os pontos (picos, “peaks”) com menor erro padrão e maior valor do coeficiente de determinação.

Para a análise do crescimento em comprimento foi utilizado o modelo de von BERTALANFFY (1938):  $C_t = C_\infty [1 - e^{-k(t-t_0)}]$ , onde  $C_t$  = comprimento da carapaça na idade  $t$ ;  $C_\infty$  = comprimento médio máximo da carapaça;  $e$  = base dos logaritmos naturais;  $k$  = constante relacionada à taxa de crescimento;  $t_0$  = parâmetro relacionado com o tamanho do animal ao nascer;  $t$  = a idade considerada;

A longevidade ou idade máxima ( $t_{\max}$ ) foi calculada segundo dois métodos: utilizando a fórmula inversa de Bertalanffy (segundo PINHEIRO & TADDEI 2005):  $t_{\max} = t_0 - (1/k) \ln [1 - (C_{\max}/C_\infty)]$  e pelo método de PAULY (1980):  $t_{\max} = 3/k + t_0$ , onde,  $k$  é a constante de crescimento;  $t_0$ , idade em anos estimada pela equação de Bertalanffy;  $C_{\max}$ , tamanho do maior animal registrado durante o período estudado,  $C_\infty$  o tamanho assintótico.

## RESULTADOS

### *Lagostins coletados em campo*

Ao longo dos meses de amostragem foram obtidos dados de comprimento de 754 exemplares de *P. defossus*, sendo 588 adultos e 166 juvenis. O menor exemplar capturado em campo possuía 3,23 mm de comprimento e o maior 32,42mm. Animais com tamanho inferior a 18 mm de Cc foram considerados como juvenis segundo critérios propostos por NORO *et al.* (submetido), pelo fato de não ser possível diferenciar as gônadas macroscopicamente. Embora o crescimento diferencial entre os sexos seja bem conhecido entre muitos crustáceos, no presente trabalho optou-se por reunir machos e fêmeas para o cálculo da curva de crescimento. Esta decisão metodológica apoiou-se na impossibilidade de distinguir-se, com um mínimo de segurança, o sexo dos animais com base na morfologia externa. Além disso, *P. defossus* é uma espécie hermafrodita protândrica, portanto seqüencial (ver NORO *et al.* submetido), o que deixa a identificação sexual ainda mais insegura.

A figura 1 representa as distribuições de freqüência absoluta, por estação do ano, das classes de comprimento da carapaça (mm) de *P. defossus*. Observa-se a entrada de juvenis na população (recrutamento) na primavera de 2003 e no verão 2005 (provavelmente o recrutamento ocorre na primavera 2004, mas devido à seca não foi possível coletar os juvenis). Os histogramas de freqüência mostram modas bastante nítidas, podendo-se observar três grupo etários a partir da primavera-verão: o primeiro grupo representa a geração de animais juvenis que entraram na população (recrutamento), uma segunda geração de animais com aproximadamente um ano de idade e tamanho aproximado entre 16-18mm Cc, e a terceira geração, de indivíduos maiores e mais velhos, com idade aproximada de 2 anos e com tamanhos superiores a 24 mm de Cc.

A sucessão de modas escolhida para o cálculo da curva de crescimento foram aquelas que obtiveram o melhor coeficiente de correlação bem como as que ensejaram uma estimativa do comprimento assintótico mais próximo dos dados observados no campo. A tabela I informa sobre os valores utilizados para o cálculo dos parâmetros da curva de crescimento. O valor escolhido para representar o comprimento na idade 0 foi de 3,12mm, visto que este foi o tamanho do menor animal medido de uma coorte eclodida em laboratório.

A curva de crescimento em comprimento para os indivíduos de *P. defossus* coletados em campo é descrita pela equação:  $C_t = 30,98 [1 - e^{-0,0026 (t + 44,86)}]$  (fig 3). O comprimento assintótico estimado pela curva de crescimento (30,98mm) ficou muito próximo do comprimento do maior animal medido em campo (32,42mm).

A longevidade, calculada pela fórmula inversa de von BETALLANFY (1938), foi estimada em 1.219,56 dias, semelhante ao valor calculado pelo método de PAULY (1980), 1.198,7 dias, o que representa uma longevidade de aproximadamente 40 meses (3 anos e 4 meses) para a espécie em questão.

#### ***Lagostins eclodidos e cultivados em laboratório***

Os dados de crescimento dos juvenis em laboratório foram obtidos pelo acompanhamento de uma coorte eclodida em dezembro de 2003, de uma fêmea coletada em outubro/03. A fêmea, com 30,32mm de comprimento, abrigava 35 ovos na região abdominal. Após a eclosão dos ovos, os juvenis foram cultivados e medidos mensalmente durante um período de 26 meses (até fevereiro de 2006), quando restou apenas um indivíduo vivo desta coorte. Os juvenis foram cultivados em temperatura constante de 20°C e fotoperíodo de 12 por 12 horas.

A figura 2 representa a distribuição de frequência absoluta das classes de comprimento da carapaça (mm) dos juvenis de *P. defossus* ao longo do ano. A tabela I contém os valores utilizados para o cálculo da curva de crescimento.

A curva de crescimento em comprimento para os juvenis de *P. defossus* cultivados em laboratório é descrita pela equação:  $Ct = 19,29 [1 - e^{-0,0048 (t + 37,14)}]$  (fig 3). O valor do comprimento assintótico ficou subestimado, quando comparado com dados de animais em campo, pelo fato de os animais terem sido medidos apenas por 26 meses, sendo que nesta idade o comprimento do único animal que permanecia vivo correspondia ao valor de 17,80mm.

## DISCUSSÃO

Os dados do crescimento dos juvenis de *P. defossus* cultivados em laboratório ajudaram na interpretação das medidas obtidas sobre o crescimento dos lagostins em campo, especialmente na fase inicial. Comparando-se as curvas de crescimento obtidas em campo com a curva dos animais cultivados em laboratório foi possível verificar que, levando em consideração as condições diferenciadas do cultivo, onde a temperatura é constante e a alimentação é distinta, o crescimento em laboratório se mostrou inferior ao crescimento dos animais em campo. Segundo HARTNOLL (1983) fatores como alimento e fotoperíodo podem ter efeito em dois componentes essenciais do crescimento, incremento por muda e frequência da muda. O valor de k foi superior nos juvenis cultivados em laboratório, mas isto deve-se ao fato do crescimento ser mais acelerado nos animais menores.

Dados de crescimento de espécies do gênero *Parastacus*, só existem para a *P. brasiliensis*. FRIES (1984) estimou a curva de crescimento para uma coorte nascida em

laboratório ( $Ct = 42,894 [1 - e^{-0,00198 (t + 48,273)}]$ ), sendo que o valor do comprimento assintótico está um pouco abaixo do valor máximo de 45,4 mm observados por BUCKUP & ROSSI (1980), em lagostins coletados no meio natural. Na figura 4 é possível observar a diferença entre o crescimento de *P. defossus* e *P. brasiliensis*, ambos cultivados em laboratório. Verifica-se que em condições de cultivo, *P. defossus* apresenta um crescimento muito mais lento, atingindo tamanhos menores que *P. brasiliensis*.

FONTOURA & BUCKUP (1989) calcularam duas curvas de crescimento para uma população *Parastacus brasiliensis*, a primeira para indivíduos com menos de seis meses de idade ( $Ct = 17,13 [1 - e^{-1,940 (t + 0,104)}]$ ) e a segunda para indivíduos com idades superiores a seis meses ( $Ct = 57,37 [1 - e^{-0,227 (t + 0,487)}]$ ). A necessidade de utilização de duas curvas de crescimento decorreu do fato de que a curva estimada a partir das médias de comprimento dos grupos etários apresentarem uma superestimativa do tamanho do animal ao nascer ( $L_0$ ), assim como o valor do  $t_0$ . Os autores comentam sobre a diferença do valor de  $k$  estimado por FRIES (1984), que seria superior ao valor calculado para as condições de campo, como ocorreu em *P. defossus*, e que tal fato deve-se provavelmente a fatores de cultivo como temperatura e alimentação. Observa-se que o crescimento de *P. defossus*, em comparação com o crescimento de *P. brasiliensis*, apresenta taxas menores de crescimento, um fator certamente relacionado ao tamanho máximo atingido pela espécie (figura 5).

A longevidade de *P. defossus* foi estimada em 1198,7 dias ou 40 meses, mostrando-se inferior a longevidade calculada por FRIES (1984) para *P. brasiliensis*, que obteve um valor de 1563 dias ou 52 meses, valor um pouco inferior ao limite de idade estimado por FONTOURA & BUCKUP (1989), para a mesma espécie, em torno de 6 anos (aproximadamente 72 meses).

Dados sobre o crescimento também existem para espécies de Cambaridae e para Parastacídeos australianos. FIDALGO *et al.* (2001) estudaram o ciclo de vida do lagostim camarídeo *Procambarus clarkii* e observaram um período de recrutamento extenso, com pico em outubro e novembro. A curva de crescimento para a espécie é descrita pela equação:  $L = 62,01 [1 - e^{-0,23 (t + 0,11)}]$ . BEATTY *et al.* (2005) estudaram o crescimento de *Cherax quinquecarinatus*, um lagostim australiano, e obtiveram curvas de crescimento para machos e fêmeas. O valor de k foi de 0,29 para fêmeas e 0,25 para machos. Apesar do valor de k ser superior ao que foi estimado em *P. defossus*, o tamanho da espécie com um ano de idade (machos: 18,4 mm e fêmeas: 19,2mm) é semelhante ao encontrado no presente estudo. O tamanho assintótico foi estimado em 59,6mm para fêmeas e 73,8mm para machos, valores muito maiores quando comparados com aqueles encontrados para as espécies de *Parastacus*.

Tabela I. Valores das medianas utilizadas para o cálculo da curva de crescimento de exemplares de *P. defossus* coletados em campo e cultivados em laboratório. \* valor referente ao menor animal obtido em laboratório.

Exemplares coletados em campo		Juvenis eclodidos em laboratório	
Idade em dias	Modas	Idade em dias	Modas
0	3,12 *	0	3,12*
90	9,6	90	9,0
180	12,5	180	12,37
360	22,2	270	14,64
540	24,0	360	16,19
810	26,99	450	17,99
990	29,02	540	18,24
		630	18,32
		810	18,71

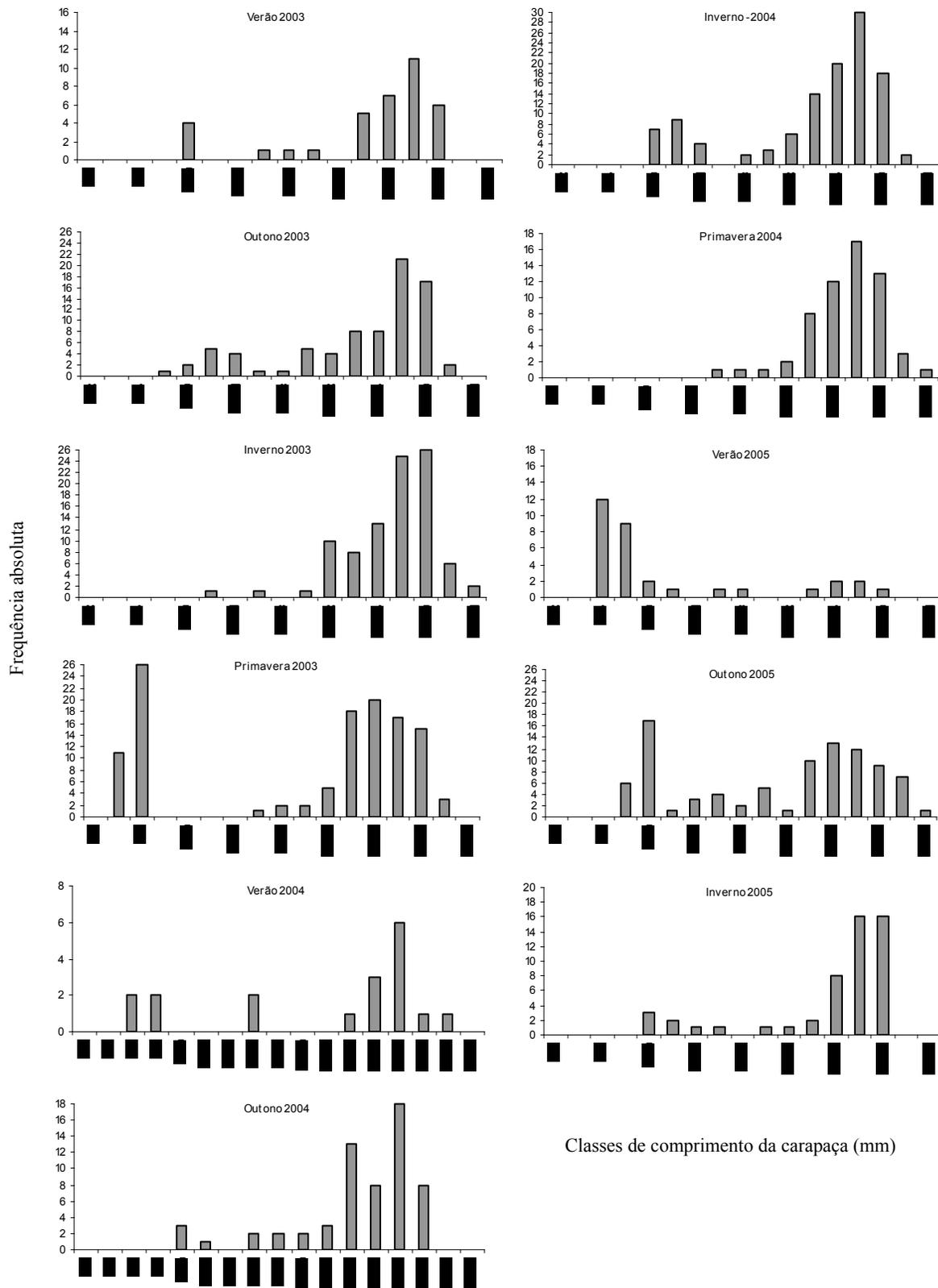


Figura 1. Distribuição das frequências absolutas sazonais do comprimento da carapaça (mm) de *Parastacus defossus*, coletados no período de janeiro de 2003 a agosto de 2005.

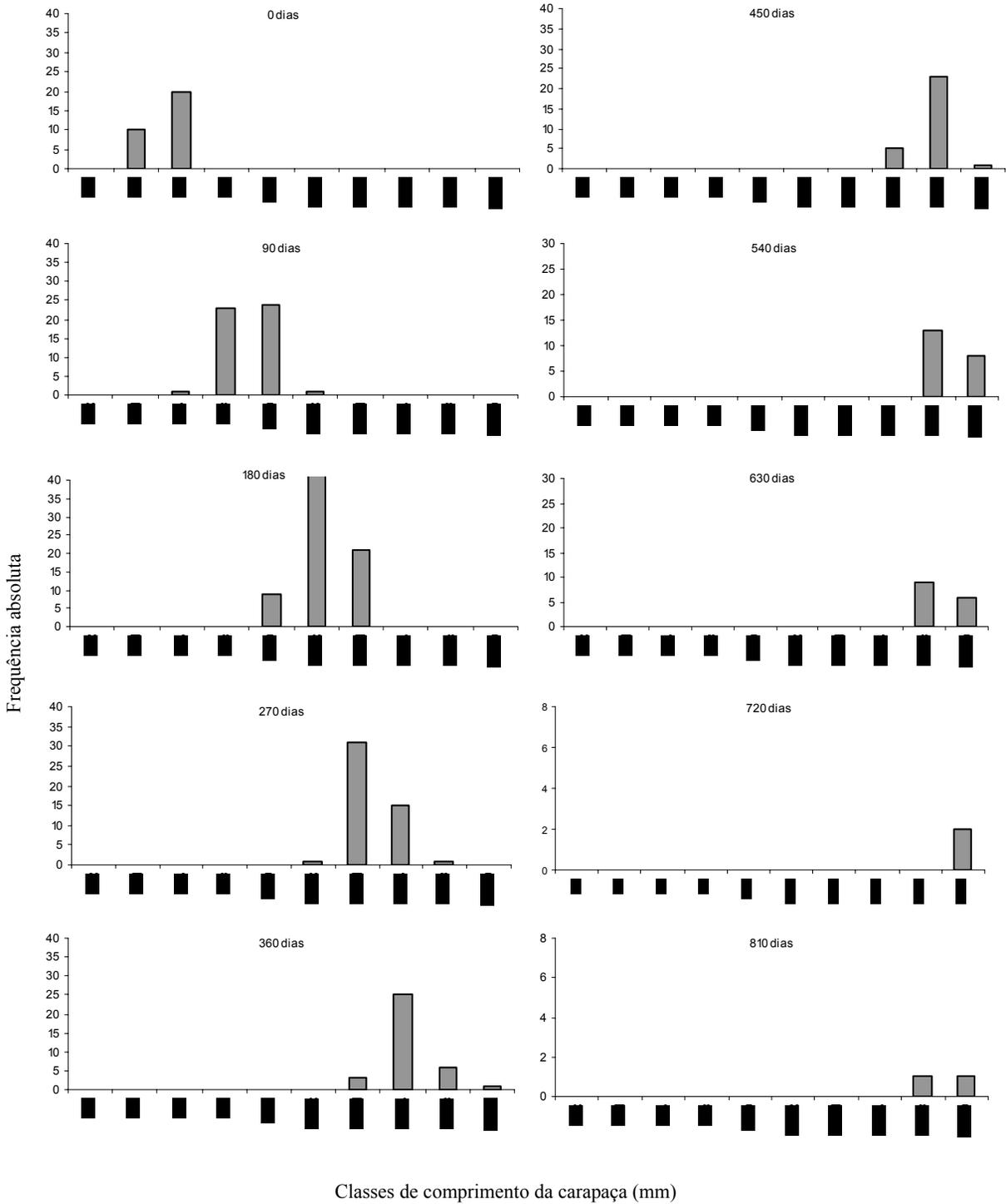


Figura 2. Distribuição das freqüências absolutas trimestrais do comprimento da carapaça (mm) dos juvenis de *Parastacus defossus*, cultivados em laboratório no período de dezembro de 2003 a fevereiro de 2006.

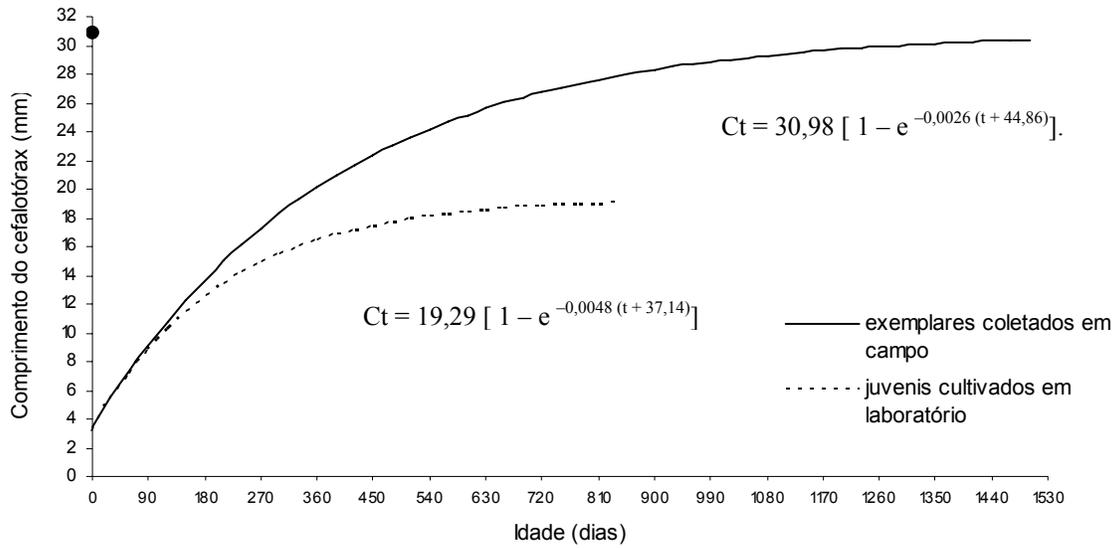


Figura 3. Curva de crescimento em comprimento da carapaça de *Parastacus defossus*, de exemplares coletados em campo e de juvenis cultivados em laboratório.

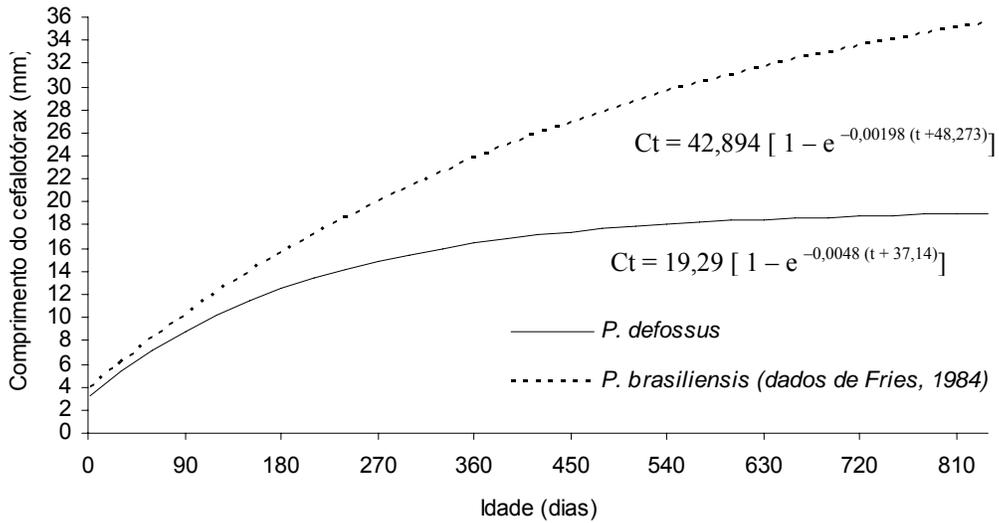


Figura 4. Comparação entre as curvas de crescimento em comprimento da carapaça de juvenis de *Parastacus defossus* e *P. brasiliensis* (segundo dados de FRIES, 1984) cultivados em laboratório.

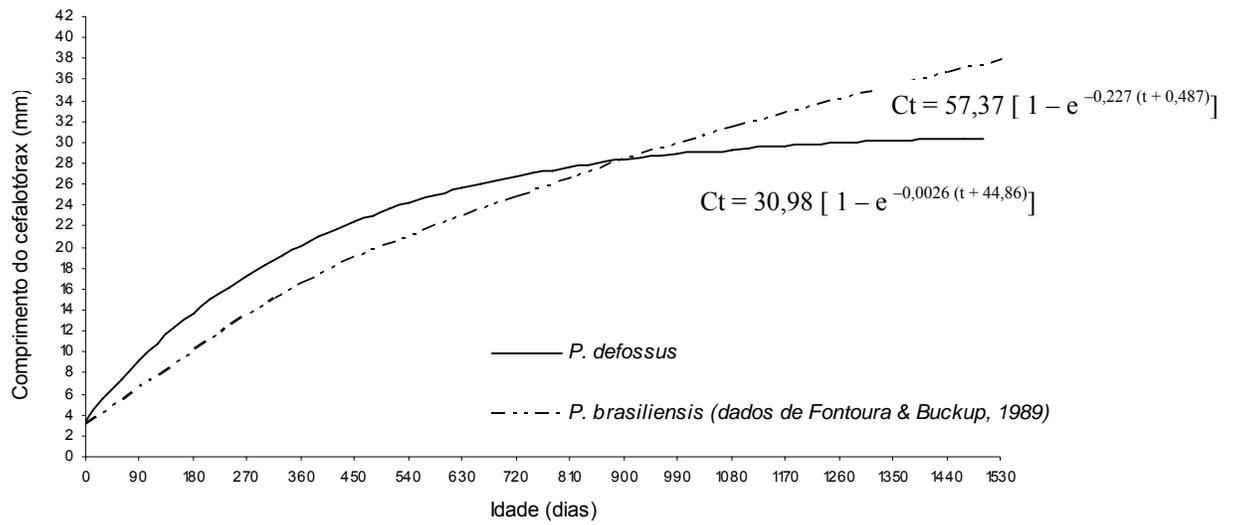


Figura 5. Comparação entre as curvas de crescimento em comprimento da carapaça de *Parastacus defossus* e *P. brasiliensis* (segundo dados de FONTOURA & BUCKUP, 1989) coletados em campo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEATTY, S. J.; D. L. MORGAN & S. HOWARD. 2005. Life History and reproductive biology of the gilgie, *Cherax quinquecarinatus*, a freshwater crayfish endemic to southwestern Australia. **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, **25**(2):251-262.
- BERTALANFFY, L. 1938. A quantitative theory of organic growth. **Human Biology**, **10** (2): 181-213.
- BUCKUP, L. & A. ROSSI. 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **40** (4): 663-681.
- BUCKUP, L. 1999. Família Parastacidae, p.319-327. *In*: L. Buckup & G. Bond-Buckup (Eds). **Os Crustáceos do Rio Grande do Sul**. UFRGS, Porto Alegre.
- BUENO, A. A. P.; G. BOND-BUCKUP & L. BUCKUP. 2000. Crescimento de *Aegla platensis* Schmitt em ambiente natural (Crustacea, Decapoda, Aeglidae). **Revista brasileira de Zoologia**, Curitiba, **17** (Supl. 1): 51-60.
- DINCAO, F.; M. L. RUFFINO; K. G. SILVA; A. C. BRAGA & L. H. C. MARQUES. 1993. Crescimento de *Chasmagnatus granulata* Dana, 1851 em um marisma de um estuário da Lagoa dos Patos, Rs (Decapoda, Grapsidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **53** (4): 637-643.
- FIDALGO, M. L.; A. P. CARVALHO & P. SANTOS. 2001. Population dynamics of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) from the aveiro region, Portugal (Decapoda, Cambaridae). **Crustaceana**, Leiden, **74**(4):369-375.
- FONTELES-FILHO, A. A. 1987. **Recursos pesqueiros, biologia e dinâmica populacional**. Fortaleza, Imprensa oficial de Ceará, 296p.

- FONTOURA, N. F. & L. BUCKUP. 1989. O crescimento de *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **49** (4): 897-909.
- FRIES, B. G. 1984. Observações sobre o lagostin de água doce *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) em condições de cultivo experimental em laboratório (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **44** (4): 409-416.
- HARTNOLL, R. G. 1983. Growth. In: D. E. BLISS (Ed). **The Biology of Crustacea: Embriology, morphology and Genetics**. Academic Press, X + 550p, New York.
- NORO, C. K. & L. BUCKUP. 2003. O crescimento de *Aegla leptodactyla* Buckup & Rossi (Crustácea, Anomura, Aeglidae). **Revista brasileira de Zoologia**, Curitiba, **20** (2): 191-198.
- NORO, C. K.; L. S. LÓPEZ-GREGO & L. BUCKUP. Gonad morphology and type of sexuality in *Parastacus defossus* Faxon 1898, a burrowing, intersexed crayfish from southern Brazil (Decapoda: Parastacidae). **Submetido a Acta Zoologica**.
- PAULY, D. 1980. On the interrelationships between natural mortality, growth parameters and mean environmental temperature in 175 fish stocks. **Journal Cons. Int. Explor. Mer.**, **39**(2): 175-192.
- PINHEIRO, M. A. A. & F. G. TADDEI. 2005. Crescimento do cranguejo de água doce, *Dilocarcinus pagei* Stimpson (Crustacea, Brachyura, Trichodactylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **22** (3): 522-528.
- SAMPAIO, C. M & W. C. VALENTI. 1996. Growth of *Macrobrachium rosenbergii* in semi-intensive culture in Brazil. **Journal of World Aquaculture Society**, **27** (3):353-358.

- SANTOS, E. P. 1978. **Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura**. São Paulo, HUCITEC, EDUSP. 129p.
- VALENTI, W.C.; J. T. C. DE MELLO & V. L. LOBÃO. 1987. Crescimento de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegman 1836) do Rio Ribeira do Iguape (Crustácea, Decapoda, Palaemonidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **47**(3): 349-355.
- ZOLESSI, L. C. & M. E. PHILIPPI. 1995. Lista sistemática de Decapoda del Uruguay (Arthropoda: Crustacea). **Comunicaciones Zoologicas del Museo de Historia Natural de Montevideo**, Montevideo, **12**: 1-24.

## CAPÍTULO 7

**Estrutura populacional e biologia reprodutiva de *Parastacus defossus* Faxon, 1898**

**(Crustacea, Decapoda, Parastacidae)**

Clarissa K. Noro<sup>1</sup> & Ludwig Backup<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, prédio 43435, sala 214, Porto Alegre, Brasil. [clarissanoro@hotmail.com](mailto:clarissanoro@hotmail.com)

**Artigo a ser submetido**

**Resumo.** Este trabalho teve como objetivo fornecer dados sobre a estrutura populacional e sobre aspectos da biologia reprodutiva de *Parastacus defossus* uma espécie com hábito fossorial que passa sua vida no interior de galerias subterrâneas. Aproximadamente 30 exemplares foram coletados na região do Lami, Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, uma vez por mês de Janeiro/2003 a Agosto/2005. Mediu-se o comprimento mínimo, máximo e médio da carapaça de machos, fêmeas, juvenis e animais com ootestículo. Analisou-se a distribuição de freqüência por classes de tamanho, a proporção sexual, o recrutamento e o período reprodutivo, que foi estabelecido através do registro de fêmeas ovigeras na população bem como através da freqüência de fêmeas com gônadas maduras. Foram amostrados um total de 766 exemplares, 315 machos (41,12%), 278 fêmeas (36,30%), 166 juvenis (21,67%) e 7 animais com ootestículo (0,91%). Machos e fêmeas estiveram presentes durante todos os meses de amostragem e em todas as classes de tamanho, sendo que a maior freqüência de indivíduos foi registrada nas classes de tamanho entre 24 a 30 mm de Cc. A maior freqüência de juvenis foi observada na primavera de 2003 e verão de 2005. A análise da distribuição de freqüências por classes de tamanho revelou diferenças significativas no tamanho de machos e fêmeas apenas nas classes de tamanho entre 26-30mm. A proporção sexual do período amostral foi de 1:0,88 ( $\chi^2=2,3$ ;  $p>0,05$ ) e entre as classes de tamanho foram constatadas diferenças significativas nas classes de tamanho 26-28 mm ( $\chi^2=5,43$ ;  $p>0,05$ ) e 28-30 mm ( $\chi^2= 4,77$ ;  $p>0,05$ ) de Cc, nas quais os machos foram mais freqüentes. Das 278 fêmeas coletadas, apenas 17 estavam ovígeras (6,11%), sendo que estas foram registradas nos meses de outubro e novembro de 2003 e nos meses de novembro e dezembro de 2004, sendo a estação reprodutiva bem definida na primavera. Pela análise macroscópica das gônadas de 213 fêmeas foi possível determinar que a maior percentagem de animais com ovários maduras encontrou-se no inverno e

primavera. Considerando que a menor fêmea com ovário maduro mediu 20,23mm e que a menor fêmea ovígera capturada mediu 22,63mm, é possível supor que a maturidade sexual das fêmeas ocorra a partir de 20mm de Cc, o que corresponde a aproximadamente um ano de idade.

Key words: *Parastacus*, período reprodutivo, proporção sexual, estrutura populacional.

## INTRODUÇÃO

*Parastacus defossus* é um lagostim de água doce que possui habito fossorial, e constrói suas habitações em terrenos baixos e alagadiços. Sua ocorrência é registrada apenas no Brasil (Rio Grande do Sul) e no Uruguai (BUCKUP & ROSSI 1980, ZOLESSI & PHILIPPI 1995).

A espécie pertence à família Parastacidae, que além dos gêneros presentes na América do Sul, *Parastacus* Huxley, 1879, *Samastacus* Riek, 1971 e *Virilastacus* Hobbs, 1991, possui a maior parte das espécies na região australiana. No Brasil, há registro da ocorrência apenas do gênero *Parastacus*, com 8 espécies, sendo que o gênero exibe uma distribuição disjunta: duas espécies ocorrem na região central do Chile enquanto as outras seis ocorrem no sul do Brasil e Uruguai (BUCKUP & ROSSI 1980, BUCKUP 1999).

Pouco se conhece sobre a biologia das espécies de *Parastacus* que ocorrem na Região Neotropical. Entre elas, apenas *Parastacus brasiliensis*, uma espécie endêmica no Rio Grande do Sul, tem sido a espécie alvo de algumas publicações. FRIES (1984) acompanhou o crescimento de uma coorte de juvenis eclodidos e cultivados em laboratório e obteve dados do incremento em comprimento e peso de animais no seu habitat natural. FONTOURA & BUCKUP (1989a,b) investigaram aspectos do crescimento, tamanho populacional, densidade, sobrevivência e recrutamento de uma população de *P. brasiliensis* no Município de Guaíba, RS

Estudos sobre a estrutura populacional fornecem informações importantes para o conhecimento da biologia de uma determinada espécie e em crustáceos, tem sido analisadas principalmente, pela distribuição dos indivíduos em classes de tamanho, abundância sazonal, densidade populacional, distribuição etária, proporção sexual, recrutamento e taxas

de mortalidade e natalidade (MANTELATTO *et al.* 1995, SANTOS *et al.* 1995, NEGREIROS-FRANSOZO *et al.* 1999).

Devido a falta de informações existentes sobre as espécies de Parastacídeos sul-americanas, este trabalho teve como objetivo fornecer dados sobre a estrutura populacional e sobre aspectos da biologia reprodutiva de *P. defossus*, uma espécie com hábitos que diferem de *P. brasiliensis*, pois passa sua vida no interior de galerias subterrâneas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Amostragem*

Aproximadamente 30 exemplares foram coletados na região do Lami, Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, em uma fazenda particular (30° 11' 41" S – 51° 06' 00" W) uma vez por mês de Janeiro/2003 a Agosto/2005. Devido ao hábito fossorial da espécie, para a coleta utilizou-se uma bomba de sucção em PVC, que é posicionada na abertura da galeria e através de bombeamento manual faz a sucção da água e juntamente os lagostins que estão presentes no sistema de galeria

### *Análises laboratoriais*

No laboratório, todos os animais tiveram medidos o comprimento da carapaça com paquímetro digital (0,01mm), bem como foram observados quanto a aparência dos poros genitais, segundo critério de ALMEIDA & BUCKUP (1999).

Para a caracterização da estrutura populacional, os animais foram agrupados em classes de tamanho de comprimento de carapaça de 2 mm de amplitude. A distribuição de freqüências por classes de tamanho foi analisada agrupando-se os dados trimestralmente, a fim de acompanhar as variações temporais da distribuição de freqüência etária da população.

Foi determinado o comprimento de carapaça mínimo, máximo e médio de machos, fêmeas, juvenis e animais com ootestículo. Para o estudo do recrutamento foram considerados juvenis os animais com comprimento inferior a 18 mm, pois nestes ainda não é possível a distinção sexual através da observação macroscópica das gônadas (segundo NORO *et al.*, submetido).

A proporção sexual foi analisada durante todo o período amostral, por estação do ano e por classes de tamanho da carapaça. Para verificar se a razão sexual segue a proporção esperada (1:1), utilizou-se o teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) com nível de significância de 5%.

Para estabelecer o período reprodutivo de *Parastacus defossus*, foi registrada a presença de fêmeas ovígeras na população ao longo dos meses de amostragem. O período reprodutivo também foi analisado através da frequência de fêmeas que possuíam gônadas maduras. Para a observação do estágio de maturação das gônadas, 213 fêmeas foram anestesiadas por 20 minutos em freezer, foram dissecadas e suas gônadas foram avaliadas segundo critérios de tamanho e cor (segundo NORO *et al.* submetido).

## **RESULTADOS**

Durante o período de Janeiro/03 a Agosto/05 foram amostrados um total de 766 exemplares de *P. defossus*, sendo 315 machos (41,12%), 278 fêmeas (36,30%), 166 juvenis (21,67%) e 7 animais com ootestículo (0,91%).

A estação com maior número de exemplares amostrados foi o inverno, devido a estação das chuvas que possibilitou uma maior eficiência da coleta com as bombas de PVC. Já o verão foi a estação com o menor número de exemplares amostrados, já que com o

baixo volume de chuvas, o nível do lençol freático ficou muito baixo impossibilitando a coleta dos animais.

O maior macho coletado em campo mediu 32,42 mm e a maior fêmea 32,32mm. O menor animal coletado foi um juvenil com 3,23 mm de Cc, coletado na primavera de 2003, juntamente com a fêmea e demais juvenis da mesma coorte. As medidas mínimas, máximas e médias do comprimento da carapaça de machos, fêmeas, juvenis, fêmeas ovigeras e animais com ootestículo estão apresentados na tabela I. Foram considerados juvenis, os animais que possuíam até 18 mm de Cc, visto que, apenas a partir deste tamanho começam a ser visíveis a morfologia dos poros genitais e, através da dissecação, já é possível distinguir macroscopicamente a gônada (segundo NORO *et al.* submetido).

Através dos gráficos de distribuição de frequência absoluta das classes de comprimento da carapaça (mm) (figura 1) é possível observar que machos e fêmeas estiveram presentes durante todos os meses de amostragem e em todas as classes de tamanho, sendo que a maior frequência de indivíduos (tanto machos como fêmeas) foi registrada nas classes de tamanho ente 24 a 30 mm de Cc (figura 2). A maior frequência de juvenis foi observada em dezembro de 2003 e em março de 2005, os quais correspondem ao período de recrutamento da espécie (Figura 1).

A análise da distribuição de frequências por classes de tamanho de todo o período amostral revelou diferenças significativas no tamanho de machos e fêmeas apenas nas classes de tamanho entre 26-30mm (figura 3). Na classe de tamanho de 26-28 mm houve diferença significativa no tamanho entre os sexos ( $\chi^2=5,54$ ;  $p>0,05$ ) bem como na classe 28-30 mm ( $\chi^2= 4,77$ ;  $p>0,05$ ) (figura 3). Observa-se uma diminuição de frequência nas classes de tamanho maiores, que pode ser resultado da mortalidade.

A proporção sexual durante o período de amostragem foi de 1:0,88 (macho:fêmea) ( $\chi^2=2,3$ ;  $p>0,05$ ). Analisando a proporção sexual sazonalmente não foram constatadas diferenças significativas na proporção de machos e fêmeas ( $p>0,05$ ). Na análise da proporção sexual entre as classes de tamanho, foram constatadas diferenças significativas apenas nas classes de tamanho 26-28 mm ( $\chi^2=5,43$ ;  $p>0,05$ ). e 28-30 mm ( $\chi^2= 4,77$ ;  $p>0,05$ ) de Cc, nas quais os machos foram mais freqüentes (Figura 3).

A presença de fêmeas ovígeras foi registrada em outubro e novembro de 2003 e em novembro e dezembro de 2004 (Figura 4), sendo a estação reprodutiva bem definida no período da primavera. Durante o período de amostragem das 278 fêmeas coletadas, apenas 17 estavam ovígeras (6,11%), a menor com tamanho de 22,63 mm (nov/04) e a maior 30,46 mm (dez/04).

Através da análise macroscópica das gônadas de 213 fêmeas de *P. defossus* foi possível verificar que a maior percentagem de animais com gônadas maduras (coloração laranja e verde) encontrou-se no inverno e primavera (figura 5). Das fêmeas analisadas 22,5% apresentaram gônadas imaturas ou em início de maturação, 24% gônadas em maturação e 53,5% gônadas em maturação avançada (coloração laranja e verde).

Devido ao baixo número de fêmeas ovígeras capturadas (17), a maturidade sexual das fêmeas de *P. defossus* foi estimada através da análise da menor fêmea com gônada madura. A menor fêmea com ovário com coloração laranja mediu 20,23mm e com coloração verde mediu 21,35mm. Considerando que a menor fêmea ovígera captura mediu 22,63mm, é possível supor que a maturidade sexual das fêmeas ocorra a partir de 20mm de comprimento, o que corresponde a aproximadamente um ano de idade.

## DISCUSSÃO

*Parastacus defossus* tem como peculiaridade seu modo de vida, que se passa totalmente no interior de suas habitações subterrâneas. Esta espécie constrói sistemas de galerias que ligam a superfície até o nível do lençol freático e no interior das galerias não são encontrados mais de dois indivíduos adultos (NORO & BUCKUP submetido). Na estação reprodutiva, é possível encontrar os juvenis juntamente com os adultos no mesmo sistema de galerias. O período de recrutamento é bem definido ocorrendo somente no fim da primavera (dezembro), semelhante ao que ocorre com *P. brasiliensis* que, segundo FONTOURA & BUCKUP (1989a), entre novembro e fevereiro encontram-se juvenis recém eclodidos aderidos aos pleópodos da fêmea. Este período também foi verificado para a espécie australiana *Cherax quinquerinatus*, sendo que os autores capturaram juvenis em dezembro (BEATTY *et al.* 2005).

A proporção sexual de *P. defossus* (1:0,88)(macho:fêmea) é muito próxima do verificado por FONTOURA & BUCKUP (1989a,b) em *P. brasiliensis* (1:1). Em estudos com lagostins a proporção sexual de 1:1 tem sido verificada para diversas espécies (PRINS 1968, ABRAHAMSSON 1971, MOMOT 1967, PRICE & PAYNE 1984), entretanto, segundo os autores, esta proporção é alterada nos grupos etários maiores devido a maior mortalidade de fêmeas, que pode ter como causa o stress provocado pela postura e incubação dos ovos. A razão sexual nas classes de tamanho do comprimento de carapaça apresentou predomínio de machos nas classes de tamanho 26-28 mm e 28-30 mm, o que, conforme ADIYODI & ADIYODI (1970) esta predominância pode estar associada ao aumento das necessidades energéticas das fêmeas em função das necessidades reprodutivas, sendo que neste período seu crescimento somático permanece temporariamente inativo. Segundo Rudolph (2002), em uma população de *S. spinifrons*, foi verificada uma maior proporção de machos o que

poderia estar relacionado com a alta porcentagem de hermafroditas protândricos existentes nesta população. *P. defossus*, apesar de também apresentar um sistema sexual do tipo hermafrodita protândrico apresentou maior porcentagem de machos apenas nas classes de tamanho entre 26 e 30 mm de comprimento da carapaça, sendo que nesta população foram verificados apenas poucos indivíduos com gônada mista.

A presença de fêmeas ovígeras na população em estudo foi observada apenas em outubro e novembro de 2003 e em novembro e dezembro de 2004. Já um longo período reprodutivo foi relatado para *P. brasiliensis*, de setembro a janeiro (FONTOURA & BUCKUP 1989b) e para *Cherax quinquerinatus* que possui a maior proporção de fêmeas ovígeras em agosto, outubro e novembro (BEATTY *et al.* 2005). Para uma população de *Procambarus clarkii* de Portugal, a estação reprodutiva é longa, com vários picos de recrutamento ao longo do ano, porém em uma população na Lousiana, o recrutamento ocorre de agosto a novembro, com pico bem marcado em outubro, o que sugere que o ciclo reprodutivo da espécie parece mudar geograficamente, principalmente em função do ciclo hidrológico e da temperatura da água local (FIDALGO *et al.* 2001).

Obsevou-se que a maior porcentagem de indivíduos de *P. defossus* com gônadas maduras (coloração laranja e verde) encontrou-se no inverno e primavera enquanto no verão e outono observou-se grande número de animais com gônadas imaturas (coloração branca). Estes dados corroboram com o período de aparecimento das fêmeas ovígeras que ocorre no fim da primavera. Portanto, no inverno e primavera as gônadas se preparam para a estação reprodutiva, no fim da primavera encontram-se as fêmeas ovígeras e a partir do verão, há uma grande porcentagem de fêmeas com gônadas imaturas (coloração branca e amarela) que indica que os oocitos já tenham sido liberados dos ovários.

A maturidade sexual das fêmeas de *P. defossus* é atingida com aproximadamente 20mm de Cc (cerca de um ano de idade) (NORO & BUCKUP, submetido), valor inferior quando comparada a de *P. brasiliensis* que atinge maturidade sexual com cerca de 3 anos de vida, com comprimento da carapaça de 31,37mm. (FONTOURA & BUCKUP 1989b). Entretanto os autores registraram a menor fêmea ovígera com 26,5mm de comprimento. Em *Orconectes virilis* a reprodução inicia no segundo ano de vida (MOMOT 1967). Já em *Astacus astacus* e *Pacifastacus leniusculus* a maturação sexual de fêmeas ocorre aos 4 anos de idade (ABRAHAMSSON 1971, ABRAHAMSSON & GOLDMAN 1970). Já um comprimento semelhante ao de *P. defossus* para a maturidade sexual é obtido em *Cherax quinquerinatus* (18,8mm de Cc), sendo que a primeira desova ocorre no fim do segundo ano de vida (BEATTY *et al.* 2005).

Não foi possível determinar a fecundidade da espécie devido ao método de coleta utilizado (bombas de sucção em PVC), que causava danos nas fêmeas ovígeras capturadas, como a perda de ovos durante o processo de coleta ou posterior em laboratório. Porém, em outubro/03 foram coletadas duas fêmeas ovígeras com comprimento de 28,22mm e 30,32mm, que possuíam grande quantidade de ovos, 30 e 35 ovos, respectivamente, aderidos na região abdominal. Apesar dos dados sobre a fecundidade de *P. defossus* serem baseados apenas em dois exemplares é possível constatar que o número de ovos liberados por esta espécie é inferior ao de *P. brasiliensis*, que possui aproximadamente 46 ovos em fêmeas de 30mm, enquanto que na espécie em questão este número varia de 30 a 35 ovos. Na espécie australiana *Cherax quinquerinatus* os valores são muito superiores aos encontrados nas espécies de *Parastacus*, com uma média de 77,1 ovos (min:40, max: 147) para animais com comprimento cefalotorácico entre 27 a 46mm (BEATTY *et al.* 2005).

Tabela I. Comprimento mínimo, máximo e média da carapaça dos exemplares de *Parastacus defossus* amostrados no período de janeiro de 2003 a agosto de 2005.

	Comprimento da carapaça (mm)	
	Min-máx	média
Machos	18,26 - 32,42	21,89
Fêmeas	18,24 - 32,32	20,20
Fêmeas ovígeras	22,63 - 30,46	26,19
Juvenis	3,23 - 18,0	8,83
Animais com ootestículo	21,88 - 31,24	25,37

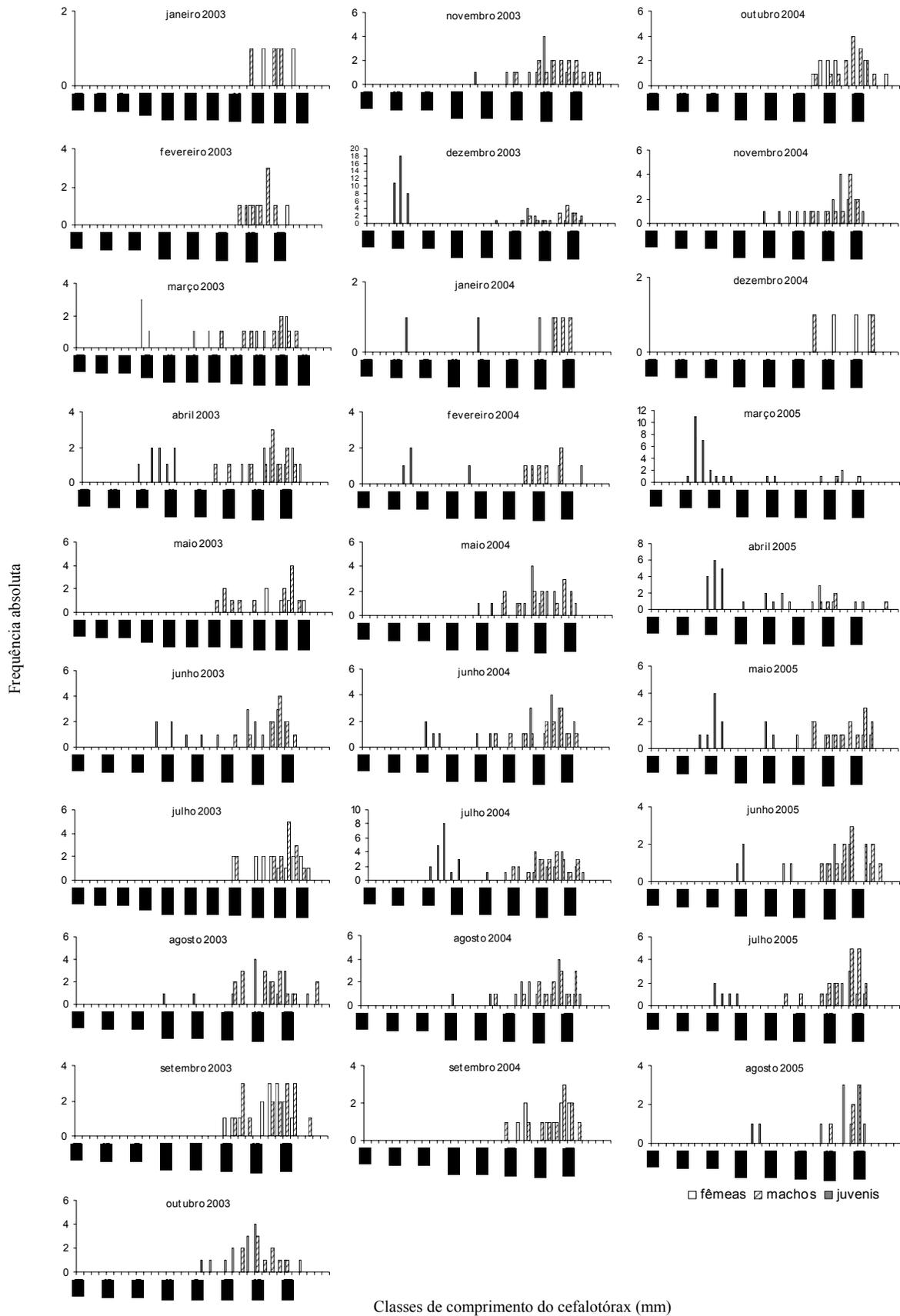


Figura 1. Distribuição de freqüência por classe de tamanho de machos, fêmeas e juvenis de *P. defossus*, coletados no período de janeiro/03 a agosto/05.

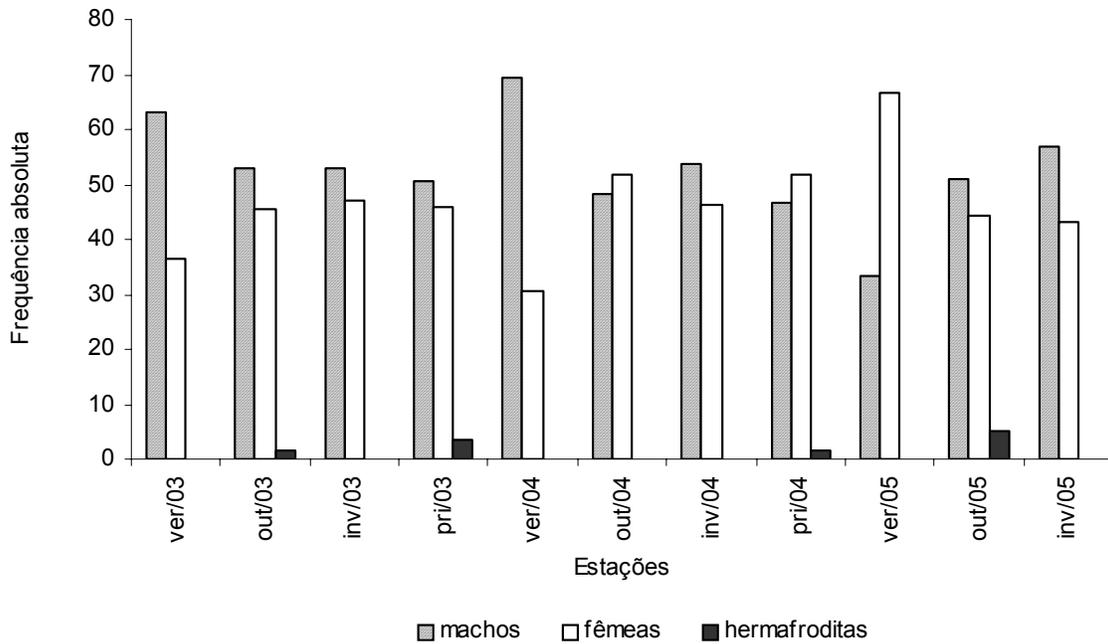


Figura 2: Frequência absoluta sazonal de ocorrência de machos, fêmeas, juvenis e hermafroditas de *P. defossus* no período de janeiro/03 a agosto/05.

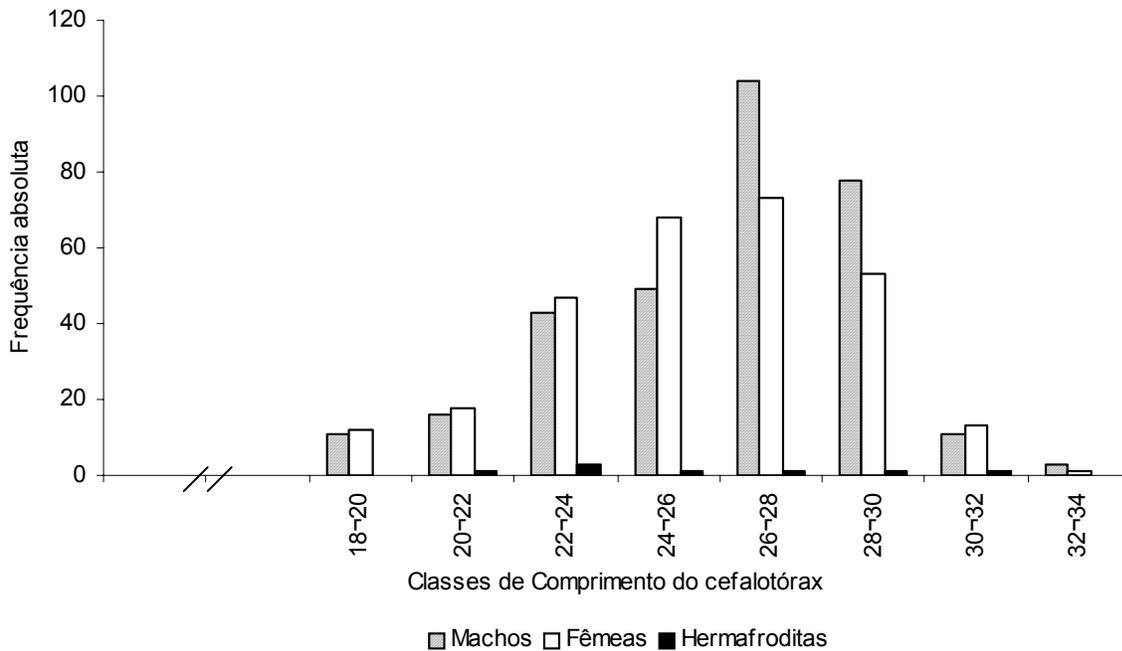


Figura 3. Frequência absoluta de machos, fêmeas e hermafroditas de *P. defossus* por classe de tamanho do cefalotórax, no período de janeiro/03 a agosto/05.

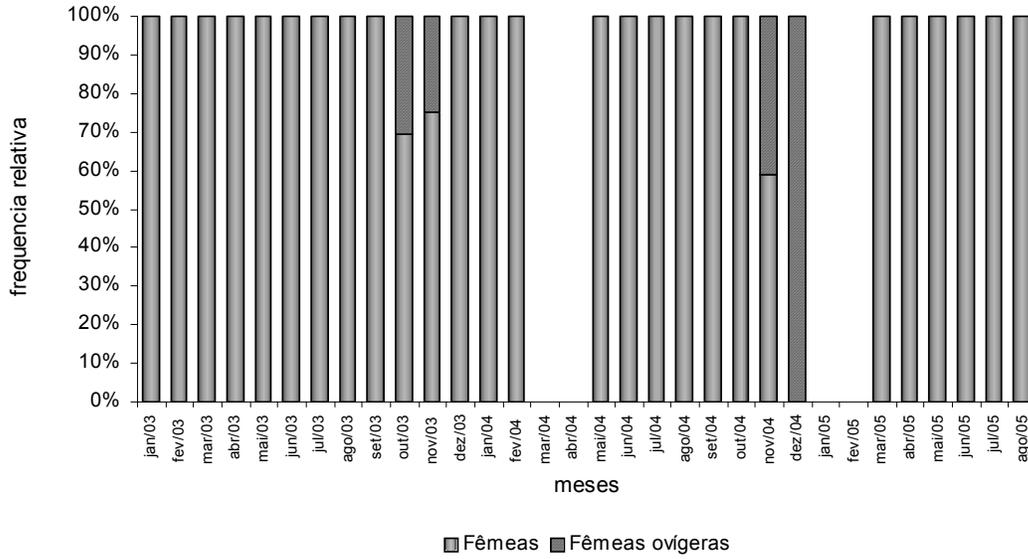


Figura 4. Frequência mensal de ocorrência de fêmeas não ovígeras e fêmeas ovígeras de *P. defossus* coletadas no período de janeiro/03 a agosto/05.

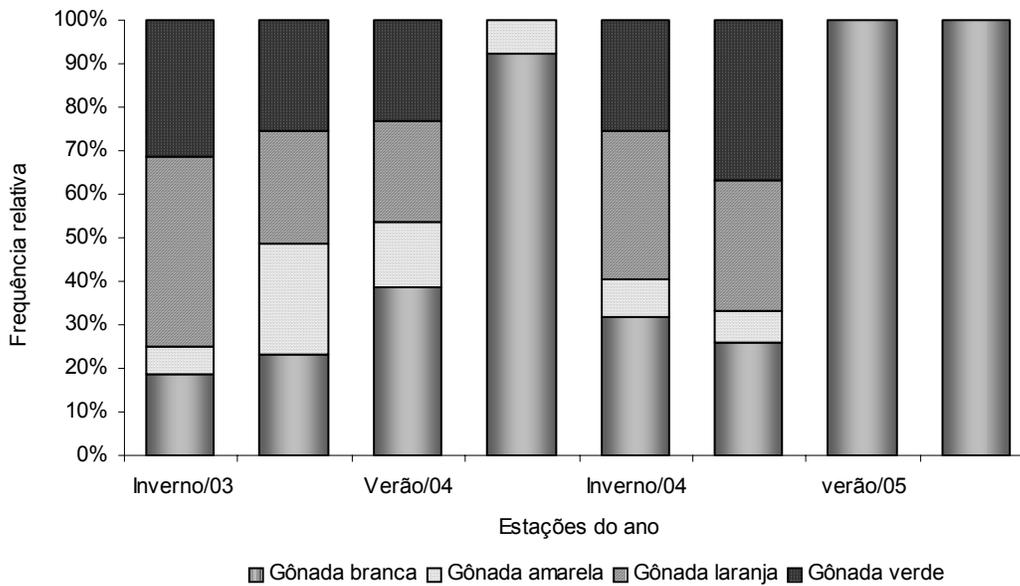


Figura 5. Frequência sazonal dos diferentes estágios de maturação gonadal de *P. defossus* no período de janeiro/03 a agosto/05.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAMSSOM, S. A. A. & C. R. GOLDMAN. 1970. Distribution, density and production of the crayfish *Pacifastacus leniusculus* Dana in Lake Tahoe, Califórnia – Nevada. **Oikos**, Copenhagen, **21**: 83-91.
- ABRAHAMSSOM, S. A. A. 1971. Density, growth and reproduction in populations of *Astacus astacus* and *Pacifastacus leniusculus* in an isolated pond. **Oikos**, Copenhagen, **22**: 373-380.
- ADIYODI, K. G. & R. G. ADIYODI. 1970. Endocrine control of reproduction in decapod Crustacea. **Biological Review** **45**: 121-165.
- ALMEIDA, A. O. & L. BUCKUP, 1999. Caracteres sexuais primários e secundários do lagostim *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (Crustacea, Parastacidae). **Nauplius**, Botucatu, **7**: 113-126.
- BEATTY, S. J.; D. L. MORGAN & S. HOWARD. 2005. Life History and reproductive biology of the gilgie, *Cherax quinquecarinatus*, a freshwater crayfish endemic to southwestern Australia. **Journal of Crustacean Biology**, Woods Hole, **25**(2):251-262.
- BUCKUP, L. & A. ROSSI. 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **40** (4): 663-681.
- BUCKUP, L. 1999. Família Parastacidae, p.319-327. In: L. Buckup & G. Bond-Buckup (Eds). **Os Crustáceos do Rio Grande do Sul**. UFRGS, Porto Alegre.
- FIDALGO, M. L.; A. P. CARVALHO & P. SANTOS. 2001. Population dynamics of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) from the aveiro region, Portugal (Decapoda, Cambaridae). **Crustaceana**, Leiden, **74**(4):369-375.

- FONTOURA, N. F. & L. BUCKUP. 1989a. O crescimento de *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **49** (4): 897-909.
- FONTOURA, N. F. & L. BUCKUP. 1989b. Dinâmica populacional e reprodução em *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **49** (4): 911-921.
- FRIES, B. G. 1984. Observações sobre o lagostim de água doce *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) em condições de cultivo experimental em laboratório (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **44** (4): 409-416.
- MANTELATTO, F. L. M., FRANZOZO, A. & M. L. NEGREIROS-FRANZOZO, 1995, Population structure of *Hepatus pudibundus* (Decapoda: Calappidae) in Fortaleza Bay, Brazil. **Revista de Biología Tropical**, San Jose, **43**(1-3), 265-270.
- MOMOT, W. T. 1967. Population dynamics and productivity of the crayfish *Orconectes virilis*, in a marl lake. **American Midland naturalist**, Notre Dame, **78**(1): 55-81.
- NEGREIROS-FRANZOZO, M. L., MANTELATTO, F. L. M. & A. FRANZOZO, 1999, Population biology of *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Portunidae) from Ubatuba (SP), Brazil. **Scientia Marina**, Barcelona, **63**(2), 157-163.
- NORO, C. K. & L. BUCKUP. The burrows of *Parastacus defossus* (Decapoda, Parastacidae) a fossorial freshwater crayfish from south Brazil. Submetido a **Journal of Crustacean Biology**.
- NORO, C. K.; L. S. LÓPEZ-GREGO & L. BUCKUP. Gonad morphology and type of sexuality in *Parastacus defossus* Faxon 1898, a burrowing, intersexed crayfish from southern Brazil (Decapoda: Parastacidae). **Submetido a Acta Zoologica**.

- PRICE, J. O. & J. F. PAYNE. 1984. Size, age and population dynamics in an r-selected population of *Orconectes neglectus chaenodactylus* Williams (Decapoda, Cambaridae). **Crustaceana**, Leiden, **46**(1): 29-38.
- PRINS, R. 1968. Comparative ecology of the crayfish *Orconectes rusticus* and *Cambarus tenebrosus* in Doe Run, Meade County, Kentucky. **Int. Revue ges. Hydrobiol**, **53**(5): 667-714.
- SANTOS, S., NEGREIROS-FRANZOZO, M. L. & A. FRANZOZO. 1995. Estructura poblacional de *Portunus spinimanus* Latreille, 1819 (Crustacea, Brachyura, Portunidae) en la Enseada de la Fortaleza, Ubatuba (SP). **Revista de Investigaciones Marinas**, Valparaiso, **16**(1-3), 37-43.
- ZOLESSI, L. C. & M. E. PHILIPPI. 1995. Lista sistematica de Decapoda del Uruguay (Arthropoda: Crustacea). **Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo**, Montevideo, **12**: 1-24.

## CAPÍTULO 8

**A dieta do lagostin de água doce *Parastacus defossus* Faxon 1898 (Crustacea,  
Decapoda, Parastacidae)**

Noro, C. K.<sup>1</sup> & Buckup, L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Brasil.  
[clarissanoro@hotmail.com](mailto:clarissanoro@hotmail.com)

**Artigo a ser submetido**

**ABSTRACT.** The aim of this investigation was to describe the food items found in the stomach of *Parastacus defossus*, a fossorial freshwater crayfish from South Brazil and Uruguay. The sampling was made monthly from March/2003 to November/2004 at Lami, Porto Alegre municipality. Ten adult animals were collected monthly with a partial-vacuum pump. Analysis of the stomach content was made by an estimate of the Degree of Fullness (following WILLIAMS 1981), the Frequency of Occurrence and the Point method (following WILLIAMS 1981, WEAR & HADDON 1981, HAEFNER 1990, BRANCO & VERANI 1997 and BUENO E BOND-BUCKUP 2004). 175 stomachs of *P. defossus* were analysed: 3 (1.71%) were empty; 23 (13.14%) partially empty; 35 (20%) empty to medium filled, 33 (18.86%) medium, 61 (34.86%) medium to full and 20 (11.43%) were completely full with content. *Parastacus defossus* is an omnivorous species and the main item found in the stomachs were fragments of vegetal origin, with not identifiable pieces of vegetal origin and root and stem fragments being the most abundant. Material of animal origin was not frequent in the stomachs. During the summer the animal material was present in 6,09% of the examined stomachs; autumn (0.63%), winter (1.21%) and spring (1.42%) showed the lowest values. Items with animal origin, like Acari, Diptera Chironomidae larvae, Copepoda, Nematoda and Oligochaeta, may be swallowed only unintentionally by the crayfish. However, the presence of arthropods like ants and janirid isopods in the stomachs, may lead to the understanding that the crayfish really catch this kind of prey.

## INTRODUÇÃO

Os lagostins de água doce da infraordem Astacidea estão atualmente compreendidos em três famílias, Astacidae, Cambaridae e Parastacidae e 29 gêneros (BUCKUP 1999; TAYLOR 2002). As famílias Astacidae e Cambaridae compreendem os "lagostins" do hemisfério norte e a família Parastacidae Huxley, 1879 reúne os "lagostins" do hemisfério sul com 14 gêneros e 129 espécies, distribuídos pela Austrália, Tasmânia, Nova Zelândia, Madagascar e América do Sul (BUCKUP 1999; TAYLOR 2002).

*Parastacus defossus*, objeto da presente investigação sobre seus hábitos alimentares, é uma espécie fossorial, que constrói suas habitações subterrâneas em forma de galerias ramificadas e interligadas em terrenos baixos e alagadiços, de ocorrência registrada apenas no Brasil (Rio Grande do Sul) (BUCKUP E ROSSI 1980) e no Uruguai (ZOLESSI & PHILIPPI 1995).

Estudos sobre os hábitos alimentares de lagostins mostram que estes animais são politróficos ou omnívoros oportunistas, sendo ao mesmo tempo herbívoros, onívoros e detritívoros, sendo que a dieta consiste principalmente de detritos de origem vegetal (HOGGER 1988, GOODARD 1988, GUAN & WILLES 1998, PARKYN *et al.* 2001, HOLLOWS *et al.* 2002). Embora oportunistas, mostram preferências por certos tipos alimentares e variam sua alimentação de acordo com a idade, estação do ano e estado fisiológico (GODDARD 1988). A estrutura das peças bucais e a habilidade para apreender itens alimentares com os pereiópodos capacita os lagostins a consumir uma grande variedade de itens alimentares (NYSTRON 2002). Os itens mais comuns citados na dieta dos lagostins são detritos, algas e macrófitas e entre os itens animais, invertebrados, moluscos, larvas de insetos aquáticos, vermes, pequenos crustáceos, girinos de anfíbios, peixes e ovos de peixes, sendo que o

canibalismo é um aspecto importante na dieta destes animais (ABRAHAMSSON 1966, GODDARD 1988, GHERARDI 2002, HOLLOWES *et al.* 2002, NYSTRON 2002).

Com relação às espécies de Parastacidae sul americanas, não existem dados sobre a dieta. Apenas um registro de AMESTOY-ROSSO (1983) informa sobre o conteúdo gástrico de espécies de *P. defossus* do Uruguai, demonstrando o predomínio de fibras vegetais, sem evidências de alimento de origem animal.

## MATERIAL E MÉTODOS

Entre março/2003 a novembro/2004 foram coletados, uma vez por mês, dez exemplares adultos de *P. defossus* na região do Lami, município de Porto Alegre. Devido ao seu modo de vida fossorial, para a coleta dos exemplares utilizou-se de uma bomba de sucção em PVC.

Após a captura, os exemplares foram acondicionados individualmente em sacos plásticos e mantidos sob refrigeração para reduzir o processo de digestão até o momento da dissecação. Em laboratório os animais foram medidos (comprimento carapaça) com um paquímetro digital de precisão 0,001mm, pesados e então dissecados para a remoção do estômago.

O Grau de Repleção (GR) dos estômagos foi determinado visualmente de acordo com a quantidade de alimento presente, em escala de seis classes (segundo WILLIAMS 1981): Classe 1 = 0% (vazio); Classe 2 = <5% (parcialmente vazio); Classe 3 = 5-35% (vazio/médio); Classe 4 = 35-65% (médio); Classe 5 = 65-95% (médio/cheio); Classe 6 = >95% (cheio).

O Grau Médio de Repleção (GR) foi calculado conforme SANTOS (1978):  $GR = (\sum i \cdot fa) / \sum fa$ , onde:  $i$  = grau de repleção quantificado;  $fa$  = frequência absoluta do grau  $i$  de repleção.

Para a análise quantitativa dos itens alimentares foram utilizados o método de frequência de ocorrência e o método dos pontos (segundo WILLIAMS 1981, WEAR & HADDON 1981, HAEFNER 1990, BRANCO & VERANI 1997 e BUENO E BOND-BUCKUP 2004). O estômago foi seccionado longitudinalmente, seu conteúdo removido, colocado sobre uma placa de Petri e analisado sob esteromicroscópio. A contribuição relativa de cada item, no volume total de alimento em um determinado estômago, foi determinado com auxílio de um papel milimetrado colocado sob a placa de Petri, conforme adotado por HOLLOWES *et al.* (2002). A porcentagem do volume total do estômago de cada categoria alimentar foi então determinada pelo método dos pontos (BRANCO & VERANI 1997) que é determinado em uma escala de pontos com 5 graus: 1. <5% = 2,5 pontos; 2. 5-35% = 25 pontos; 3. 35-65% = 50 pontos; 4. 65-95% = 75 pontos; 5. >95% = 100 pontos.

O número de pontos que cada item alimentar recebeu foi atribuído conforme o grau de repleção, que consistiu na multiplicação do número de pontos pelo valor do grau de repleção de estômago, de acordo com a classe: Classe 1 = 0,02; Classe 2 = 0,25; Classe 3 = 0,50; Classe 4 = 0,75; Classe 5 = 1,00.

O método de Frequência de Ocorrência (WILLIAMS 1981; WEAR & HADDON 1987; HAEFNER 1990) é descrito pela equação:  $FO = b_i / N \cdot 100$ , onde:  $b_i$  = número de estômagos que contem o ítem  $i$ ;  $N$  = número de exemplares amostrados;

A percentagem total de pontos para um item foi expressada pela fórmula (WILLIAMS 1981):  $\sum_{j=1}^n (a_{ij} / A) \cdot 100$ , onde  $A$  = número total de pontos para todos os itens;  $n$  = número

total de estômagos examinados;  $a_{ij}$  = número de pontos por item presa  $i$  encontrado nos estômagos dos exemplares examinados.

A análise quantitativa dos itens alimentares foi baseada em categorias tróficas (grandes grupos taxonômicos) considerando-se sua frequência de ocorrência e dos pontos (volume relativo).

## RESULTADOS

Durante o período amostral, foram analisados 175 estômagos de *P. defossus*. Destes, 3 (1,71%) estavam vazios, 23 (13,14%) parcialmente vazios, 35 (20%) de vazio a médio, 33 (18,86%) médios, 61 (34,86%) de médio a cheio e 20 (11,43%) completamente cheios (Tabela I).

Na análise do grau de repleção na comparação entre os sexos, não foram observadas diferenças significativas pelo teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) com nível de significância de 5%, e por isso optou-se por agrupar os dados de grau de repleção de machos e fêmeas para a análise.

Na investigação sazonal do grau de repleção, observam-se que animais com grau de repleção 1 foram os menos frequentes ao longo do ano. No outono ocorreram os maiores valores no grau de repleção 3 e 4(médio), e no inverno os maiores valores no grau de repleção 5 e 6 (cheio), seguido da primavera e outono.

Na análise do conteúdo estomacal foram identificados oito (8) itens alimentares: material lenhoso, restos de raízes e caules, sementes, fragmentos de folhas verdes de gramíneas, algas filamentosas, fragmentos vegetais não identificados, matéria animal e matéria não identificada. Entre os itens de matéria de origem animal foram encontrados partes de Arthropoda como cabeças, mandíbulas e patas e animais não fragmentados, como

formigas, ácaros, larvas de Diptera Chironomidae, Isopoda Janiridae, Copepoda, Nematoda e Oligochaeta.

Matéria não identificada foi o item mais presente por volume nos estômagos, valores variaram de 43,20% a 57,24%. A matéria de origem vegetal não identificado foi o segundo item predominante nos estômagos, representando o maior volume dos estômagos no inverno (28,04%), seguido de fragmentos de raízes e caules, que ocuparam 22,3% do volumes dos estômagos no inverno.

A matéria de origem animal esteve pouco presente no conteúdo estomacal de *P. defossus*. O verão foi a estação onde a matéria de origem animal esteve mais presente com 6,09%; já no outono (0,63%), inverno (1,21%) e primavera (1,42%) os valores foram baixos.

A análise do método dos pontos e de frequência de ocorrência dos diferentes itens alimentes está representado na Tabela II.

## DISCUSSÃO

A dieta de *P. defossus* consiste principalmente de matéria não identificada e matéria de origem vegetal, sendo que a matéria de origem animal esteve pouco presente no conteúdo estomacal. Pode-se verificar que a maioria dos estômagos analisados (34,86%) encontrava-se com alguma quantidade de alimento no seu interior. O fato dos estômagos apresentarem-se sempre cheios deve-se a digestibilidade destas fontes vegetais, sendo que algumas plantas são ricas em fibras o que torna o processo de digestão lento (BROWN *et al.* 1990; NYSTROM, 2002).

A identificação dos itens alimentares encontrados nos estômagos de *P. defossus*, como nos demais lagostins, é dificultada pela intensa fragmentação dos materiais,

resultante da ação trituradora do moinho gástrico. Além disso, as diferentes taxas de digestão do material ingerido fazem com que as estimativas dos itens alimentares sejam baseadas em itens alimentares que são menos digeríveis, como detritos e macrófitas, enquanto que organismos de tecido mole ficam subestimados por serem assimilados mais rapidamente (HYSLOP 1980, MOMOT 1995).

Segundo GILLER & MALQVIST (1998), detritos de plantas são uma das principais fontes de energia e proteína para vários membros da comunidade de riachos, possuindo o maior conteúdo de carbono e nitrogênio. Ainda segundo os autores, o detrito, composto de matéria em decomposição e os microorganismos associados (como bactérias, fungos, algas e protozoários), é uma importante fonte alimentar para os lagostins, apesar de seu valor nutricional ser derivado dos microorganismos envolvidos no processo de decomposição. Segundo MOMOT *et al.* (1978) os detritos fazem parte de 13,2 a 21,6% do peso do total de alimento consumido pelos lagostins em ambiente natural.

Segundo GODDARD (1988), as proteínas, encontradas no plâncton e em macroinvertebrados, são essenciais na dieta de animais como fonte de aminoácidos. Estes aminoácidos devem ser metabolizados em novas proteínas para promover o crescimento ou usadas como fonte de energia. Desta maneira, percebendo-se a importância da matéria animal da dieta dos lagostins, é possível que a quantidade de matéria animal consumida por *P. defossus* tenha ficado subestimada.

Dados sobre a dieta de espécies de *Parastacus* são inexistentes. Sobre *P. defossus* existe apenas uma citação de 1983 de AMESTOY-ROSSO que relata o predomínio de fibras vegetais, sem evidências de alimento de origem animal de uma população do Uruguai.

Trabalhos sobre a dieta existem para diversas espécies de parastacídeos australianos e para espécies de Cambaridae e Astacidae. Assim como em *P. defossus*, maior proporção

de detritos nos estômagos foram observados em diversas espécies: Em *Parastacoides tasmanicus* a matéria animal foi pouco significativa e o item mais freqüente foram os detritos, sendo que deste, 50% são de material vegetal não identificado (GROWNS & RICHARDSON 1988). Em *Pacifastacus leniusculus* os itens mais freqüentes foram detritos, algas verdes filamentosas, fragmentos de lagostins, Chironomidae e Ephemeroptera, revelando ainda, a existência de uma dieta relacionada com a estação do ano e com o tamanho dos animais. Os lagostins adultos consomem mais detritos enquanto que os juvenis mostraram preferência por coleóptera (GUAN & WILES 1998). Em *Paranephrops planifrons*, espécies que habitam florestas mostram o predomínio de detritos de folhas (mais de 60%) enquanto que nas espécies que vivem córregos em regiões de pastagem, invertebrados aquáticos constituíram 40% do volume dos estômagos e menos de 30% foram detritos de folhas. A análise de isótopos estáveis revelou que em ambos ambientes os lagostins incorporam energia de invertebrados aquáticos (PARKYN *et al.* 2001). Em *Paranephrops zealandicus* os detritos terrestres foram o item que ocupou maior volume nos estômagos, sendo que foram encontrados em maior quantidade no período do outono e inverno. Os invertebrados aquáticos representaram a segunda categoria alimentar mais abundante, predominando ninfas de Ephemeroptera, larvas de Chironomidae e Molusca (HOLLOWS *et al.* 2002). Através da análise de isótopos estáveis, os autores verificaram uma grande importância dos invertebrados na dieta desses animais, em termos de assimilação e incorporação da biomassa dos lagostins.

Apesar do canibalismo ser um aspecto importante na dieta dos lagostins, em *P. defossus* não foram observados tais itens no estômagos, o mesmo foi verificado por WHITMORE (1997) e por HOLLOWS *et al.* (2002) em *Paranephrops zealandicus*,

WHITLEDGE (1996) em *Orconectes luteus* e GROWNS & RICHARDSON (1998) em *Parastacoides tasmanicus tasmanicus*.

A baixa proporção de itens animais na dieta de *P. defossus* contrasta com o que é conhecido para espécies de lagostins que habitam lagos e córregos (MOMOT *et al.* 1978, MOMOT 1995). Observações em espécies escavadoras (SUTER & RICHARDSON 1977, PARKYN *et al.* 2001, HOLLOWS *et al.* 2002) sugerem que a baixa proporção de itens animais deve ser uma característica comum das espécies escavadoras e reflete sua baixa disponibilidade nas galerias.

Larvas de Diptera Chironomidae estão entre os invertebrados aquáticos mais comuns consumidos pelos lagostins (WHITMORE 1997, GUAN & WILES, 1998, HOLLOWS *et al.* 2002), o que se confirmou no presente estudo onde tais larvas compreenderam parte da dieta de *P. defossus*. Tal fato pode ser devido à grande abundância das larvas de Diptera Chironomidae no ambiente e também por sua natureza sedentária, que os deixa mais suscetíveis a predação (LODGE & HILL 1994). Na análise da fauna presente na água das galerias de *P. defossus*, foi verificada que larvas de Chironomidae representaram 0,47% do total de indivíduos encontrados (NORO & BUCKUP submetido). Gastropodos também foram reportados em grande número nos estômagos de lagostins (ver COVICH 1977, LODGE & HILL 1994, HOLLOWS *et al.* 2002), porém não foram verificados no conteúdo estomacal de *P. defossus*.

A presença de itens animais nos estômagos de *P. defossus* como ácaros, larvas de Diptera Chironomidae, Copepoda, Nematoda e Oligochaeta, fazem supor que tais itens seriam ingeridos apenas acidentalmente pelo lagostim, devido seu tamanho diminuto que impossibilita a apreensão intencional e conseqüente ingestão de tais itens. Já a presença de partes de artrópodos, formigas e isópodos janirídeos, supõem uma atividade do lagostim em

busca de tais presas. Em animais cultivados em laboratório, no presente estudo, foi observada uma boa aceitação dos lagostins por itens animais, como restos de peixe, além de itens de origem vegetal, como arroz cozido e plantas aquáticas, o que confirma a tendência omnívora destes animais.

Tabela I. Grau de repleção dos estômagos de *Parastacus defossus* analisados entre março/2003 a novembro/2004.

Grau de repleção	% de estômagos
Classe 1 = 0% (vazio)	1,71
Classe 2 = <5% (parcialmente vazio)	13,14
Classe 3 = 5-35% (vazio/médio)	20,0
Classe 4 = 35-65% (médio)	18,86
Classe 5 = 65-95% (médio/cheio)	34,86
Classe 6 = >95% (cheio)	11,43

Tabela II. Frequência absoluta e relativa do Método dos Pontos (MP) e Frequência de Ocorrência (FO) dos itens alimentares verificados nos estômagos de *Parastacus defossus* no verão e no outono.

Itens alimentares	Verão			Outono		
	MP	%	FO	MP	%	FO
Material lenhoso	55,88	5,19	56,25	99,31	3,69	105,85
Restos de raízes e caules	197,63	18,35	175,00	583,06	21,67	192,15
Sementes	7,51	0,70	31,25	17,59	0,65	51,08
Fragmentos vegetais não identificados	132,76	12,33	112,50	581,13	21,60	129,54
Fragmentos de folhas verdes de gramínea	0,50	0,05	6,25	29,38	1,09	4,00
Algas verdes filamentosas	0,63	0,06	6,25	0,00	0,00	4,00
Matéria de origem animal	65,64	6,09	75,00	16,87	0,63	31,54
Matéria não identificada	616,60	57,24	193,75	1363,0	50,66	200,00

Tabela III. Frequência absoluta e relativa do Método dos Pontos (MP) e Frequência de Ocorrência (FO) dos itens alimentares verificados nos estômagos de *Parastacus defossus* no inverno e na primavera.

Itens alimentares	Inverno			Primavera		
	MP	%	FO	MP	%	FO
Material lenhoso	173,15	4,79	144,23	171,76	5,92	105,13
Restos de raízes e caules	806,25	22,30	200,00	516,88	17,82	135,26
Sementes	16,27	0,45	32,69	10,45	0,36	43,59
Fragmentos vegetais não identificados	1013,6	28,04	167,95	697,52	24,05	155,45
Fragmentos de folhas verdes de gramínea	0,00	0,00	0,00	2,51	0,09	0,00
Algas verdes filamentosas	0,00	0,00	0,00	2,51	0,09	8,33
Matéria de origem animal	43,76	1,21	36,22	41,33	1,42	51,29
Matéria não identificada	1561,6	43,20	196,15	1457,5	50,25	180,13

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAHAMSSON, S. A. A. 1966. Dynamics of an isolated population of the crayfish *Astacus astacus* Linne. **Oikos**, Copenhagen, **17**: 96-107.
- AMESTOY-ROSSO, F. 1983. Algunos Aspectos sobre la Biología de *Parastacus defossus* (Crustacea, Parastacidae). **Resúmenes e Comunicaciones de las Jornadas de ciencias naturales**, Montevideo, **3**: 55-56.
- BRANCO, J. O. & J. R. VERANI. 1997. Dinâmica da alimentação natural de *Callinectes danae* Smith, 1869 (Decapoda, Portunidae) na Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **14**(4): 1003-1018.
- BROWN, P. B.; P.TAZIK, M. L.HOOE & W. G. BLYTHE. 1990. Consumption and apparent dry matter digestibility of aquatic macrophytes by male and female crayfish (*Orconectes virilis*). **Aquaculture**, Amsterdam, **89**: 55-64.
- BUCKUP, L. & A. ROSSI. 1980. O gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **40** (4): 663-681.
- BUCKUP, L. 1999. Família Parastacidae, p.319-327. *In*: L. BUCKUP & G. BOND-BUCKUP (Eds). **Os Crustáceos do Rio Grande do Sul**. Editora da Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 502p.
- BUENO, A. A. P. & G. BOND-BUCKUP. 2004. Natural diet of *Aegla platensis* Schimitt and *Aegla ligulata* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Decapoda, Aeglidae) from Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Botucatu, **16** (2):115-127.
- GHERARDI, F. 2002. Behaviour. p. 258-290. *In*: D. M. Holdich (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, XVII + 702p.

- GILLER, P. S. & B. MALMQVIST. 1998. **The Biology of Streams and Rivers**. Oxford University Press, Oxford.
- GOODARD, J. S. 1988. Food and feeding, p. 145-166. *In*: D. M HOLDICH & R. S. LOWERY (Eds). **Freshwater crayfish: Biology, management and exploitation**. Portland, Timber Press, 498p.
- GROWNS, I. O. & A. M. M. RICHARDSON. 1988. Diet and burrowing habits of the freshwater crayfish *Parastacoides tasmanicus tasmanicus* Clarck (Decapoda: Parastacidae). **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, Melbourne, **39**: 525-34
- GUAN, R. & R. P. WILES. 1998. Feeding ecology of the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* in a British lowland river. **Aquaculture**, Amsterdam, **169**: 177-193.
- HAEFNER JR, P. A. 1990. Natural diet of *Callinectes ornatus* (Brachyura: Portunidae) in Bermuda. **Journal of Crustacean Biology**, Woods Hole, **10**(2): 236-246.
- HOGGER, J. B. 1988. Ecology, population biology and behaviour, p.114-144. *In*: D. M HOLDICH & R. S. LOWERY (Eds). **Freshwater crayfish: Biology, management and exploitation**. Portland, Timber Press, 498p.
- HOLLOWS, J. W.; C. R. TOWNSEND & K. J. COLLIER. 2002. Diet of the crayfish *Paranephrops zealandicus* in bush and pasture streams: insights from stable isotopes and stomach analysis. **New Zealand Journal of Marine and freshwater Research**, Wellington, **36**: 129-142.
- HYSLOP, E. J. 1980. Stomach content analysis – a review of methods and their application. **Journal of Fish Biology** **17**: 411-429.
- KAWAKAMI, E. & G. VAZZOLER. 1980. Método gráfico e estimativa de índice alimentar aplicado no estudo de alimentação de peixes. **Boletim do Instituto Oceanografico** **29**(2): 205-207.

- MOMOT W. T., H. GOWING & P. D. JONES. 1978. The dynamics of crayfish and their role in ecosystems. **The American Midland naturalist**, Notre Dame, **99**: 10-35.
- MOMOT, W. T. 1995. Redefining the role of crayfish in aquatic ecosystems. **Reviews in Fisheries Science**, Philadelphia, **3**: 33-63.
- NORO, C. K. & L. BUCKUP. The faunal assemblage found in the burrow water of the South American crayfish *Parastacus defossus* Faxon 1898 (Decapoda, Parastacidae).  
Submetido.
- NYSTRÖM, P. 2002. Ecology. p. 192-235. *In*: D. M. HOLDICH (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. Blackwell Science Ltd, United Kingdon. XVII + 702p.
- PARKYN, S. M., K. J. COLLIER & B. J. HICKSI. 2001. New Zealand stream crayfish: functional omnivores but trophic predators?. **Freshwater Biology** **46**:641-652.
- SUTER P. J. & A. M. M. RICHARDSON. 1977. The biology of two species of *Engaeus* (Decapoda: Parastacidae) in Tasmania III. Habitat, Food, Associated Fauna and Distribution. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research** **28**: 95-103.
- TAYLOR, C. A. 2002. Taxonomy and Conservation of Native Crayfish Stocks. p. 236-257. *In*: D. M. HOLDICH (Ed). **Biology of Freshwater Crayfish**. London, Blackwell Science Ltd, XVII + 702p.
- WEAR, R. G. & HADDON, M. 1987. Natural diet of the crab *Ovalipes catharus* (Crustacea, Portunidae) around Central and Northen New Zeland. **Marine Ecology – Progress Series**, **35**: 39-49.
- WILLIAMS, M. J. 1981. Methods for analysis of natural diet in portunid crabs (Crustacea: Decapoda: Portunididae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** **52**: 103-113.

ZOLESSI, L. C. & M. E. PHILIPPI. 1995. Lista sistemática de Decapoda del Uruguay

(Arthropoda: Crustacea). **Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural**

**de Montevideo**, Montevideo, **12**: 1-24.

## CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados encontrados pela presente investigação demonstram que *Parastacus defossus* é uma espécie fossorial que passa a totalidade de sua existência, tanto na vida adulta como na fase juvenil, no interior das galerias subterrâneas que constrói e no interior das quais se reproduz e obtém o alimento de que necessita. Mostra-se altamente adaptada a um ambiente com escassa disponibilidade de oxigênio, possuindo adaptações funcionais para viver em ambiente de hipóxia.

Confirmou-se, que em *P.defossus*, como já se constatou em outras espécies do gênero, também ocorre o hermafroditismo protândrico parcial, o que confere à esta espécie, à luz das hipóteses levantadas sobre as vantagens adaptativas do hermafroditismo, uma capacidade adicional em sua vida permanentemente isolada no interior de habitações subterrâneas.

Vivendo em contato permanente com a água do lençol freático, que vem sofrendo, como tem sido divulgado, crescentes alterações por contaminantes de várias origens, pode-se compreender que se trata de uma espécie efetivamente ameaçada em sua sobrevivência, merecendo especial atenção dos programas de conservação da diversidade animal.

O caráter politrófico oportunista de *P. defossus* confere-lhe uma especial vantagem na exploração de um amplo leque de recursos alimentares, disponíveis no espaço vital que ocupa.

Os resultados gerais da investigação aqui realizada permitem ainda, que se conclua que os hábitos e as características morfo-funcionais de *P.defossus*, embora revelem diversas peculiaridades, não se afastam muito das demais espécies de lagostins límnicos já

estudados da Austrália, da América do Norte e da Eurásia. Ou seja, os lagostins límnicos de todo mundo representam uma forma de vida relativamente homogênea, que se manteve estável ao longo dos processos evolutivos que marcaram a evolução nos continentes.

## APÊNDICES