



Carina Appel

Análise e descrição de estruturas temporárias presentes no período ovífero de isópodos terrestres (Crustacea, Oniscidea).

Dissertação de mestrado 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 Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Biologia comparada

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Paula Beatriz de Araujo

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PORTO ALEGRE
2011

Análise e descrição morfológica de estruturas temporárias presentes no período
ovígero de isópodos terrestres (Crustacea, Oniscidea).

Carina Appel

Dissertação de mestrado aprovada em _____ de _____ de _____.

Dr^a. Laura Greco Lopes

Dr^a. Suzana Bencke Amato

Dr^a. Carolina Coelho Sokolowicz

a Perfeição da Vida

*“Por que prender a vida
em conceitos e normas?...
...Tudo, afinal, são formas...”*

*“A resposta certa,
não importa nada:
o essencial
é que as perguntas
estejam certas.”*

Mário Quintana

Agradecimentos

Ao encerrar esta etapa gostaria de lembrar e agradecer as pessoas e instituições que de alguma forma contibuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

Assim, agradeço em primeiro lugar à minha orientadora, Prof^a. Paula, pela orientação, pelo incentivo, pelos ensinamentos compartilhados, pelo apoio nas horas difíceis, enfim por todo o carinho com que sempre me tratou. Obrigada do fundo do coração!

À Aline que me auxiliou muitas vezes, obrigada pela paciência e atenção!

Ao casal Buckup por toda a atenção, afeto, amizade, conselhos e conhecimentos compartilhados ao longo destes anos.

Aos meus colegas e amigos Bianca, Ivan e Kelly, obrigada por todo o apoio, amizade e companheirismo, a amizade de vocês é algo que pretendo cultivar.

Aos colegas de laboratório: Carol, Dai, Diego, Helena, Mariana e Silvana por todo o auxílio, pelas conversas e risadas. Obrigada!

Às “amigas lindas” (em ordem alfabética para não ter briga!): Diane, Lisandra, Márcia, Mari e Rosane por todo o incetivo que se sempre me deram, pelo apoio quando resolvi ingressar no mestrado precisando deixar a escola e conseqüentemente me afastando temporariamente do grupo. Amo vocês, amigas!

À Edna, Karine e Eliani, amigas de longa data (não vem ao caso quantas décadas né meninas?!), obrigada por fazerem parte da minha vida em todos os momentos (bons, ruins e péssimos!) e desculpem a correria, o pouco (ou nenhum) tempo.

Vocês são parte da minha história.

À Samantha, pela amizade dentro e fora da UFRGS. Obrigada por teres tornado meus dias e viagens mais divertidos!

Ao William e ao Baiano, por estarem sempre dispostos a coletar (mais um pouquinho...) sem se importarem com o calor ou uma quantidade “enorme” de mosquitos que nos devoravam. Obrigada William, por toda a alegria e entusiasmo que sempre fez parte da tua vida e conseqüentemente nos alcançou, tornando nossa vida mais divertida!

À Adri, por todo o companheirismo e amizade. Obrigada por todo o auxílio, pelas longas conversas sempre regadas a muito café e outros (que não vem ao caso agora...).

Ao Néó e Fátima, pelas coletas de “tatuzinhos” sendo que de tanto coletar o Neo já aprendeu a identificar espécies.

À Leika pelo carinho, pela força, pela amizade sincera, estando sempre presente em nossas vidas nos momentos bons e ruins. Obrigada!

Ao Prof^o Perico e Prof^a Eliane, pela amizade e incentivo que sempre me deram.

À prof^a Nora Fortes, pelo apoio concedido durante o mês que antecedeu a realização das provas para o ingresso no mestrado. Seu auxílio foi fundamental para eu estar aqui hoje. Sou muito grata!

Ao meu tio e minha prima por estarem sempre dispostos a me ouvir (me aturar!) e aconselhar. Vocês moram no meu coração!

À minha vó, que presenciou todo o meu esforço e desejo de ingressar no mestrado mas, que infelizmente não poderá participar da conclusão dele, mas tenho certeza que ela estaria muito feliz com a minha felicidade e realização.

Obrigada vó, por tudo!

À minha mãe, pela compreensão, pelo carinho, pela paciência (comigo e com meus ‘bichos’), pelo apoio. Tu és peça fundamental na minha estrutura. És minha âncora, meu porto seguro.

Ao Dani, por todo o amor e compreensão. Pela parceria em todos os momentos, pela presença constante nas horas boas e ruins, pelas coletas realizadas. Obrigada, amor!

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal por todo o apoio fornecido no decorrer destes dois anos. Aos professores do curso pelos conhecimentos compartilhados e aos funcionários sempre tão solícitos.

À CAPES pela bolsa a mim concedida permitindo maior dedicação a pesquisa realizada e possibilitando a ampliação de meus conhecimentos.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Sumário

Agradecimentos.....	iv
Lista de figuras.....	viii
Lista de tabelas.....	x
Resumo.....	xi
Abstract.....	xiii
Prefácio.....	xv
Introdução.....	1
Objetivos.....	11
Material e Métodos.....	12
Material examinado.....	14
Referências bibliográficas.....	18
Figuras.....	24
Créditos das figuras.....	29
Capítulo I.....	30
Capítulo II.....	55
Capítulo III.....	75
Considerações finais.....	88
Anexos.....	90

Lista de Figuras

Introdução/Material e Métodos

Figura 1-3. Autapomorfias que caracterizam Peracarida.....	24
Figura 4-11. Adaptações, encontradas em isópodos terrestres.....	25
Figura 12-13. Marsúpio de isópodos terrestres.....	26
Figura 14-16. Estágios de desenvolvimento intramarsupial.....	27
Figura 17-22. Material e métodos utilizados.....	28

Capítulo I

Figura 1. Formato dos cotilédones em isópodos terrestres.....	47
Figura 2. Cotilédone de <i>Porcellio dilatatus</i> em diferentes estágios intramarsupiais.....	49
Figura 3. Crescimento dos cotilédones de <i>Porcellio dilatatus</i>	50
Figura 4. Arranjos dos cotilédones de isópodos terrestres.....	51
Figura 5. Arranjo de distribuição dos cotilédones mais comum em isópodos terrestres.....	52
Figura 6. Variação interespecífica e intraespecífica no número de cotilédones de isópodos terrestres.....	53
Figura 7. Variação nos cotilédones de Porcellionidae.....	54

Capítulo II.

Figura 1. Comprimento relativizado dos cotilédones em diferentes fases de desenvolvimento intramarsupial.....72

Figura 2. Cotilédones de *Porcellio scaber* durante diferentes estágios de desenvolvimento da prole.....73

Figura 3. Comprimento do cotilédone de *B. selowii* e *A. vulgare* em relação a largura do cefalotórax da fêmea.....74

Capítulo III.

Figura A-G. Marsúpio de isópodos terrestres.....86

Figura H-I. Ilustração do marsúpio de isópodos terrestres.....87

Lista de tabelas

Capítulo I

Tabela 1. Tamanho relativo, forma e padrão de distribuição dos cotilédones de isópodos terrestres.....	45
---	----

Capítulo II

Tabela 1. Comprimento dos cotilédones relativizados ao tamanho da fêmea.....	71
---	----

Capítulo III

Tabela 1. Formatos de marsúpio em isópodos terrestres.....	85
---	----

Resumo

A presença do marsúpio fechado possibilitou aos isópodos terrestres a total independência do meio aquático para a reprodução, permitindo aos mesmos a colonização de habitats terrestres variados. Em seu interior, a prole é nutrida e oxigenada através de estruturas temporárias, chamadas cotilédones, as quais surgem durante o período ovífero das fêmeas e são exclusivas do grupo Crinocheta. O presente estudo teve como objetivo descrever padrões dos cotilédones, analisados em 37 espécies de isópodos terrestres distribuídas entre as famílias: Agnaridae, Armadillidae, Armadillidiidae, Balloniscidae, Bathytropidae, Detonidae, Dubioniscidae, Philosciidae, Platyarthridae, Porcellionidae, Pudeoniscidae, Scleropactidae e Trachelipodidae, verificando se ocorre variação de comprimento ao longo das fases de desenvolvimento embrionário, sendo que para isto foram selecionadas seis espécies: *Armadillidium nasatum*, *A. vulgare*, *Atlantoscia floridana*, *Balloniscus sellowii*, *Benthana cairensis* e *Porcellio scaber*. *Armadillidium vulgare* e *B. sellowii* também foram estimados quanto à proporção comprimento dos cotilédones/ tamanho da fêmea. Entre as 13 famílias estudadas foram identificados seis formatos (tipos) de cotilédones e sete arranjos diferentes de número e distribuição. O comprimento foi estabelecido como: curto, médio e longo. *Armadillidium vulgare*, *A. floridana* e *B. cairensis* não apresentaram diferença no comprimento dos cotilédones durante os estágios embrionários sendo que este foi evidenciado para as demais espécies, uma vez que *B. sellowii* e *P. scaber* apresentaram aumento da fase de ovo para embrião, diminuindo na fase de manca. Já em *A. nasatum* ocorre um aumento gradual até a fase de manca, onde então regridem drasticamente. O comprimento dos cotilédones de *A. vulgare* e *B. sellowii* é proporcional ao tamanho da fêmea. Durante os estudos realizados outra novidade foi registrada: a presença de uma “extensão marsupial”. Para maiores informações sobre esta estrutura, foi necessário identificar quais espécies a apresentavam, o número de indivíduos abrigados em seu interior e diferenças na estrutura entre as espécies que portavam tal extensão e as que possuem o marsúpio fechado restrito aos cinco pares de oostegitos. Seis espécies apresentaram extensão marsupial, a qual possibilita o abrigo de aproximadamente $\frac{1}{4}$ do total da prole.

Este marsúpio não apresenta formato distendido como o encontrado nas demais espécies o que vem a influenciar diretamente a alimentação da fêmea, pois com o desenvolvimento da prole ocorrendo em direção aos órgãos desta, conforme avançam as fases, aumenta a pressão interna, comprimindo seu interior. As diferenças morfológicas registradas aqui representam estratégias reprodutivas adotadas pelas espécies, ao longo da evolução, podendo estar relacionadas (ou não) à filogenia dos grupos.

Palavras-chave: Isópodos terrestres, fêmeas ovígeras, cotilédones, marsúpio.

Abstract

The presence of the closed brood pouch made it possible for terrestrial isopods to have full independence of the aquatic environment for reproduction, allowing them to colonize varied terrestrial habitats. Inside, the offspring is nourished and oxygenated by temporary structures, called cotyledons, which emerge during the ovigerous period of females and are unique to the group Crinocheta. This study aims to describe patterns of cotyledons, analyzed in 37 species of terrestrial isopods distributed among the families: Agnaridae, Armadillidae, Armadillidiidae, Balloniscidae, Bathytropidae, Detonidae, Dubioniscidae, "Philoscidae" Platyarthridae, Porcellionidae, Pudeoniscidae, Scleropactidae and Trachelipodidae, checking if there is variation in length along the stages of embryonic development, and for this, six species were selected as models: *Armadillidium nasatum*, *A. vulgare*, *Atlantoscia floridana* *Balloniscus sellowii*, *Porcellio scaber* and *Benthana cairensis*. *Armadillidium vulgare* and *B. sellowii* were also estimated concerning the proportion of cotyledon length / female size. Among the 13 studied families six formats (types) of cotyledons were identified as well as seven different arrangements of numbers and distribution. The length was established as: short, medium and long. *Armadillidium vulgare*, *A. floridana* and *B. cairensis* showed no difference in the length of the cotyledons during the embryonic stages while this was evidenced for the other species, since *B. sellowii* and *P. scaber* showed increased egg stage to the embryo, decreasing during the manca. Nevertheless in *A. nasatum* a gradual increase until the phase of manca occurs, which then regresses dramatically. The length of the cotyledons of *A. vulgare* and *B. sellowii* is proportional to female size.

During the carried out studies another new feature was recorded: the presence of an " marsupial extension." For obtaining further information about this structure it was necessary to identify the species that presented it, the number of individuals housed within, and differences in structure between species that harbored such extension and the others which had the closed pouch restricted to five pairs of oostegits. Six species showed marsupial extension, which provides shelter for approximately a quarter of the total offspring. This brood pouch does not have a distended format as the one found in other species, which directly influences the feeding of the female, because due to the fact that the offspring development occurs towards its organs as the stages advance, internal pressure increases, compressing its interior. The morphological differences reported here represent reproductive strategies adopted by the species, through evolution and could be related (or not) to the phylogeny of the groups.

Keywords: Terrestrial isopods, ovigerous females, cotyledons, brood pouch.

Prefácio

Os cotilédones são estruturas extremamente especializadas na nutrição e oxigenação da prole em desenvolvimento em isópodos terrestres. Entretanto, apesar de sua grande importância e de terem sido descobertos há quase 200 anos atrás ainda se conhece pouco sobre os mesmos. Até o momento, apenas três estudos foram realizados enfatizando tais estruturas: Akahira (1956) e Hoese & Janssen, (1989) ambos sobre fisiologia, comprovando em seus estudos o envolvimento dos cotilédones na nutrição e oxigenação, e Lewis (1991) sobre a morfologia dos cotilédones de isópodos terrestres presentes na Austrália. Visto que a bibliografia é escassa, poucas comparações podem ser realizadas, possibilitando um leque de questões a serem exploradas. O presente estudo visa contribuir somando informações detalhadas às já existentes, assim como apresentando dados inéditos sobre o tema.

A dissertação apresenta primeiramente uma introdução sobre o assunto. Nela encontra-se uma revisão bibliográfica, onde algumas questões importantes estão melhor esclarecidas levando em consideração alguns tópicos não inclusos nos artigos científicos. Logo em seguida, em Material e Métodos, está descrita a forma como se procederam às análises comuns aos capítulos que seguem, como: coletas, a preparação dos animais, o cultivo (quando este foi necessário). Após, a dissertação em si vem disposta em três capítulos, sendo estes redigidos em forma de artigo respeitando as normas do periódico para o qual serão, em breve, submetidos.

O capítulo I trata especificamente sobre os padrões morfológicos (formato, comprimento e arranjo) dos cotilédones encontrados nas 37 espécies examinadas, diferenciando-os e descrevendo-os.

Este estudo serviu como embasamento para a realização dos demais estudos aqui apresentados.

O capítulo II aborda um assunto inédito, trazendo dados/informações sobre a regressão que ocorre nos cotilédones de algumas espécies de isópodos terrestres. Já o último capítulo descreve pela primeira vez a existência de uma “extensão marsupial” que ocorre em algumas espécies de isópodos terrestres. Essa extensão é uma concavidade interna, localizada sob o sexto e sétimo esternito. Para finalizar, em “Considerações finais”, são realizados comentários e conclusões dos resultados obtidos através deste estudo sendo também abordadas questões que ficaram pendentes as quais abrirão caminhos para futuros estudos.

Embora cada capítulo apresente o formato da revista para o qual será submetido, a dissertação está formatada conforme as normas da Zoologia, sendo que o site para a consulta das normas dos periódicos constam em “Anexos”.

INTRODUÇÃO

De acordo com MARTIN & DAVIS (2001) nenhum grupo de animais exibe tão grande diversidade morfológica e de habitats como a observada entre crustáceos. Esta diversidade tornou-se possível devido à grande irradiação de espécies, ocorrida nos oceanos durante o Cambriano (CHEN *et al.* 2001), sendo que nesses milhões de anos que se seguiram, a seleção natural possibilitou aos crustáceos o aperfeiçoamento de forma e função permitindo aos mesmos a colonização dos mais variados habitats (MARTIN & DAVIS 2001).

Dentre os crustáceos, a superordem Peracarida é caracterizada por três autapomorfias: presença de *lacinia mobilis* (adultos apresentam nas mandíbulas um processo articulado entre os molares e incisivos) (Fig.1), fêmeas apresentam marsúpio no período ovífero (Fig.2) e desenvolvimento direto de filhotes (RICHTER & SCHOLTZ 2001) (Fig.3). Ela está dividida em oito ordens (MARTIN & DAVIS 2001): Thermosbaenacea, Mictacea, Tanaidacea, Cumacea, Mysida, Spelaeogriphacea, Amphipoda e Isopoda, sendo que para as duas primeiras não existe registro no Brasil (YOUNG 1998).

Amphipoda e Isopoda abrigam, além de espécies aquáticas, espécies terrestres que independem do meio aquático para a reprodução sendo estas pertencentes as subordens Gammaridea e Oniscidea, respectivamente. Apesar de ambos os grupos possuírem representantes terrestres, a riqueza específica em Oniscidea é maior do que a encontrada em Gammaridea (ARAUJO 1999). Enquanto Oniscidea apresenta mais de 3.600 espécies descritas, distribuídas em 37 famílias com representantes semi-terrestres e terrestres (SCHMALFUSS 2003), Gammaridea

possui apenas 60 espécies terrestres conhecidas todas alocadas em Tallitridae, a qual abriga também representantes aquáticos (FRIEND & RICHARDSON 1986).

A subordem Oniscidea apresenta cinco linhagens: Ligiidae, Tylidae e Mesoniscidae, as quais comportam espécies semi-terrestres, Synocheta e Crinocheta, com espécies verdadeiramente terrestres (SCHMIDT 2002). Em Synocheta encontram-se espécies com tamanho reduzido (cerca de 5 mm) sendo estas habitantes de ambientes higrófilos. Em Crinocheta encontra-se o maior número de espécies, aproximadamente 2500, sendo estas mais derivadas, habitam os mais variados habitats (SCHMIDT 2002) o que inclui locais inóspitos como desertos (LINSENMAIR 1984).

Para a colonização do ambiente terrestre, os isópodos terrestres necessitaram de uma série de adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais. Estas adaptações permitiram-lhes a conquista dos diferentes ambientes tais como: zona litorânea, campos, florestas, bromélias, montanhas, desertos, cavernas e ninhos de formigas, sendo que algumas espécies, principalmente as exóticas, podem ser encontradas facilmente em ambientes urbanos onde haja detritos (HASSAL & SUTTON 1977, LINSENMAIR 1984, ARAUJO 1999, SCHMALFUSS 2003, ZIMMER 2003, TUF *et al.* 2008).

Adaptações ao ambiente terrestre

O sucesso dos oniscídeos tornou-se possível, devido uma série de adaptações para evitar a dessecação, visto que apesar de terrestres esses animais são sensíveis à perda de água.

Comportamento

Os isópodos terrestres preferem locais úmidos e escuros e com frequência são encontrados em abundância sob rochas, no interior de troncos em decomposição e em serapilheiras. Alguns

fatores influenciam esse comportamento, ressaltando-se a capacidade de orientação na direção contrária da luz, e de busca por lugares com maior concentração de umidade (hidrocinese) (WARBURG 1965), assim como a agregação que permite maior retenção de umidade, uma vez que os isópodos formam uma grande massa ao permanecerem juntos (Fig. 4). Para que a agregação aconteça, feromônios são liberados, permitindo o reconhecimento entre isópodos (TAKEDA 1984).

O hábito de se enterrar apresentado por algumas espécies (Fig. 5), pode ser visto tanto como um comportamento antipredatório quanto como um comportamento para evitar a dessecação, visto que ao se enterrar o isópodo se abriga da luz e do contato direto com ar, retendo maior umidade (TAKEDA 1980).

A tanatose é um tipo de estratégia apresentada por alguns isópodos que ao se sentirem ameaçados, fingem-se de mortos. *Balloniscus glaber* Araujo & Zardo, 1995 e *Porcellio dilatatus* Brandt, 1833 apresentam esse comportamento sendo que ambos também possuem o hábito de se enterrar. De acordo com os grupos eco-morfológicos, esta estratégia pertence à categoria “clingers” (SCHMALFUSS 1984).

A volvação é caracterizada pela capacidade que algumas espécies possuem de enrolar-se formando uma bola, protegendo assim a superfície ventral (Fig. 6). Esta região por não ser esclerotizada, torna-se mais vulnerável tanto a predadores quanto à dessecação. Os animais quando volvacionados apresentam menor perda de água, permitindo sua sobrevivência em condições que poderiam ser letais para outras espécies (WHITE & ZAR 1968). Nos grupos eco-morfológicos eles pertencem aos “rollers” (SCHMALFUSS 1984). Um exemplo, é a espécie popularmente conhecida como “tatu-bola”, *Armadillidium vulgare* Latreille, 1804.

Morfo-fisiologia

Três grandes adaptações morfo-fisiológicas devem ser ressaltadas, visto que foram imprescindíveis para que os isópodos terrestres pudessem obter sucesso na colonização do novo ambiente: um aprimorado sistema de condução de água, pulmões pleopodais e modificações no marsúpio (HOESE 1984).

Obtenção e manutenção da água

O sistema de condução de água possibilita aos isópodos terrestres a retirada de água do solo através dos endópodos dos pleópodos, estando distribuídos ao longo do corpo, e dos urópodos. Os urópodos apresentam sulcos cuticulares, os quais ao tocar o solo absorvem água por capilaridade e a distribuem para todo o corpo (Fig.7). Esse sistema também possibilita a eliminação da água em excesso, caso seja invertido. (Fig.8) (WIESER 1984, ARAUJO 1999). Esse sistema auxilia na excreção, termorregulação, osmorregulação respiração (SUTTON 1980).

A excreção ocorre em forma de amônia gasosa sendo transportada pelo sistema de condução de água e excretada através dos nefrídios maxilares (HARTENSTEIN 1968) minimizando assim, a perda de água.

Com relação a termorregulação e osmorregulação, a maioria dos oniscídeos perde água rapidamente pela transpiração cutânea passiva (EDNEY 1951, EDNEY & SPENCER 1955, WHITE E ZAR 1968, WRIGHT & MACHIN 1990). Algumas espécies possuem a capacidade de absorver umidade do ar quando esta for <90%. Esse processo é conhecido como WVA (Atmospheric Water Vapor) e permite uma maior tolerância a ambientes mais xéricos (WRIGHT & MACHIN 1990, WRIGHT & MACHIN 1993).

De acordo com EDNEY (1968), a perda de água ocorre através da transpiração cutânea passiva, a qual aumenta linearmente quando o ambiente apresenta temperaturas mais elevadas e/ou baixa umidade relativa do ar (URA). O aumento da temperatura provoca alterações na permeabilidade da cutícula externa levando-a a um encolhimento (BURSELL 1955). Ao encolher as moléculas de lipídeos presentes na endocutícula tornam-se próximas entre si, formando uma nova barreira contra a perda de água. Com o contínuo aumento na temperatura essa camada de lipídeos se desfaz, causando novamente um aumento progressivo na perda de água (BURSELL 1955).

A resistência à perda de água e a altas temperaturas pode variar entre as espécies e seus habitats. Alguns fatores devem ser considerados, tais como: o tamanho do indivíduo e/ou o tamanho padrão de determinada espécie, a permeabilidade da cutícula (constituição genética), a umidade do ambiente onde se encontra (EDNEY 1968, WHITE & ZAR 1968), o período de exposição ao qual for submetido e o padrão de aumento da temperatura, visto que mudanças bruscas de temperatura parecem ter um maior efeito na perda de água dos isópodos terrestres do que mudanças lentas, graduais e contínuas (NAIR & NAIR 1985). Espécies higrófilas possuem menor resistência a dessecação quando comparadas com espécies xéricas (GREENAWAY & WARBURG 1998, NAIR *et al.* 2003).

Espécies de *Armadillidium* possuem cutícula menos permeável do que espécies do gênero *Philoscia* (EDNEY 1951), sendo conseqüentemente mais resistentes à dessecação. Já em Porcellionidae, *Porcellionides pruinosos* (Brandt, 1833) é mais resistente a perda de água do que *Porcellio laevis* Latreille, 1804 (QUINLAN & HADLEY 1983, NAIR & NAIR 1985). Algumas espécies de isópodos terrestres são capazes de sofrer uma perda hídrica de até 50% do seu peso sem que morram (WHITE & ZAR 1968).

As trocas gasosas

Visto que seus ancestrais marinhos realizavam as trocas gasosas por intermédio de brânquias, os isópodos ao longo da evolução, desenvolveram mecanismos diferenciados para a obtenção do oxigênio, sendo que estes permitiram-lhes a conquista de ambientes variados. Assim, primeiramente as trocas gasosas passaram a ser realizadas via tegumento (EDNEY 1968), como ocorre em espécies semi-terrestres, habitantes da zona litorânea (SCHMIDT & WÄGELE 2001). Este padrão foi mantido em *Synocheta* (taxon mais basal dos isópodos terrestres). No clado *Crinocheta*, que inclui a maioria dos isópodos terrestres, há desde o sistema mais simples (trocas gasosas via tegumento) até estruturas especializadas e altamente desenvolvidas para a respiração aérea, os pulmões pleopodais (Figs. 9; 10) (HOESE 1982, FERRARA *et al.* 1991, LEISTIKOW & ARAUJO 2001, SCHMIDT & WÄGELE 2001). Cabe ressaltar que os pulmões pleopodais devem ser considerados na classificação dos isópodos terrestres. Quanto mais derivada for a espécie mais estruturas especializadas na captação de oxigênio os pulmões terão (SCHMIDT & WÄGELE 2001).

O marsúpio

Nos grupos mais basais, o marsúpio oferece proteção mecânica para os ovos em desenvolvimento (HOESE 1984). Ao longo da evolução dos isópodos, ocorreu uma série de modificações na sua estrutura, influenciando no sucesso reprodutivo em ambiente terrestre. O marsúpio é formado por cinco pares de oostegitos que partem da base das pernas dos pereionitos 1-5 e posicionam-se projetados para o centro da região ventral das fêmeas sobrepondo-se uns aos outros formando uma bolsa fechada (Fig.11).

De acordo com HOESE (1984), há dois tipos de marsúpio em Oniscidea: um anfíbio e um terrestre. Ele compara ambos a um tipo de marsúpio de isópodo aquático. Em *Idotea baltica*

(Pallas, 1772) (isópodo dulcícola), o marsúpio é aberto anterior e posteriormente, os maxilípodos possuem extensões especiais responsáveis por gerar a ventilação e a água e o oxigênio são levadas diretamente da parte posterior para a anterior. Neste cenário, a água circula livremente e, portanto, a função deste tipo de marsúpio é somente proteção. No marsúpio tipo anfíbio, observado em *Ligia* sp., espécie conhecida como baratinha da praia, existe uma abertura anterior e uma posterior, mas existe uma conexão com o sistema de condução de água, por ação capilar do 6° e 7° pereiópodos. Desta forma a água e o oxigênio são levados ao marsúpio por capilaridade, não havendo corrente forte de água. Já o terceiro tipo de marsúpio é totalmente fechado e chamado tipo terrestre, foi observado em *Porcellio scaber* Latreille, 1804 (Fig. 12).

No marsúpio tipo terrestre, a fêmea secreta um fluido na cavidade marsupial e as trocas gasosas acontecem provavelmente entre a hemolinfa da prole e o fluido marsupial. Neste caso, desenvolveram-se estruturas responsáveis pela provisão deste fluido e, também, oxigênio, os cotilédones (Fig.13). Este aprimorado marsúpio tem como funções: proteção, nutrição e oxigenação (HOESE 1984, HOESE & JANSSEN 1989).

Os cotilédones são projeções tubulares da cutícula do assoalho ventral, distribuídos nos segmentos ventrais, no interior do marsúpio (HOESE & JANSSEN 1989), sendo exclusivos de Crinocheta (SCHMIDT 2002). São estruturas temporárias presentes somente no período marsupial (HOESE & JANSSEN 1989). Através deles a fêmea secreta nutrientes e oxigênio para a prole em desenvolvimento. O epitélio é polimórfico (células cúbicas, alternam-se com células planas) sendo coberto por uma delicada cutícula. Debaxo desta podem ser encontradas numerosas vilosidades, curtas e irregulares (HOESE & JANSSEN 1989). As fêmeas ovígeras armazenam grande quantidade de tecido adiposo, o qual preenche os cotilédones, juntamente com a hemolinfa (HOESE & JANSSEN 1989). Ao final do período marsupial as células dos cotilédones

perdem as substâncias de reserva e em algumas espécies como, *Oniscus asellus* Linnaeus, 1758 e *P. scaber*, existe considerável regressão no comprimento dos cotilédones pouco antes da liberação das mancás visto que, a permanência dos mesmos poderia causar a morte da fêmea por dessecação, uma vez que, devido a presença dos mesmos, a área de superfície do assoalho ventral encontra-se aumentada (HOESE & JANSSEN 1989).

O número, posição, forma e comprimento dos cotilédones variam e, de acordo com HOESE & JANSSEN (1989), essa variação pode ter relação com a umidade do ambiente. LEWIS (1991) acrescenta que o número de cotilédones é maior quando as espécies pertencem a habitats mais áridos e argumenta que poderia haver três estratégias para manter a prole nutrida e oxigenada nestes ambientes: (1) os cotilédones poderiam secretar mais fluido; (2) eles poderiam ser maiores, aumentando a área de superfície e (3) poderiam ser em maior número. LEWIS (1991) estudou a disposição e número dos cotilédones em mais de 60 espécies da Austrália. O padrão de disposição mais comum é o de ocorrência nos pereionitos dois a cinco, podendo variar em número de quatro a 28 cotilédones. Nas famílias Trachelipodidae, Scyphacidae, Actaciidae, Philloscidae, Oniscidae e Porcellionidae, o número mais comum foi quatro, um para cada pereionito. O segundo padrão mais encontrado foi de 12 cotilédones, sendo três para cada segmento, em espécies de Scyphacidae, Trachelipodidae, Armadillidae e em *Halloniscus searlei* Chilton, 1920 (LEWIS 1991).

Armadillo officinalis Duméril, 1816 e *Schizidium tiberianum* Verhoeff, 1923, apresentam estruturas marsupiais diferenciadas, uma vez que em lugar dos cotilédones as espécies possuem sacos envolvendo os ovos e embriões em desenvolvimento. Os sacos estão todos conectados por uma estrutura semelhante a um cotilédone o qual está preso ao assoalho ventral do marsúpio (WARBURG & ROSEMBERG 1996).

Com exceção de estudos clássicos como HOESE & JANSSEN (1989) e LEWIS (1991), pouco se conhece sobre o arranjo dos cotilédones entre as espécies. Cabe ressaltar que LEWIS (1998) ao descrever espécies australianas incluiu os cotilédones na diagnose das mesmas.

O desenvolvimento da prole no interior do marsúpio

Conforme mencionado anteriormente o desenvolvimento em Oniscidea é direto. A prole ao ser liberada do marsúpio já possui a forma de um adulto, exceto pela falta do último par de pereiópodos em consequência deste fato, os filhotes são chamados de mancas (ARAUJO *et al.*, 2004).

A cópula nos isópodos acontece durante o período de intermuda. O macho fecunda os dois poros genitais da fêmea, primeiro um, depois o outro. A fêmea armazena o esperma no oviduto e no receptáculo seminal localizado no final do oviduto, sendo que no interior desses pode haver esperma de vários machos (SUZUKI & ZIEGLER 2005). Após a fertilização a fêmea passa por pela muda parturial, onde ocorre a formação dos oostegitos para a formação do marsúpio (AKAHIRA 1956). No interior deste, os ovos fecundados serão depositados e passam por 20 estágios de desenvolvimento até a formação da manca e sua liberação (WOLFF 2009; MILATOVIČ *et al.* 2010). Do estágio 1 até o estágio 8 ainda não há diferenciação na segmentação do corpo, podendo ser observada apenas uma massa globular de vitelo (Fig.14), já entre os estágios 9 e 18 pode ser observado a segmentação, os apêndices e os olhos do isópodo, no entanto o indivíduo permanece envolto pelo córion (Fig.15). Finalmente os estágios 19 e 20 já apresentam o indivíduo na forma de manca e totalmente livre da membrana (Fig.16). Os três estágios: ovo, embrião e manca já haviam sido citados por ARAUJO & BOND-BUCKUP (2005).

O período de desenvolvimento intramarsupial apresenta variação interespecífica e intraespecífica (HEELEY 1941, SUDERLAND *et al.* 1976, SUTTON 1980, ARAUJO & BOND-BUCKUP

2005) supostamente influenciado pela adaptação da espécie ao clima e/ou fotoperíodo ao qual está submetida.

De todas as adaptações apresentadas pelos isópodos terrestres, sem dúvida alguma a presença de um marsúpio fechado possibilitou uma total independência do meio aquático para o desenvolvimento de sua prole (HOESE 1984). Assim como a presença dos cotilédones em espécies do grupo Crinocheta, permitiu aos isópodos uma maior diversificação de habitats.

OBJETIVOS

Este estudo visa ampliar o conhecimento sobre a morfologia dos cotilédones entre as espécies de Oniscidea, assim como nos diferentes estágios de desenvolvimento marsupial.

Capítulo I - Padrão

I. Descrever a forma, comprimento, número e disposição dos cotilédones em diferentes espécies.

Capítulo II – Regressão

I. Verificar se há padrão no comprimento dos cotilédones entre os esternitos nos quais estão inseridos.

II. Comparar o comprimento dos cotilédones ao tamanho da fêmea e ao estágio de desenvolvimento marsupial;

III. Verificar se ocorre a regressão dos cotilédones, após a liberação das mancas, em: *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940), *Balloniscus sellowi* (Brandt, 1833), *Benthana cairensis* Sokolowicz, Boelter & Araujo, 2008, *Armadillidium nasatum* Budde-Lund, 1885, *A. vulgare* (Latreille, 1804) e *Porcellio scaber* Latreille, 1804;

IV. Estimar o tempo de intermuda da fêmea, após a liberação das mancas.

Capítulo III - Extensão marsupial

I. Identificar quais espécies apresentam extensão marsupial.

II. Estimar o número de filhotes que a extensão marsupial pode abrigar.

Material e métodos

Exemplares de 37 espécies foram coletados em vários estados brasileiros e tombados na Coleção Científica de Crustáceos da UFRGS, sendo que alguns foram obtidos desta mesma coleção, a exemplo *Hemilepistus klugii* (Brandt, 1833), espécie que habita deserto (ver material examinado).

As fêmeas tiveram seu tamanho estimado a partir da medida da largura de seu cefalotórax (ARAÚJO & BOND-BUCKUP 2004) (Fig.17) obtida em microscópio estereoscópico (Fig.18). Em seguida tiveram o marsúpio dissecado, sendo removidos os oostegitos e a prole contida em seu interior, afim de proporcionar adequada coloração e fixação dos cotilédones utilizando Rosa de Bengala diluído em Dubosc (HUMASON 1972) (Fig.19). A prole em desenvolvimento foi classificada em até quatro fases de acordo com MILATOVIČ *et al.* 2010: ovo, embrião, manca inicial (quando ainda não há evidencia de pigmentação) e manca final (indivíduo já com pigmentação). Alguns exemplares foram fotografados e todos tiveram seus cotilédones extraídos e preparados em lâmina permanente com meio de De Faure's (CANNON & SEWELL 1995) (Fig.20;21) onde foram medidos em microscópio estereoscópico. Espécies difíceis de serem coletadas, mas com exemplares na Coleção Científica de Carcinologia do Departamento de Zoologia da UFRGS, foram dissecados, fotografados e medidos, no entanto espécimes únicas (*Littorophiloscia denticulata* (Ferrara & Taiti, 1982), *Armadilloniscus* sp.) e/ou de difícil acesso a coletas (*Hemilepistus klugii* (Brandt, 1833)) foram preservados ao máximo, não tendo seus cotilédones extraídos ou preparados em lâminas. Exemplares de algumas espécies foram

mantidos em cultivo com temperatura (20 C°) e fotoperíodo controlados (Fig.22), para que o tempo de intermuda após a liberação das manchas fosse estimado.

Quando necessário um número maior de fêmeas em determinada fase ovígera, estas também foram mantidas em cultivo e observadas diariamente, até alcançarem a fase desejada.

Material examinado:

Agnaridae

Hemilepistus klugii (Brandt, 1833)

Iran: Khorassan Razavi Province, 04.II.2007, 2 f. p.o.(4559).

Armadillidae

Cubaris murina Brandt, 1833

Bahia: Salvador, 08.II.2010, 10 f. ov. (4560).

Armadillidiidae

Armadillidium nasatum Budde-Lund, 1885

Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 15.IX.2009, 51 f. ov.

Armadillidium vulgare (Latreille, 1804)

Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 15.XI.2009, 21 f. ov, 10 f. p.o.

Balloniscidae

Balloniscus glaber Araujo & Zardo, 1996

Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 12.III.2008, 8 f. ov.; São Francisco de Paula, 18.X.2009, 12 f. ov, 5 f. p.o.

Balloniscus sellowii (Brandt, 1833)

Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 16.X.2007, 57 f. ov., 6 f. p.o.; Viamão: Águas Belas-FEPAGRO, 24.IX.2007, 8 f.ov.

Bathytropidae

Neotroponiscus carolii Arcangeli, 1936

Bahia: Salvador – Baía de Aratu, V.2006, 2 f. ov. (4548).

Neotroponiscus daguerri (Giambiagi de Calabrese, 1939)

Rio Grande do Sul: Parque Saint Hilaire, Viamão, 1 f. ov.; Ilha da Pintada, 6.VII.1989, 3f. ov.(1246), Taim, Reserva ecológica do Taim, 17.II.91 1 f ov. (1515); Taim, Reserva ecológica do Taim, 23.IV.91, 1 f. ov.,(1516).

Detonidae

Armadilloniscus sp.

Bahia; Salvador – Baía de Aratu, 12.VI.2007, 1 f. ov.

Dubioniscidae

Novamundoniscus gracilis Lopes & Araujo, 2003

Rio Grande do Sul: Parque Saint Hilaire, Viamão, 07.IX.2004, 2 f. ov.,: Mostardas, 04.II.2006. 1 f. ov.; Arroio Teixeira, 10.IX.1998, 1 f. ov., (3631).

Novamundoniscus meridionalis (Araujo & Buckup, 1994)
Rio Grande do Sul: Estrela, 1.II.1991, 3 f. ov. 1 f. p.o., (1761).

Philosciidae

Atlantoscia floridana (van Name, 1940)
Rio Grande do Sul: Morro Santana, 12.III.2008, 10 f. ov.; Porto Alegre, 12.XI.2008, 13 f. ov, 10 f. po.; UFRGS – Campus do Vale, 8.III.2010, 5 f. ov. São Paulo: Parque Ibirapuera, 03.II.2010, 10 f. ov.

Atlantoscia rubromarginata Araujo & Leistikow, 1999
Bahia: Salvador, 30.V.2008, 2 f. ov. (4529).

Benthana araucariana Araujo & Lopes, 2003
Rio Grande do Sul: São Francisco de Paula, 18.IX.1999, 3 f ov (2932P).

Benthana cairensis Sokolowicz, Boelter & Araujo, 2008
Rio Grande do Sul: Taquara, 15.I.2008, 20 f. ov., 5 f po.

Benthana convexa Lemos de Castro, 1958
São Paulo: Parque do Ibirapuera, 02.II.2010, 4 f. ov.

Benthana longicornis Verhoeff, 1941
São Paulo: Parque do Ibirapuera, 02.II.2010, 4 f. ov.

Benthana longipenis Lemos de Castro, 1958
Rio Grande do Sul: Erechim, 14.IV.2010, 4 f. ov.

Benthana picta (Brandt, 1833)
Rio Grande do Sul: Maquiné, 15.X.2009, 4 f. ov.

Benthana taeniata Araujo & Buckup, 1994
Rio Grande do Sul: Augusto Pestana, 20.II.2010, 9 f ov.

Benthana itaipuensis Campos Filho & Araujo, 2010
Paraná: Foz do Iguaçu, 10.III.2010, 8 f. ov.

Burmoniscus meeusei (Holthuis, 1947)
Santa Catarina: Joaçaba, 19.I.1991, 1 f. ov., (1503); Pará: Belém – UFRA, 9.II.2010, 9 f. ov.

Littorophiloscia denticulata (Ferrara & Taiti, 1982)
Bahia: Salvador - Baía de Aratu, 12.VI.2007, 1 f. ov. (4546).

Platyarthridae

Trichorhina acuta Araujo & Buckup, 1994

Rio Grande do Sul: São Vicente do Sul, 5.II.1991, 5 f. ov. (1077); Rio Grande do Sul: Porto Alegre, UFRGS, 10.III.2010, 2 f. ov., 12.III.2010, 1 f.ov..

Trichorhina Argentina Vandel, 1963

Rio Grande do Sul: Eldorado do Sul, 2.IV.1991, 2 f. ov. (1520); Camaquã, 23.III.1991, 2 f. ov. (1523).

Trichorhina heterophthalma Lemos de Castro, 1964

Bahia: Salvador, IV.2006, 2 f. ov., 1 f. p.o.(4174).

Trichorhina tomentosa (Budde-Lund, 1893)

Santa Catarina: Tubarão, 15.V.1991,2 f. ov. 1 f. p.o.(1999).

Porcellionidae

Agabiformius lentus (Budde-Lund, 1885)

Rio Grande do Sul: Tapes, 23.III.1991, 5 f. ov.

Porcellio dilatatus Brandt, 1833

Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 15.IX.2009, 22 f. ov.

Porcellio laevis Latreille, 1804

Rio Grande do Sul: Augusto Pestana, 20.II.2010, 2 f. ov.; Santa Catarina: Papanduva, 17.V.1991, 3 f. ov. (1690); Campos Novos, 18.I.1991, 1 f. p.o., (1691).

Porcellio scaber Latreille, 1804

Rio Grande do Sul: Bom Jesus, 17.I.1991, 12 f. ov., (1694); Caxias do Sul, 22.IX.1990, 3 f. p.o. (1695).

Porcellionides pruinosus (Brandt, 1833)

Rio Grande do Sul: Augusto Pestana, 20.II.2010, 13 f ov.

Porcellionides sexfasciatus (Budde-Lund, 1885)

Rio Grande do Sul: Bom Jesus, 5 f. ov., 1 f. p.o., 17.I.1991.(1644). Santa Catarina: Papanduva, 17.V.1991 , 2 f. p.o. (1647).

Pudeoniscidae

Pudeoniscus birabeni Vandel, 1963

Bahia: Salvador, Baía de Aratu, XI.2006, 2 f. ov. (4535).

Scleropactidae

Circoniscus sp.

Amapá: Manaus, 13.V.2000, 2 f. ov., (4445).

Trachelipodidae

Nagurus cristatus (Dollfus, 1889)

Santa Catarina: Nova Teutônia, 18.V.1992, 4 f. ov. (2077).

Nagurus nanus (Budde-Lund, 1908)

Santa Catarina: Gravatal, 15.V.1991, 5 f. ov. (2078).

Referências Bibliográficas

- AKAHIRA, Y. 1956. The function of thoracic processes found in females of the common woodlouse, *Porcellio scaber*. **Journal Faculty of Science Hokkaido University** **12**:493-498.
- ARAÚJO, P.B. 1999. Oniscidea 237-256. *In*: BUCKUP, L. & G. BOND-BUCKUP. Os Crustáceos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Ed. Universidade/UFRGS, 503p.
- ARAÚJO, P.B.; A.F. QUADROS; M.M. AUGUSTO & G. BOND-BUCKUP. 2004. Postmarsupial development of *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) (Crustacea, Isopoda, Oniscidea): sexual differentiation and size at onset of sexual maturity. **Invertebrate Reproduction and Development** **45**(3): 221- 230.
- ARAÚJO, P.B. & G. BOND-BUCKUP. 2004. Growth curve of *Atlantoscia floridana* (van Name) (Crustacea, Isopoda, Philosciidae) in a Brazilian restinga forest. **Revista Brasileira de Zoologia** **21** (1): 1-8.
- ARAÚJO, P.B. & G. BOND-BUCKUP. 2005. Population structure and reproductive biology *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) in southern Brazil. **Acta Oecologica** **28**: 289-298.
- BURSSEL, E. 1955. The transpiration of terrestrial isopod. **Journal of Experimental Biology** **34**:238-255.
- CANNON, L.R.G. & K.B. SEWELL. 1995. Craspedellinae Baer, 1931 (Platyhelminthes: Temnocephalida) ectosymbionts from the branchial chamber of Australian crayfish (Crustacea: Parastacidae). **Memoirs of the Queensland Museum**. **38**: 397-418.

- CHEN, J.; J. VANNIER & D. HUANG. 2001. The origin of crustaceans: new evidence from the Early Cambrian of China. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** **268**(1482):2181-2187.
- EDNEY, E.B. 1951. The evaporation of water from woodlice and the millipede *Glomeris*. **Journal of Experimental Biology** **28**:91-115.
- EDNEY, E.B. & J.O. SPENCER. 1955. Cutaneous respiration in woodlice. **Journal of Experimental Biology** **32**: 256-269.
- EDNEY, E.B. 1968. Transition from water to land in isopod crustaceans. **American Zoologist** **8**(3): 309-326.
- FERRARA, F.; P. PAOLI & S. TAITI. 1991. Morphology of the pleopodal lungs in the Eubelidae (Crustacea, Oniscoidea). *In*: P. JUCHAULT & J.P. MOCQUARD (Ed.). Biology of Terrestrial Isopods III. Third International Symposium on the Biology of terrestrial Isopoda. Poitiers, Université de Poitiers.
- FRIEND, J.A. & A.M.M. RICHARDSON. 1986. Biology of terrestrial amphipods. **Annual Review of Entomology** **31**: 25-48.
- GREENAWAY, P. & M.R. WARBURG. 1998. Water fluxes in terrestrial isopods. **Israel Journal of Zoology** **44**: 473-486.
- HASSAL, M. & S.L. SUTTON. 1977. The role of isopods as decomposers in a dune grassland ecosystem. **Scientific Proceedings of the Royal Dublin Society** **6**: 235-245.
- HEELEY, W. 1941. Observation on the life-histories of some terrestrial isopods. **Proceedings of the Zoological Society of London, Series B** **111**:79-119.
- HOESE, B. 1982. Morphology and evolution of the lungs in terrestrial isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscoidea)

- HOESE, B. 1984. The marsupium in terrestrial isopods. **Symposium of the Zoological Society of London 53**: 65-76.
- HOESE, B. & H. JANSSEN. 1989. Morphological and physiological studies on the marsupium in terrestrial isopods. **Monitore zoologico italiano, Nuova Serie, Monografia 4**: 153-173.
- HUMASON, G.L. 1972. **Animal Tissue Techniques**. W. H. Freeman and Company, San Francisco, CA, USA. 641p.
- LEISTIKOW, A. & P.B. ARAUJO. 2001. Morphology of respiratory organs in South American Oniscidea ('Philosciidae'), p. 329-336. *In*: B. KENSLEY & R. BRUSCA (Ed.). Isopod systematics and evolution. Rotterdam, Balkema, 357p.
- LEWIS, F. 1991. The relationship between broodpouch cotyledons, aridity and advancement. 81-88 *In*: P. JUHAULT & J.P. MOCQUARD (Ed.). Biology of Terrestrial Isopods III. Third International Symposium on the Biology of terrestrial Isopoda. Poitiers, Université de Poitiers.
- LEWIS, F. 1998. Oniscidea (Isopoda) from Lord Howe Island. **Crustaceana 71**(7):743-777.
- LINSENMAYER, K.E. 1984. Comparative studies on the social behaviour of the desert isopod *Hemilepistus reaumuri* and of a *Porcellio* species. **Symposium of the Zoological Society of London 53**: 423-453.
- MARTIN, J.W. & G.E. DAVIS. 2001. **An updated classification of the recent Crustacea**. Science Series, Los Angeles. 123 p.
- MILATOVIČ, M.; R. KOSTANJŠEK & J. ŠTRUS. 2010. Ontogenetic development of *Porcellio scaber*: staging based on microscopic anatomy. **Journal of Crustacean Biology 30**(2):225-235.
<http://www.bioone.org/doi/full/10.1651/09-3189.1-n101#n101> em: 18/10/2010.

- NAIR, G.A. & N.B. NAIR. 1985. Transpiration rates and acclimation to water and temperature of the tropical woodlice, *Porcellionides pruinosus* Brandt and *Porcellio laevis* Latreille. **Proceedings of the Indian Academic Science** **94**(5): 469-474.
- NAIR, G.A., R.V. CHALAN, A.I. MOHAMED & M.H. HAEBA. 2003. Cuticular transpiration in woodlice (Isopoda, Oniscidea) inhabiting Benghazi, Libya. **African Journal of Ecology** **41**: 283-286.
- QUINLAN, M.C. & N.F. HADLEY. 1983. Water relations of the terrestrial isopods *Porcellio laevis* and *Porcellionides pruinosus* (Crustacea, Oniscoidea). **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology** **151**(2): 155-161.
- RICHTER S. & G. SCHOLTZ. 2001. Phylogenetic analysis of the Malacostraca (Crustacea). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research** **39**: 113-116.
- SCHMALFUSS, H. 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. **Symposia of the Zoological Society of London** **53**: 49-63.
- SCHMALFUSS, H. 2003. World catalog of terrestrial isopods (Isopoda Oniscidea). **Stuttgarter Beiträge zur Naturkund Series A (Biologie)** **654**:1-341.
- SCHMIDT, C. & J.W. WÄGELE. 2001. Morphology and evolution of respiratory structures in the pleopod exopodites of terrestrial Isopoda (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). **Acta Zoologica** **82**: 315-330.
- SCHMIDT, C. 2002. Contribution to the phylogenetic system of the Crinocheta (Crustacea, Isopoda). Part 1. (Olibrinidae to Scyphacidae s. str.). **Mitteilungen Museum für Naturkund. Berlin, Zool. Reihe** **78**: 275-352.

- SUDERLAND, K.D.; M. HASSAL & S.L.SUTTON. 1976. The population dynamics of *Philoscia muscorum* (Crustacea Oniscoidea) in a dune grassland ecosystem. **Journal of Animal Ecology** **45**(2): 487-506.
- SUTTON, S.L. 1980. **Woodlice**. Pergamon Press, Oxford, 143p.
- SUZUKI, S. & A. ZIEGLER. 2005. Structural investigation of the female genitalia and sperm-storage sites in the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Crustacea, Isopoda). **Arthropod Structure & Development** **34**: 441-454.
- TAKEDA, N. 1980. The aggregation pheromone of some terrestrial isopod crustaceans. **Cellular and Molecular Life Sciences** **36**(11): 1296-1297.
- TAKEDA, N. 1984. The aggregation phenomenon in terrestrial isopods. **Symposia of the Zoological Society of London** **53**: 381-404.
- TUF, I.; K. TAJOVSKÝ; J. MIKULA; V. LASKA & R. MLEJNEK. 2008. Terrestrial isopods (Isopoda:Oniscoidea) in and near Zbrasov Aragonit caves (Czech Republic) *In*: M. ZIMME; F. CHARFI-CHEIKHROUHA & S. TAITI (Ed.). Proceedings of the International Symposium of terrestrial Isopods Biology – ISTIB-07. 175p.
- WARBURG, M.R. 1965. The microclimate in the habitats of two isopod species in southern Arizona. **American Midland Naturalist** **73**(2): 363-375.
- WARBURG, M.R & M. ROSENBERG. 1996. Brood-pouch structures in terrestrial isopods. **Invertebrate reproduction and development** **26**: 213-222.
- WHITE, J.J. & J.H. ZAR. 1968. Relationships between saturation deficit and the survival and distribution of terrestrial isopods. **Ecology** **49**(3): 556-559.
- WIESER, W. 1984. Ecophysiological adaptations of terrestrial isopods: a brief review. **Symposia of the Zoological Society of London** **53**: 247-262.

- WOLFF, C. 2009. The embryonic development of the malacostracan crustacean *Porcellio scaber* (Isopoda, Oniscidea). **Development Genes and Evolution** **219**:545–564.
- WRIGHT, J.C. & J. MACHIN. 1990. Water vapour absorption in terrestrial isopod. **Journal of Experimental Biology** **154**:13-30.
- WRIGHT, J.C. & J. MACHIN. 1993. Atmospheric water vapour absorption and the water budget of terrestrial isopods. **Biological Bulletin** **184**:243-253.
- YOUNG, P. S. 1998. Maxillopoda. Thecostraca. 263-285. *In*: YOUNG, P.S. Catalogue of crustacea from Brazil. Rio de Janeiro, Ed. Young. Museu Nacional.
- ZIMMER, M. 2003. Habitat and resource use by terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea). *In*: SFENTHOURAKIS, S.; P.B. ARAUJO; E. HORNUNG; H. SCHMALFUSS; S. TAITI & K. SZLAVECZ. (eds). The biology of Terrestrial Isopods. Crustaceana Monographs, 2. Leiden, Brill, 386p.

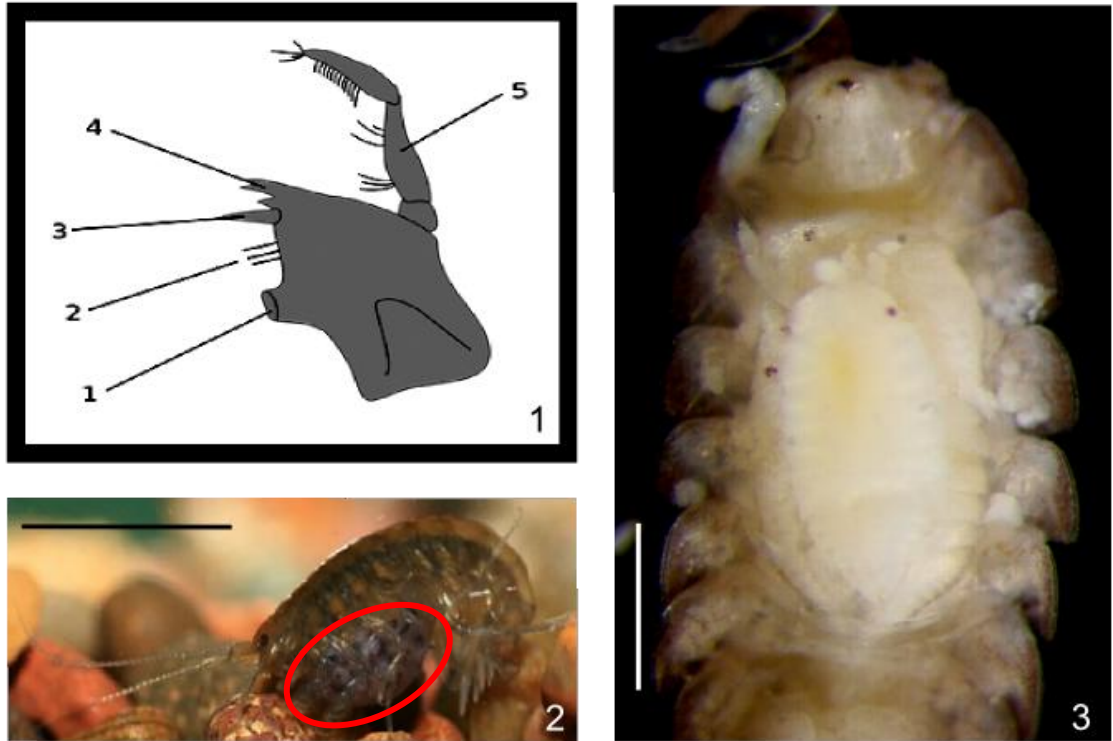


Figura 1 – 3. Autapomorfias que caracterizam a superordem Peracarida. 1. Mandíbula com processo articulado, chamado *lacinia mobilis*. *Bauplan* geral de mandíbula de Peracarida (1. Molar; 2. Coluna de cerdas; 3. *Lacinia mobilis*; 4. Incisor; 5. Palpo) 2. Anfípodo portando marsúpio. Marsúpio evidenciado através de círculo. 3. *Trichorhima acuta*, isópodo terrestre apresentando pernas intramarsupiais, evidenciando o desenvolvimento direto. Escala: 0,5 mm.

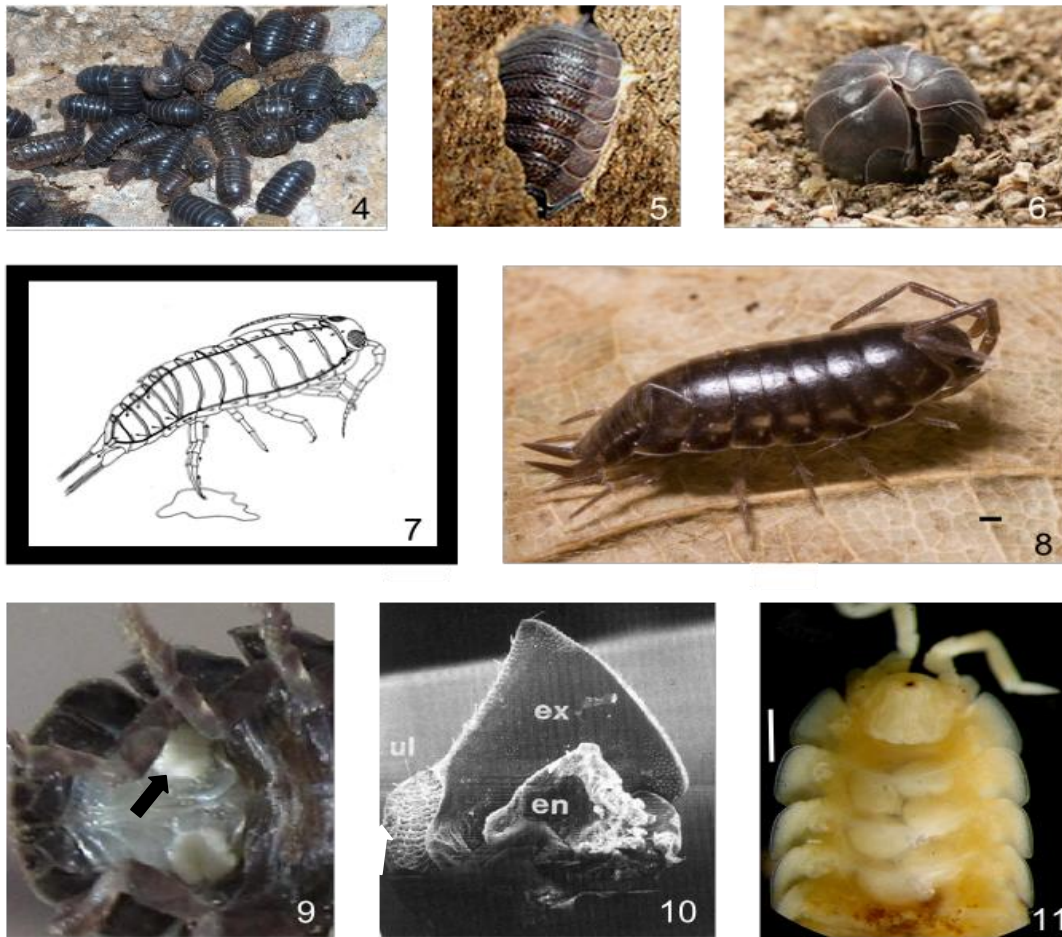


Figura 4 – 11. Adaptações para a colonização do ambiente terrestre, encontradas em isópodos terrestres. 4-6. Comportamentais: 4. Fênomeno de agregação. 5. Hábito de se enterrar. 6. Sistema volvacional. 7-11: Morfológicas: 7-8. Sistema condutor de água: 7. Figura esquemática de um isópodo retirando água do solo por capilaridade e distribuindo-a por todo o corpo. 8. *Benthana cairensis* tocando o solo com os urópodos para retirar excesso de água do corpo. 9-10. Pulmões pleopodais. 9. Parte ventral posterior do corpo de *Armadillidium vulgare*. Seta evidenciando os pleópodos onde estão localizados os pulmões pleopodais. 10. Pleópodo dissecado de *Balloniscus sellowii*, seta apresentando as ramificações especializadas nas trocas gasosas. Legenda: ex: exópodo. en: endópodo. ul: lung: 11. Marsúpio de *Nagurus nanus* portando ovos. Escala: 0,5 mm.

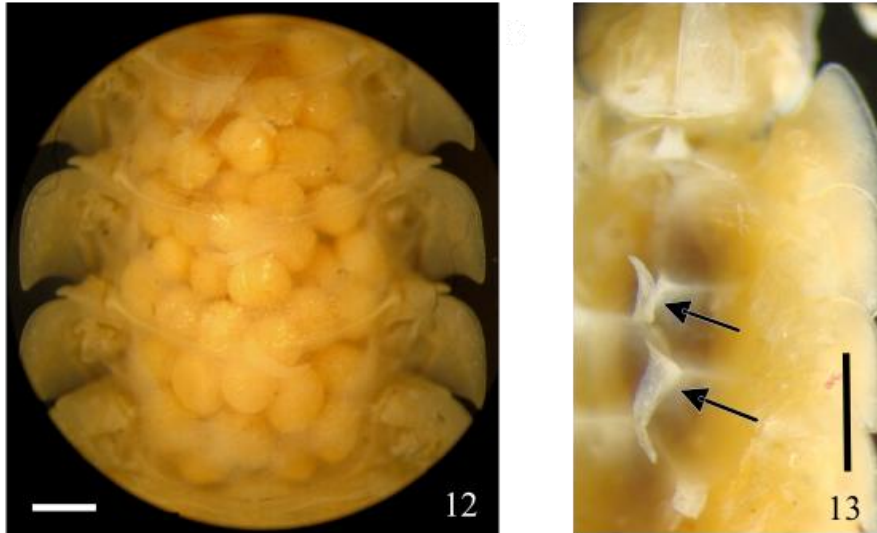


Figura 12 – 13. Marsúpio de isópodos terrestres. 12. Vista ventral de *Porcellio scaber*. Oostegitos transparentes permitindo a visualização do interior do marsúpio. 13. Cotilédones de *Nagurus nanus*. Setas indicando. Escala: 0,5 mm.

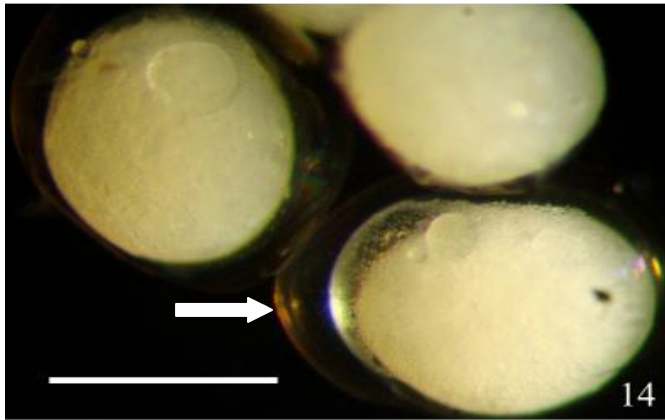


Figura 14 – 16. Estágios de desenvolvimento intramarsupial. 14. Ovos de *Porcellionides pruinosus*: massa homogênea rica em vitelo. Seta indicando o córion. 15. Embriões de *P. pruinosus*: segmentação do corpo e apêndices visíveis, ainda envoltos pelo córion. 16. Manca de *Balloniscus sellowii*: totalmente livre da membrana envoltória. Escala: 0,5 mm.

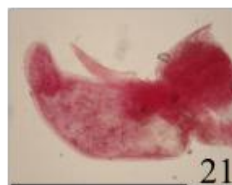
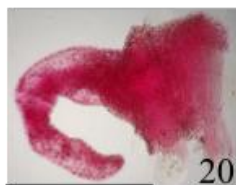


Figura 17 – 22. Material e métodos utilizados nos estudos relatados nos capítulos da dissertação. 17. Medida da largura do cefalotórax de uma fêmea de *Benthana itaipuensis*. 18. Estereomicroscópio. 19. Exemplar de *Porcellio dilatatus*, fixado em Dubosc e corado com Rosa de Bengala. 20 – 21. Cotilédones preparados em lâmina permanente com meio D' Faures. 20. Cotilédone de *Atlantoscia floridana*. 21. Cotilédone de *Benthana cairensis*. 22. B.O.D com temperatura e fotoperíodo ajustados. Escala: 0,5 mm.

Créditos das figuras

Figura 1. <http://www.answers.com/topic/peracarida#ixzz1B8i32lkI>

Figura 2. <http://bugguide.net/node/view/261176/bgimage>

Figura 4. http://northeastwildlife.co.uk/gallery/albums/fauna/miscellaneous/pill_woodlouse-00014.jpg

Figura 5. <http://zenza.pagesperso-orange.fr/cloportes/images/Pdilatatus5.jpg>

Figura 6.

<http://static.rateyourmusic.com/lk/l/w/362644a26cdf32afa2a75b57d2fef26/309619.jpg>

Figura 8. Biol. Msc. Luciano Valério

Figura 10. http://www.zookey.com.br/itrs/ITRS_key.html

Figura 11. http://lh5.ggpht.com/_6LWjP0sZ22w/TBhBe7G1FXI/AAAAAAAAAH-o/rXEq7Cpr1eo/ExpandO%20Respiratory%5B6%5D.jpg

As demais figuras pertencem a autora.

**Cotilédones dos isópodos terrestres
(Peracarida, Oniscidea).**



Parte I. Morfologia e Distribuição.

Resumo.....	31
Abstract.....	32
Introdução.....	32
Material e métodos.....	34
Resultados.....	35
Discussão.....	39
Referências bibliográficas.....	42
Figuras e tabelas.....	45
Artigo a ser submetido a Acta Zoologica (Estocolmo).	

Cotilédones dos isópodos terrestres (Peracarida, Oniscidea). Parte I. Morfologia e distribuição.

Carina Appel¹, Aline F. Quadros² and Paula B. Araujo¹

1 - Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Avenida Bento Gonçalves, 9500, prédio 43435, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: carinaappel@yahoo.com.br,

2. Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), Parque Tecnológico Itaipu (PTI). Avenida Tancredo Neves, 6731, Caixa Postal: 2044. Foz do Iguaçu, PR, Brasil, CEP: 85856-970.

Resumo: Os cotilédones são extensões que partem dos esternitos no interior da cavidade intramarsupial dos isópodos terrestres mais derivados, pertencentes ao grupo Crinocheta, sendo responsáveis pela nutrição e oxigenação da prole no interior do marsúpio. Este estudo abrangeu 37 espécies de isópodos terrestres distribuídas em 13 famílias, comparando os cotilédones quanto a forma, número, disposição e comprimento. As espécies apresentaram variação interespecífica e curiosamente *Atlantoscia floridana* variou intraespecificamente, onde pode apresentar quatro ou oito cotilédones. Dentre as espécies foram identificados seis formatos distintos, assim como sete arranjos de distribuição e três padrões de comprimentos para os cotilédones. Essas diferenças podem tratar-se de diferentes estratégias reprodutivas ou ainda estar relacionado à filogenia.

Abstract: The cotyledons are extensions of sternites leaving the cavity intramarsupial of more derivative terrestrial isopods, belonging to the group Crinocheta, being responsible for nutrition and oxygenation of the offspring inside the pouch. This study covers 37 species of terrestrial isopods distributed in 13 families, comparing the cotyledons concerning their shape, number, arrangement and length. The species show interspecific variation and curiously *Atlantoscia floridana* varies intraspecific, which can have four or eight cotyledons. Among the species, it was identified six different formats, as well as seven distribution arrangements and three standard lengths for cotyledons. These differences may be treated with different reproductive strategies or even be related to phylogeny.

Introdução

Os isópodos terrestres são crustáceos que independem do meio aquático para a reprodução, graças à presença do marsúpio (Akahira 1956, Warburg 1987, 1993, 1994a, 1994b), o qual funciona como um micro-aquário, abrigando os ovos desde a fecundação até o final de seu desenvolvimento, quando nascem indivíduos morfologicamente semelhantes aos adultos (Hoese 1984). A formação do marsúpio inicia quando a fêmea, em período reprodutivo, passa pelo processo de muda marsupial (Mead e Gabouriaut 1988) quando, por controle dos hormônios ovarianos, formam-se cinco pares de oostegitos próximo à base dos pereiópodos 2-5 (Suzuki e Yamasaki 1989). Estes projetam-se para o centro do marsúpio sobrepondo-se uns aos outros, formando uma bolsa fechada, na qual a prole desenvolve-se (Patane 1940, Hoese 1984). Este marsúpio, totalmente fechado, foi denominado tipo terrestre ou “Porcellio-Type” podendo ser considerado mais derivado que o outro tipo encontrado em Oniscidea, o qual apresenta

extremidades abertas (Hoese 1984, Hoese e Janssen 1989). Este marsúpio é chamado de tipo anfíbio ou “Ligia-Type” (Hoese 1984).

No interior do marsúpio tipo terrestre, se desenvolvem os cotilédones, evaginações do tegumento do assoalho ventral que apresentam cutícula extremamente fina, preenchida por tecido adiposo e hemolinfa (Hoese e Janssen 1989). Eles estão envolvidos na nutrição e oxigenação da prole (Hoese e Janssen 1989, Lewis 1991) podendo variar em comprimento de acordo com fase de desenvolvimento intramarsupial, regredindo pouco antes da liberação das manca (Hoese e Janssen 1989).

O número de cotilédones pode variar, podendo ocorrer de quatro até 28 por fêmea, dependendo da espécie (Lewis 1991). A forma como estão distribuídos e dispostos também varia. Em algumas espécies os cotilédones estão presentes desde o primeiro esternito e em outras a partir do segundo. Porém, em todas as espécies eles ocorrem somente até o quinto esternito, não havendo registro de ocorrência após deste (Lewis 1991, Lewis 1998). A disposição dos cotilédones pode diferir, exceto quando em número de quatro, ocorrendo desde centralizados muito próximos entre si até distantes entre si formando um triângulo (Lewis 1991). Lewis (1991) acrescenta que o número de cotilédones é maior quando as espécies pertencem a habitats mais áridos.

Apesar de serem estruturas exclusivas de Crinocheta, grupo este que compreende os isópodos mais derivados (Schmidt 2008), e desempenharem uma importante função (Hoese e Janssen 1989), os cotilédones ainda são pouco estudados. Apenas dois estudos tratam especificamente sobre cotilédones, sendo estes pioneiros sobre o assunto: Hoese e Janssen (1989), sobre fisiologia; e o de Lewis (1991) que descreve o arranjo dos cotilédones em espécies coletadas na Austrália. Este último estudo apresenta resultados e comparações a nível de família,

o que abre margem a questões importantes: (i) os formatos dos cotilédones seriam sempre os mesmos? (ii) os arranjos descritos para as famílias estudadas se repetem entre espécies e/ou gêneros não abordados no estudo? (iii) o comprimento dos cotilédones poderia variar interespecificamente e / ou intraespecificamente? Desta forma, este estudo visa responder essas questões ao descrever os padrões dos cotilédones, considerando forma, número, disposição e tamanho dos mesmos.

Material e métodos

A descrição dos cotilédones foi baseada em material já existente na Coleção Científica de Crustáceos do Departamento de Zoologia da UFRGS e os exemplares que foram coletados para este fim, estão tombados nesta mesma coleção. No total, foram reunidas fêmeas ovígeras de 37 espécies, distribuídas em 13 famílias (Tab.1). Para descrever o formato, estabelecer o número e a disposição dos cotilédones, os indivíduos foram corados e fixados com Rosa de Bengala diluído em Dubosc (Humason 1972), por no mínimo 24 horas. A largura do cefalotórax da fêmea foi utilizada como estimativa do tamanho (Araujo e Bond-Buckup 2004). As fêmeas foram dissecadas e, após a remoção dos oostegitos e da classificação da prole (em ovo, embrião ou manca) contida no interior do marsúpio, fotografadas. Os cotilédones foram extraídos, preparados em lâminas permanentes com meio de De Faure's (Cannon e Sewell 1995) e medidos sob microscópio estereoscópico (Nikon SMZ 800).

Para que fosse possível comparar o comprimento dos cotilédones entre as espécies estudadas, foi estabelecida medida relativa de tamanho, dividindo-se o valor do comprimento do cotilédone pela largura do cefalotórax da fêmea. Cotilédones com tamanho relativo < 0.5 mm (i. e. menor que 50% do tamanho da fêmea) foram considerados curtos, os > 0.5 mm e < 1.0 mm

foram considerados médios e os >1.0 mm, longos. Durante o estudo foi observado, em *Porcellio dilatatus* Brandt, 1833, variação no formato dos cotilédones. Afim de investigar essa variação, fêmeas apresentando três diferentes fases de desenvolvimento intramarsupial foram examinadas e seus cotilédones medidos, sendo que após, utilizou-se Análise de Variância (ANOVA) com teste *a posteriori* de Tuckey.

Resultados

Os cotilédones das espécies estudadas diferem quanto ao formato, número, posição e comprimento.

Forma dos cotilédones

A maioria das espécies possui cotilédones com formato alongado (comprimento>largura) e cônico possuindo a parte basal mais larga que a apical (Figs. 1A-C). *Cubaris murina* Brandt, 1833 (Armadillidae) apresenta dois cotilédones bipartidos no segundo esternito (Fig. 1D) e três tripartidos do terceiro ao quinto (Fig.1F). *Porcellio dilatatus* apresenta cotilédones bipartidos somente no início do período ovígero, geralmente nos cotilédones dos esternitos dois e três (Fig.1E; Fig. 2A; Fig. 7D), sendo que conforme avança o estágio embrionário no interior do marsúpio, os cotilédones aumentam em comprimento (ANOVA $F_{2,20}=16.5993$; $p<0.0002$, seguido de teste de Tukey, $p<0.01$) diminuindo gradativamente a bifurcação até o desaparecimento da mesma (Fig. 3). Em *Novamundoniscus meridionalis* (Araujo & Buckup, 1994) cada cotilédone vai de um esternito ao outro sobrepondo-se entre eles (Fig. 1G), possuindo formato retangular, com as bordas apicais salientes e arredondadas (Fig. 1H; Fig. 6A). Os cotilédones de *Armadillidium nasatum* Budde-Lund, 1885 se assemelham a uma elipse com uma

pequena projeção pontiaguda no centro (Fig. 1I) possuindo comprimento X largura muito semelhante. *Circoniscus* sp., apresenta cotilédones em formato tricúspides (Fig. 1J).

Padrão de distribuição

Foram identificados sete diferentes arranjos dos cotilédones nas espécies estudadas (Fig. 4).

O arranjo A é o mais comum, encontrado em 30 espécies consiste de quatro cotilédones, um em cada esternito, distribuídos centralmente do segundo ao quinto (Fig. 4A; Fig. 5), sendo encontrado nas famílias: Platyarthridae, Trachelipodidae, Bathytropidae, Pudeoniscidae, Scleropactidae, Detonidae, Armadillidiidae, Dubioniscidae, Porcellionidae e Philosciidae. O arranjo B é exibido pelo gênero *Atlantoscia* (Philosciidae) e consiste de oito cotilédones, distribuídos do segundo ao quinto esternito (Fig. 4B; Fig. 6D-E). O arranjo C ocorre no gênero *Balloniscus* (Balloniscidae), com 12 cotilédones, sendo três por esternito do segundo ao quinto (Fig. 4C). O arranjo D encontrado em *Littorophiloscia denticulata* (Ferrara & Taiti, 1982) apresenta nove cotilédones do segundo ao quinto esternito (Philosciidae) (Fig. 4D; Fig. 6F). O arranjo E, registrado para *Porcellio laevis* Latreille, 1804 (Porcellionidae), apresenta 14 cotilédones com distribuição do primeiro ao sexto esternito (Fig. 4E; Fig. 7E). O arranjo F foi encontrado em *C. murina* (Armadillidae), e apresenta dois cotilédones fendidos no segundo esternito e três cotilédones bifendidos do terceiro ao quinto esternito (Fig. 4F). O arranjo G, apresenta cotilédones retangulares distribuídos do primeiro ao quinto esternito, sendo observado em *N. meridionalis* (Fig. 4G; 6A).

Variação nas espécies, gêneros e famílias.

A família Philosciidae apresentou variação intraespecífica e interespecífica. Das 35 fêmeas analisadas de *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) provenientes de duas populações diferentes (São Paulo e Rio Grande do Sul), 16 apresentaram quatro cotilédones (Fig. 4A; Fig. 6C), arranjo este observado para a maioria dos isópodos terrestres (Fig. 5), e 19 apresentaram oito cotilédones (Fig. 4B; Fig. 6D), e estes dois tipos foram encontrados em ambas populações. Curiosamente, este padrão com oito cotilédones também foi encontrado na outra espécie do gênero, *A. rubromarginata* Araujo & Leistikow, 1999 (Fig. 4B; Fig. 6E). *Littorophiloscia denticulata*, outro Philosciidae apresenta nove cotilédones distribuídos de forma assimétrica (Fig. 4D; Fig. 6F). Em Dubioniscidae, *N. meridionalis* difere de *N. gracilis* Lopes & Araujo, 2003 apresentando um cotilédone a mais, iniciando a distribuição desde o primeiro esternito, totalizando cinco cotilédones (Fig. 4G; Fig. 6A). Já em Porcellionidae, somente *P. laevis* difere dos demais apresentando um arranjo totalmente singular, ao portar 14 cotilédones distribuídos do primeiro ao sexto esternito (Fig. 4E; Fig. 7E), sendo este o primeiro registro da ocorrência de cotilédone no sexto esternito.

Comprimento dos cotilédones

A maioria das espécies estudadas apresentam cotilédones de comprimentos médio (15 espécies) e curto (13 espécies). Apenas cinco espécies possuem cotilédones extremamente longos (Tab.1). Houve variação entre gêneros nas famílias Philosciidae, Platyarthridae, Trachelipodidae, Bathytropidae e Porcellionidae. A grande maioria das espécies possui os cotilédones dos pereionitos dois e/ou cinco menores que os demais. Em *A. floridana* (quando esta possui oito), os cotilédones laterais dos pereionitos três e quatro também são menores (Fig. 6D).

A família Philosciidae possui variação de comprimento entre gêneros. Os cotilédones pertencentes ao gênero *Benthana*, apresentam comprimento curto, enquanto *Atlantoscia* e *Burmoniscus* apresentam comprimento médio (Tab. I). Dentro da família Platyarthridae, apenas *Trichorhina argentina* Vandel, 1963 diferencia-se das demais por apresentar comprimento médio enquanto as demais possuem comprimento curto (Tab. I). Em Trachelipodidae, *Nagurus cristatus* (Dollfus, 1889) apresenta comprimento curto e *Nagurus nanus* (Budde-Lund, 1908) apresenta médio (Tab. I). *Pudeoniscus birabeni* Vandel, 1963 (Pudeoniscidae) e *Circoniscus* sp. (Scleropactidae) também apresentam comprimento curto (Tab. I). Em Armadillidiidae, ambas espécies do gênero *Armadillium* apresentam comprimento médio, assim como ambas espécies estudadas no gênero *Novamundoniscus* (Dubioniscidae) (Tab. I). As duas espécies do gênero *Neotroponiscus* (Bathytropidae) apresentam variação. *Neotroponiscus daguerri* (Giambiagi de Calabrese, 1939) possui cotilédones de comprimento curto enquanto em *Neotroponiscus carolii* (Arcangeli, 1936) eles são longos (Tab. I). Em Porcellionidae, o padrão de comprimento mais comum é o médio, no entanto, duas das seis espécies estudadas apresentaram comprimentos longos: *Porcellionides pruinosus* (Brandt, 1833) e *Porcellio laevis* (Tab. I). Em Balloniscidae, *Balloniscus* apresenta cotilédones longos (Tab. I). Não foi possível estimar o comprimento dos cotilédones de *L. denticulata*, por seus cotilédones não terem sido extraídos por ser esta o único exemplar da Coleção Científica da UFRGS. *Hemilepistus klugii* (Brandt, 1833) e *Armadilloniscus* sp. também não tiveram o comprimento de seus cotilédones estimados devido as fêmeas estarem em fase pós-ovígera (quando as manca já foram liberadas mas o marsúpio e os cotilédones permanecem, sendo que os cotilédones podem estar com o comprimento alterado (Hoese e Janssen 1989)).

Discussão

Variações quanto a forma, comprimento, número e distribuição dos cotilédones, entre famílias, gêneros, espécies e uma variação intraespecífica foram registradas neste estudo. O que mais chama a atenção foi a variação intraespecífica registrada em *A. floridana* (Philosciidae), e as variações interespecíficas, encontradas dentro do gênero *Porcellio* (Porcellionidae) assim como dentro do gênero *Novamundoniscus* (Dubioniscidae). Essas três famílias que comportam as mais curiosas variações são parafiléticas (Schmidt, 2008).

Dentro da família Philosciidae, foram encontrados três diferentes padrões para as espécies estudadas. *Benthana* e *Burmoniscus* apresentam o “padrão básico”, enquanto *Atlantoscia* tem oito cotilédones, distribuídos 1:3:3:1 a partir do segundo esternito. Lewis (1991) aponta uma espécie de Philosciidae com oito cotilédones, no entanto, o padrão difere do descrito acima, sendo 2:2:2:2 do segundo ao quinto esternito. Em *A. floridana*, foi registrada variação intraespecífica. As populações coletadas em dois estados brasileiros (SP e RS) apresentaram além do padrão citado para o gênero, o “padrão básico” encontrado em *Benthana*. Até o momento não há subsídios que justifiquem essa variação, a qual merece maiores estudos para que nos permita, futuramente, uma melhor avaliação do caso. O outro gênero que apresenta distribuição diferente é *Littorophiloscia*, sendo 1:3:3:2 do 2-5 esternito.

Em Porcellionidae, *Porcellio* spp e *Porcellionides* spp possuem apenas quatro cotilédones, porém, *P. laevis* apresentou um padrão totalmente diferenciado dos demais, ao portar cotilédones extremamente longos e em grande número, assemelhando-se aos da família Balloniscidae. Esse fato pode vir a corroborar com o proposto por Schmalfuss (1989), onde *P. laevis* não faria parte da mesma linhagem filogenética de *Porcellio*, os quais teriam sido agrupados por semelhanças convergentes, mas constituiriam um agrupamento polifilético ou

parafilético. Estudos registram que *P. laevis* é menos resistente a perda de água que *Porcellionides pruinosus* (Quinlan e Hadley 1983, Nair e Nair 1985), assim o número mais elevado de cotilédones poderia proporcionar a prole maior obtenção de fluido no interior do marsúpio, visto que apesar de habitar locais secos, a espécie apresenta menor tolerância/resistência a este clima. Hoese e Janssen (1989) apontam que espécies encontradas em ambientes mais úmidos apresentam cotilédones longos. O grande número e o comprimento longo de seus cotilédones poderiam indicar ser esta uma adaptação para compensar a maior sensibilidade à dessecação ao habitar locais mais agressivos, sendo esta uma espécie não tão xérica como as demais espécies de seu gênero.

Em Dubioniscidae, *N. meridionalis* além de apresentar diferença no formato de seus cotilédones, ainda possui um cotilédone a mais iniciando sua distribuição desde o primeiro esternito, enquanto *N. gracilis* apresenta quatro cotilédones, um cotilédone central para cada esternito do 2-5, sendo este o padrão mais comum registrado neste estudo. Esse também foi o padrão registrado por Lewis (1991) para a maioria das espécies coletadas na Austrália, sendo considerado pela autora como “padrão básico”.

Esse padrão de número e distribuição foi encontrado tanto em espécies das famílias consideradas mais basais, como Philosciidae (Schmidt 2008), quanto em espécies mais derivadas, como Agnaridae, Porcellionidae e Armaddilidiidae (Schmidt 2008) as quais possuem uma série de adaptações, tanto comportamentais quanto morfológicas, para habitarem com sucesso regiões xéricas (Edney 1951, White e Zar 1968, Schmalfuss 1984, Leistikow e Araujo 2001, Schmidt e Wägele 2001) que seriam letais para espécies de famílias mais basais (Greenaway e Warburg 1998, Nair *et al.* 2003). Lewis (1991) enfatiza que espécies mais derivadas e com preferência por habitats mais xéricos, apresentam maior número de cotilédones. Entretanto, o número de

cotilédones parece, neste estudo, não apresentar relação com habitat. Todavia, deve ser considerada a possibilidade de variação geográfica interespecífica, visto que Lewis (1991) registrou para *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) a presença de dez cotilédones enquanto, neste estudo, a espécie apresenta apenas quatro assim como a outra espécie do gênero, *A. nasatum*.

Essas variações morfológicas existentes entre as espécies, podem estar relacionadas à questões filogenéticas e/ou, diferentes estratégias para manutenção da prole em desenvolvimento.

Referências bibliográficas

- Akahira, Y. 1956. The function of thoracic processes found in females of the common woodlouse, *Porcellio scaber*. *Journal Faculty of Science*. Hokkaido University. 12:493-498.
- Araujo, P.B. e Bond-Buckup, G. 2004. Growth curve of *Atlantoscia floridana* (van Name) (Crustacea, Isopoda, Philosciidae) in a Brazilian restinga forest. *Revista Brasileira de Zoologia*. 21(1):1-8.
- Cannon, L.R.G. e Sewell, K.B. 1995. Craspedellinae Baer, 1931 (Platyhelminthes: Temnocephalida) ectosymbionts from the branchial chamber of Australian crayfish (Crustacea: Parastacidae). *Memoirs of the Queensland Museu*. 38: 397-418
- Edney, E.B. 1951. The evaporation of water from woodlice and the millipede *Glomeris*. *Journal of Experimental Biology* 28:91-115.
- Greenaway, P. and Warburg, M.R. 1998. Water fluxes in terrestrial isopods. *Israel Journal of Zoology* 44: 473-486.
- Hoese, B. 1984. The marsupium in terrestrial isopods. *Symposium of the zoological Society of London*. 53:65-76.
- Hoese, B. e Janssen, H.H. 1989. Morphological and physiological studies on the marsupium in terrestrial isopods. *Monitore zoológico italiano (N.S.) Monografia* 4:153-173.
- Humason, G.L. 1972. *Animal tissue techniques*, 641p. W. H. Freeman and Company, San Francisco, CA, USA.
- Leistikow, A. e Araujo, P.B. 2001. Morphology of respiratory organs in South American Oniscidea ('Philosciidae'), p. 329-336. In: B. Kensley & R. Brusca (Ed.). *Isopod systematics and evolution*. Rotterdam, Balkema, 357p.

- Lewis, F. 1991. The relationship between broodpouch cotyledons, aridity and advancement. *Biology of terrestrial isopods Third International Symposium*. 104:81-88.
- Lewis, F. 1998. Oniscidea (Isopoda) from Lord Howe Island. *Crustaceana* 71(7):743-777.
- Mead, F. e Gabouriaut, D. 1988. Influence du groupement sur la formation du marsupium et la production des jeunes chez *Helleria brevicornis* (Ebner) (Isopoda, Oniscoidea, Tylidae). *Crustaceana* 54 :245-255.
- Nair, G.A. e Nair, N.B. 1985. Transpiration rates and acclimation to water and temperature of the tropical woodlice, *Porcellionides pruinosus* Brandt and *Porcellio laevis* Latreille. *Procigans Indian Academic Science* 94(5): 469-474.
- Nair, G.A.; Chalan R.V.; Mohamed, A.I. e Haeba, M.H. 2003. Cuticular transpiration in woodlice (Isopoda, Oniscidea) inhabiting Benghazi, Libya. *African Journal of Ecology* 41: 283-286.
- Patane, L. 1940. Sull struttura e la funzione del marsupio di *Porcellio laevis* Latreille. *Archivio Zoologico Italiano* 28: 271-296.
- Quinlan, M.C. e Hadley, N.F. 1983. Water relations of the terrestrial isopods *Porcellio laevis* and *Porcellionides pruinosus* (Crustacea, Oniscoidea). *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 151(2): 155-161.
- Schmalfuss, H. 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. *Symposia of the Zoological Society of London* 53: 49-63.
- Schmalfuss, H. 1989. Phylogenetics in Oniscoidea. In Ferrara, F. ; Argano, R. ; Manicastro, C. ; Schmalfuss, H. e Taiti, S. (Eds.): Proceedings of the Second Symposium on the Biology of Terrestrial Isopods. *Monitore Zoologico Italiano* 4, pp.3-27.

- Schmidt, C. e Wägele, J.W. 2001. Morphology and evolution of respiratory structures in the pleopod exopodites of terrestrial Isopoda (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Acta Zoologica* 82: 315-330.
- Schmidt, C. 2008. Phylogeny of the terrestrial isopoda (Oniscidea): a Review. *Arthropod Systematics & Phylogeny* 66 (2): 191 – 226.
- Suzuki, S. e Yamasaki, K. 1989. Ovarian control of oostegite formation in *Armadillidium vulgare* (Crustacea, Isopoda). *Zoological Science* 6: 11-32.
- Warburg, M.R. 1987. Isopods and their terrestrial environment. *Advances in Ecological Research* 17: 187-242.
- Warburg, M.R. 1993. *Evolutionary biology of land isopods*, 159p. Springer, Heidelberg, Germany.
- Warburg, M.R. 1994. Marsupial contents and losses due to putative intra-marsupial cannibalism by the manca in three oniscid isopod species. *Journal of Crustacean Biology*. 14: 560-567.
- Warburg, M.R. 1994. Review of recent studies on reproduction in terrestrial isopods. *Invertebrate Reproduction and Development* 26:45-62.
- White, J.J. e Zar, J.H. 1968. Relationships between saturation deficit and the survival and distribution of terrestrial isopods. *Ecology* 49(3): 556-559.

Tabela 1. Tamanho relativo, forma e padrão de distribuição dos cotilédones de isópodos terrestres. O tamanho relativo refere-se ao comprimento do cotilédone central do 3º esternito dividido pela largura do cefalotórax da fêmea (média±E.P.).

Família/Espécie	n	Cotilédones			
		Tamanho relativo	Comprimento	Forma	Distribuição
Agnaridae					
<i>Hemilepistus klugii</i>	2	----		I	A
Armadillidae					
<i>Cubaris murina</i>	10	0,78±0,013	Médio	II; III	F
Armadillidiidae					
<i>Armadillidium vulgare</i>	21	0,67±0,019	Médio	I	A
<i>Armadillidium nasatum</i>	51	0,71±0,017	Médio	V	A
Balloniscidae					
<i>Balloniscus glaber</i>	20	1,36±0,042	Longo	I	C
<i>Balloniscus sellowii</i>	65	1,45±0,054	Longo	I	C
Bathytropidae					
<i>Neotroponiscus carolii</i>	2	1,05±0,045	Longo	I	A
<i>Neotroponiscus daguerrii</i>	6	0,60±0,033	Médio	I	A
Detonidae					
<i>Armadilloniscus</i> sp.	1	----		----	A
Dubioniscidae					
<i>Novamundoniscus gracilis</i>	4	0,58±0,034	Médio	I	A
<i>Novamundoniscus meridionalis</i>	3	0,51±0,016	Médio	IV	G
Philosciidae					
<i>Atlantoscia floridana</i>	35	0,62±0,014	Médio	I	A;B
<i>Atlantoscia rubromarginata</i>	2	0,58±0,016	Médio	I	B
<i>Benthana araucariana</i>	3	0,48±0,024	Curto	I	A
<i>Benthana cairensis</i>	20	0,40±0,010	Curto	I	A
<i>Benthana convexa</i>	4	0,24±0,017	Curto	I	A
<i>Benthana longicornis</i>	4	0,36±0,025	Curto	I	A
<i>Benthana longipenis</i>	4	0,35±0,026	Curto	I	A
<i>Benthana picta</i>	4	---		I	A
<i>Benthana taeniata</i>	9	0,36±0,017	Curto	I	A
<i>Benthana itaipuensis</i>	8	0,25±0,028	Curto	I	A

<i>Burmoniscus meeusei</i>	10	0,55±0,024	Médio	I	A
<i>Littorophiloscia denticulata</i>	1	----		I	D
Platyarthridae					
<i>Trichorhina acuta</i>	8	0,42±0,040	Curto	I	A
<i>Trichorhina argentina</i>	4	0,65±0,115	Médio	I	A
<i>Trichorhina heterophthalma</i>	3	0,23±0,007	Curto	I	A
<i>Trichorhina tomentosa</i>	2	0,32±0,023	Curto	I	A
Porcellionidae					
<i>Agabiformius lentus</i>	5	0,57±0,040	Médio	I	A
<i>Porcellio dilatatus</i>	22	0,86±0,023	Médio	I; II	A
<i>Porcellio laevis</i>	6	1,15±0,020	Longo	I	E
<i>Porcellio scaber</i>	15	0,55±0,019	Médio	I	A
<i>Porcellionides pruinosus</i>	13	1,09±0,086	Longo	I	A
<i>Porcellionides sexfasciatus</i>	8	0,75±0,018	Médio	I	A
Pudeoniscidae					
<i>Pudeoniscus birabeni</i>	2	0,40±0,057	Curto	I	A
Scleropactidae					
<i>Circoniscus</i> sp.	2	0,41±0,029	Curto	VI	A
Trachelipodidae					
<i>Nagurus cristatus</i>	4	0,32±0,019	Curto	I	A
<i>Nagurus nanus</i>	5	0,51±0,012	Médio	I	A

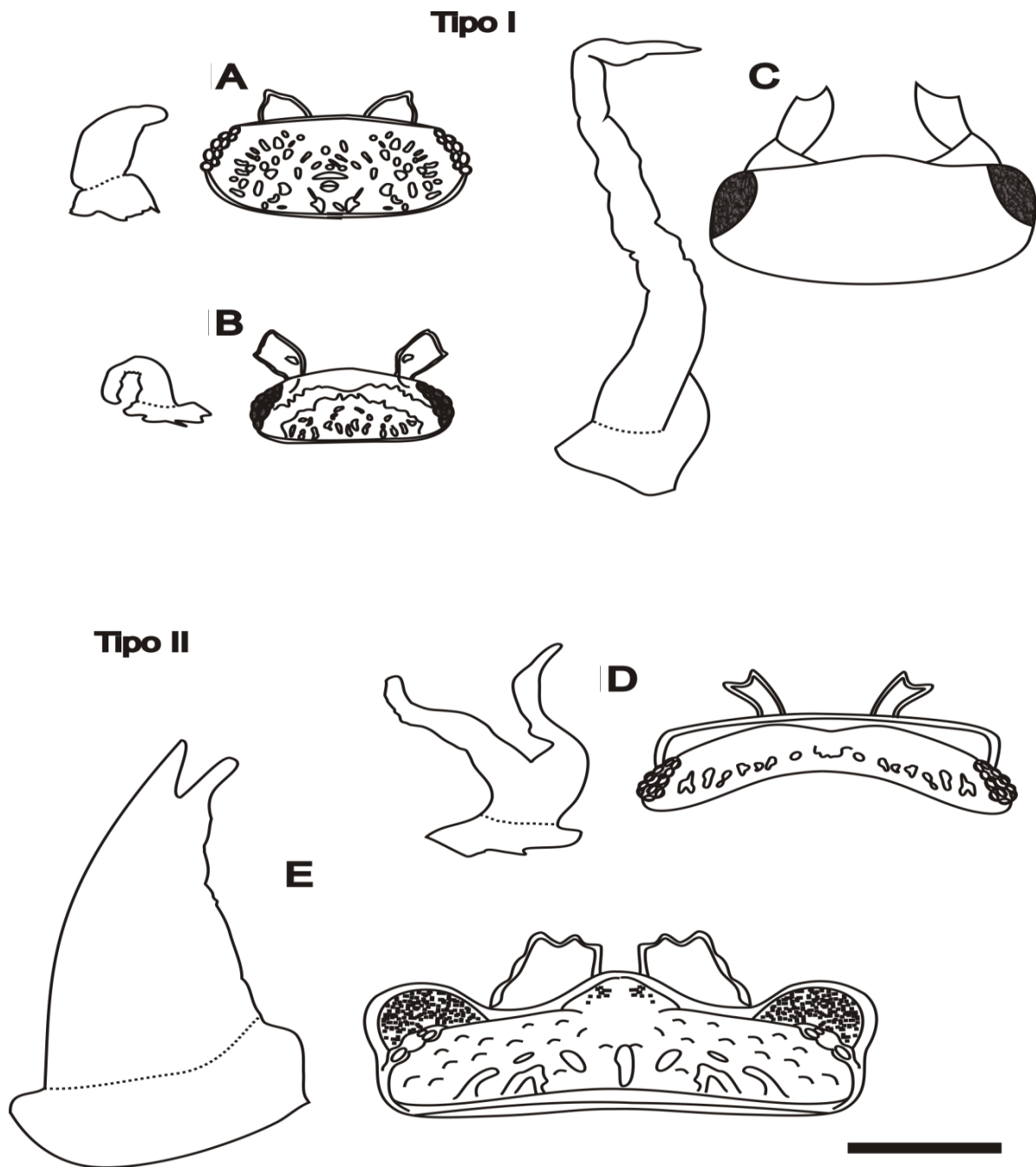


Figura 1 A-E. Ilustração dos formatos de cotilédones encontrados em isópodos terrestres. Ao lado direito do cotilédone, está a cabeça da espécie representada. A-C. Tipo I. Formato cônico. A. Curto, lembrando uma vírgula. Ilustração do cotilédone de *Benthana cairensis*. B. Médio, ilustrado a partir do cotilédone de *Atlantoscia floridana*. C. Longo, aqui representado por *Balloniscus sellowii*. D-E. Tipo II. Fendido. D. Fenda atingindo região mediana do cotilédone encontrado nos cotilédones de *Cubaris murina* localizados no segundo esternito. E. *Porcellio dilatatus*, apresentando ápice do cotilédone fendido. Escala: 1 mm.

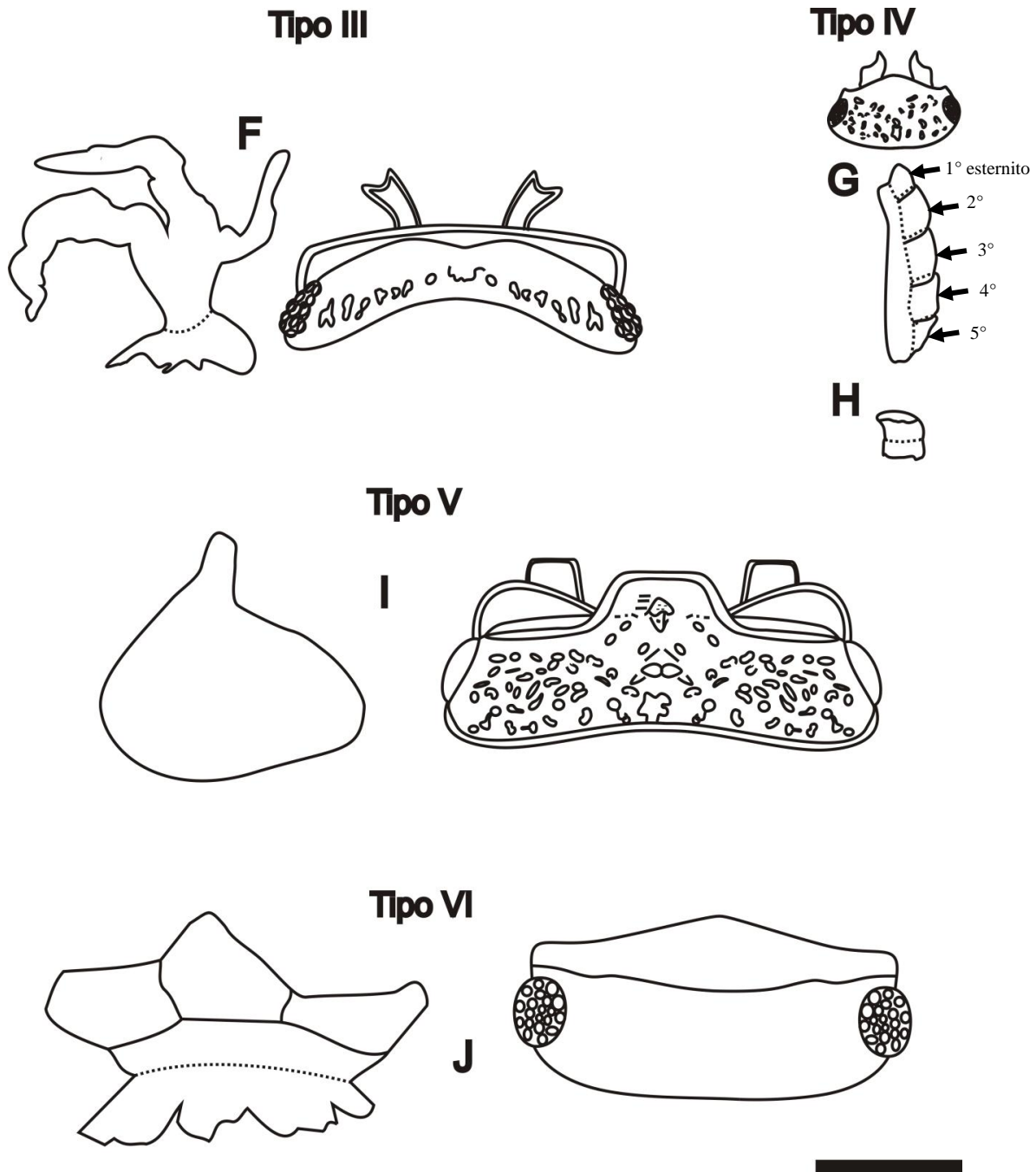


Figura 1 F-J. Formatos de cotilédones encontrados em isópodos terrestres. Ao lado direito do cotilédone, está a cabeça da espécie representada, à exceção do Tipo IV onde esta se encontra acima. F. Tipo III. Bifendido, encontrado em *C. murina* nos esternitos 3-5. G-H. Tipo IV. Retangular. G. Setas indicando os cinco cotilédones de *Novamundoniscus meridionalis*, em vista lateral. H. Cotilédone do 2° esternito de *N. meridionalis*. I. Tipo V. Elíptico, encontrado em *Armadillidium nasatum*. J. Tricúspide, encontrado em *Cirroniscus* sp. Escala: 1 mm.

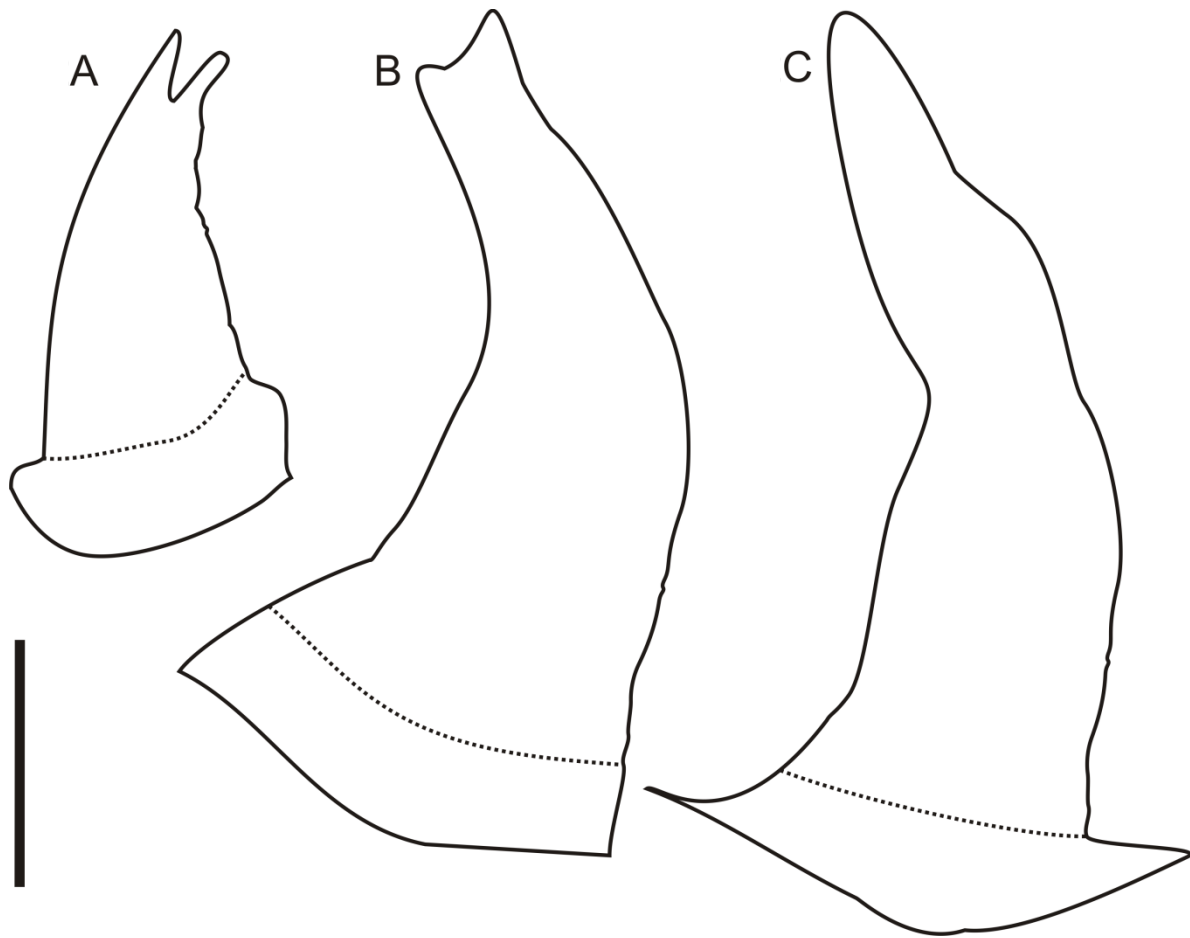


Figura 2. Ilustração dos cotilédones de *Porcellio dilatatus* em diferentes fases de desenvolvimento intramarsupial. A. Ápice fendido, registrado em fêmeas que portavam ovos. B. Ápice côncavo, lembrando uma “tromba de elefante”, encontrado em fêmeas com embriões. C. Ápice arredondado, fêmeas com manchas no interior do marsúpio.

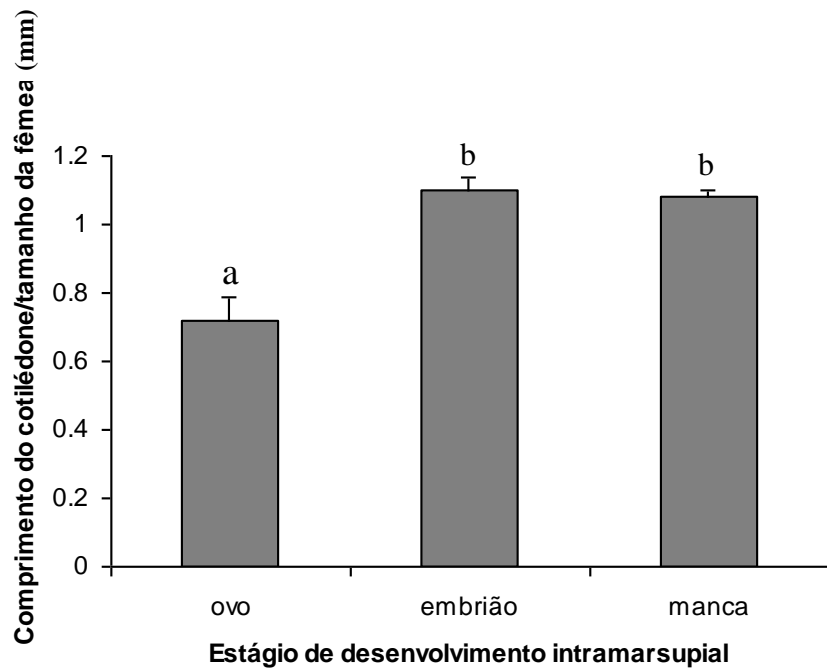


Figura 3. Variação no comprimento dos cotilédones de *Porcellio dilatatus* ao longo do desenvolvimento intramarsupial de sua prole. Comprimento dos cotilédones / cefalotórax da fêmea. Medidas estimadas com base em 20 fêmeas ovígeras portando estágios diferentes de desenvolvimento da prole no interior do marsúpio (fêmeas portando ovos: n = 7, fêmeas com embriões: n = 7 e fêmeas portando mancas: n = 6). Letra diferente indica diferença significativa.

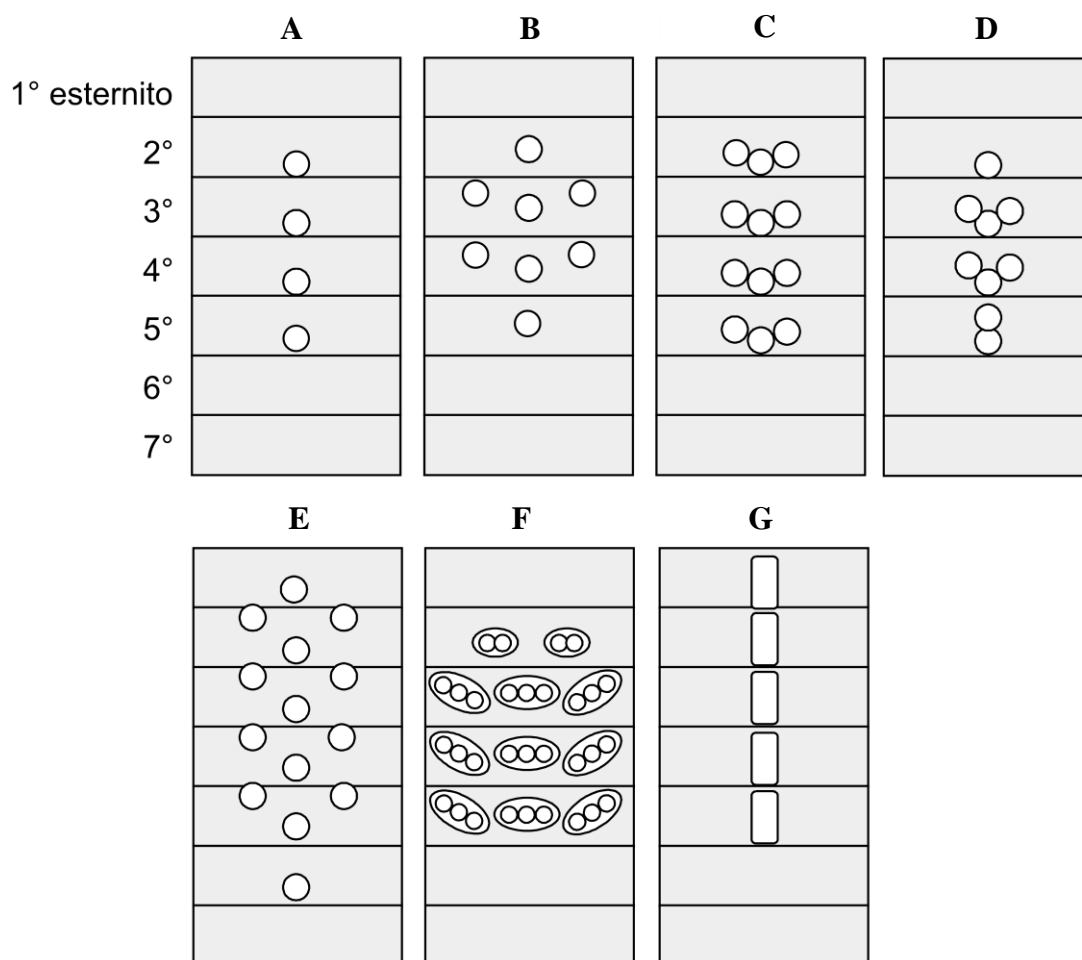


Figura 4. Ilustração dos sete arranjos de distribuição dos cotilédones encontrados em 37 espécies de isópodos terrestres. Cada retângulo representa um esternito e cada círculo indica a inserção dos cotilédones nestes. A – Arranjo mais comum encontrado nas espécies analisadas. B – Arranjo registrado para *Atlantoscia* spp. C – Arranjo encontrado em Balloniscidae. D – Arranjo registrado em uma espécie de Philosciidae, *Littorophiloscia denticulata*. E – Arranjo encontrado em *Porcellio laevis*. F - Arranjo observado em *Cubaris murina*. A base elíptica indica a base dos cotilédones, sendo que os pequenos círculos internos, representam a região apical dos mesmos, uma vez que estes são fendidos ou bifendidos. G – Arranjo registrado para *Novamundoniscus meridionalis*. No arranjo G, a base dos cotilédones diferencia-se das demais por ser retangular.

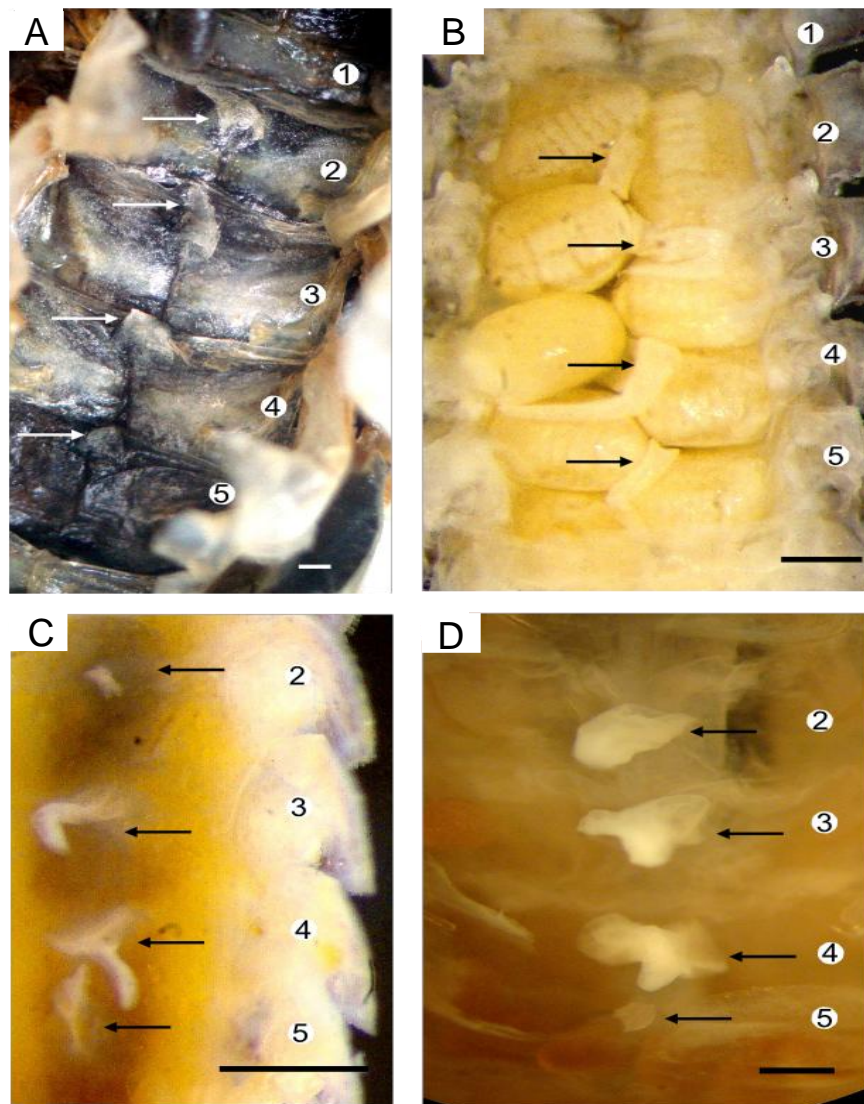


Figura 5. Padrão de distribuição dos cotilédones mais comumente encontrado em isópodos terrestres. A - *Hemilepistus klugii* (Agnaridae); B. *Neotroponiscus carolii* (Bathytropidae); C. *Trichorhina acuta* (Platyarthridae); D. *Armadillidium nasatum* (Armadillidiidae). Cada seta indica um cotilédone e os números nos círculos indicam o pereionito no qual eles estão inseridos. Escala: 0,5 mm.

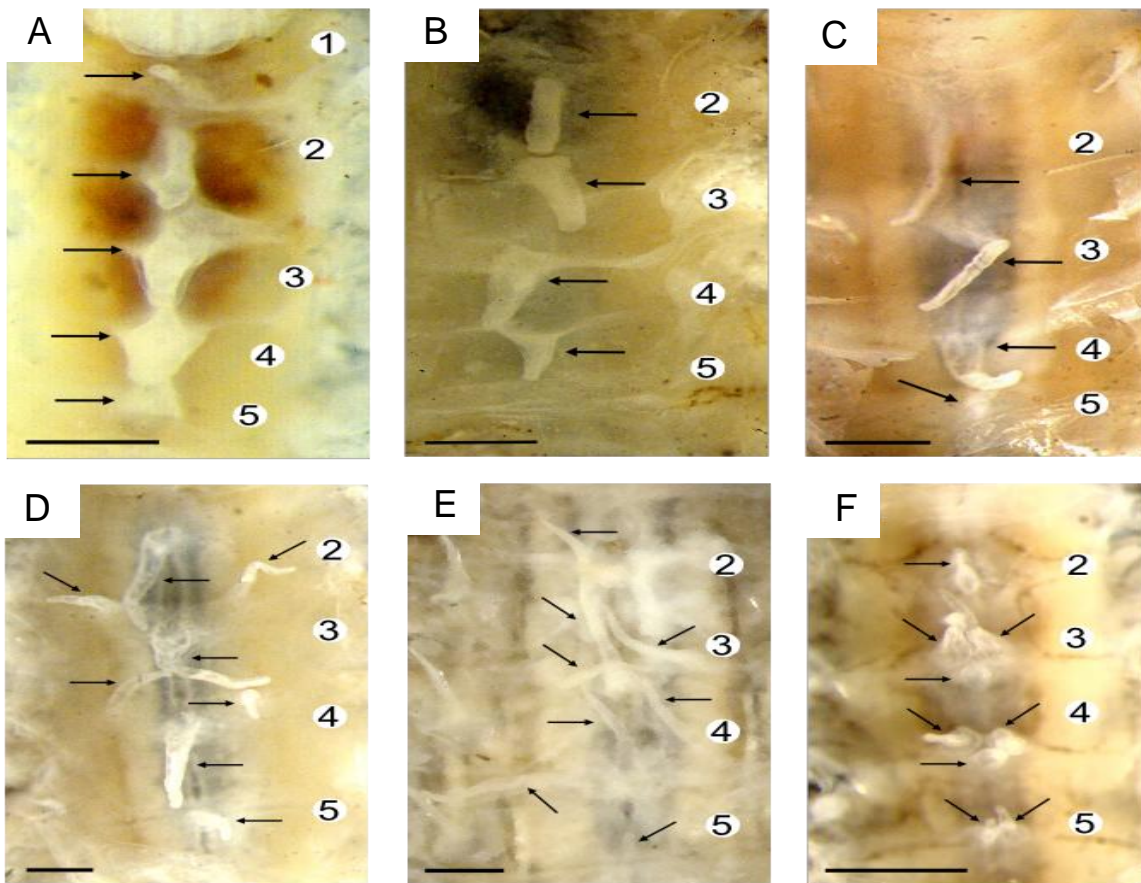


Figura 6. Variação interespecífica e intraespecífica no número de cotilédones de isópodos terrestres. A – *Novamundoniscus meridionalis*, um Dubioniscidae com cinco cotilédones; B – *Benthana longicornis* (Philosciidae); C – *Atlantoscia floridana* com quatro cotilédones (Philosciidae); D – *A. floridana* com oito cotilédones; E – *A. rubromarginata* e F – *Littorophiloscia denticulata* (Philosciidae). Cada seta indica um cotilédone e os números nos círculos indicam o pereonito no qual eles estão inseridos. Escala: 0,5 mm.

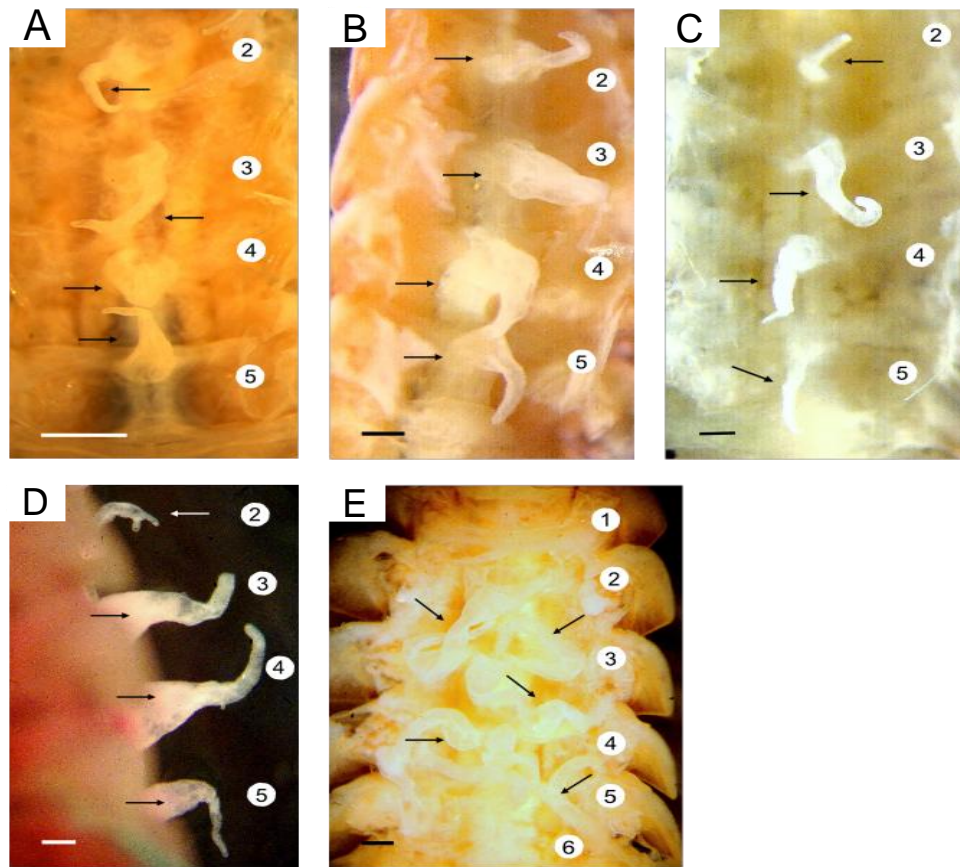


Figura 7. Variação nos cotilédones de isópodos terrestres da família Porcellionidae. A. *Porcellio scaber*; B. *Porcellionides sexfasciatus*; C. *Porcellionides pruinosus*; D. Vista lateral de *Porcellio dilatatus*, mostrando o primeiro cotilédone bifurcado na extremidade (seta branca); E. *Porcellio laevis* com 14 cotilédones, distribuídos nos pereionitos 1-6 (apenas alguns estão indicados). Cada seta indica um cotilédone e os números nos círculos indicam o pereionito no qual eles estão inseridos. Escala: 0,5 mm.

Capítulo II

Cotilédones dos isópodos terrestres (Peracarida, Oniscidea).

Parte II. Regressão.

Resumo.....	56
Abstract.....	57
Introdução.....	58
Material e métodos.....	60
Resultados.....	63
Discussão.....	64
Referências bibliográficas.....	68
Figuras e tabelas.....	71

Artigo a ser submetido a Acta Zoologica (Estocolmo).

Cotilédones dos isópodos terrestres (Peracarida, Oniscidea).

Parte II. Regressão.

Carina Appel¹, Aline F. Quadros² and Paula B. Araujo¹

1 - Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Avenida Bento Gonçalves, 9500, prédio 43435, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mails: carinaappel@yahoo.com.br, bioaline@gmail.com, pabearaujo@gmail.com

2. Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), Parque Tecnológico Itaipu (PTI). Avenida Tancredo Neves, 6731, Caixa Postal: 2044. Foz do Iguaçu, PR, Brasil, CEP: 85856-970.

Resumo

Appel C., Quadros A.F. and Araujo P.B. 2010. Cotilédones dos isópodos terrestres (Peracarida, Oniscidea). Parte II. Regressão. Acta Zoológica (Stockholm).

Cotilédones são estruturas temporárias que surgem durante o período reprodutivo nos isópodos terrestres. Apresentam-se como extensões da cutícula do assoalho ventral sendo responsáveis pela manutenção da prole no interior do marsúpio, podendo variar em forma, posição e número entre espécies, e antes da liberação das manca podem regredir em tamanho. Neste estudo foram comparados os comprimentos dos cotilédones conforme o desenvolvimento embrionário de *Benthana cairensis*, *Balloniscus sellowii*, *Porcellio scaber*, *Armadillidium nasatum* e *A. vulgare*. Em *B. sellowii* e *A. vulgare* o comprimento dos cotilédones é proporcional ao tamanho da fêmea. Em *B. cairensis* e *A. vulgare* não há diferença no comprimento dos cotilédones durante os estágios embrionários o que foi evidenciado nas demais espécies, onde em *B. sellowii* e *P.*

scaber apresentam aumento da fase de ovo para embrião, diminuindo na fase de manca. Já *A. nasatum* aumenta gradualmente até a fase de manca, onde regride drasticamente. Cotilédones são exclusivos de Crinocheta, onde encontramos espécies mais adaptadas ao ambiente terrestre, e possivelmente a regressão seja uma estratégia para evitar a dessecação. Contudo, a variação em *B. cairensis* e *A. vulgare* pode estar relacionada a diferentes estratégias reprodutivas, as quais devem contribuir para determinar o padrão de desenvolvimento dos cotilédones.

Carina Appel, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Avenida Bento Gonçalves, 9500, prédio 43435, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: carinaappel@yahoo.com.br

Abstract

Appel C., Quadros A.F. and Araujo P.B. 2010. Cotilédones dos isópodos terrestres (Peracarida, Oniscidea). Parte II. Regressão. Acta Zoologica (Stockholm).

Cotyledons are temporary structures that arise during the reproductive period in terrestrial isopods. They appear as extensions of the cuticle of the ventral floor, being responsible for maintaining the brood within the pouch, and they may differ in shape, position and number in different species, and before the release of the mancas they may regress in size. This study compared the lengths of the cotyledons according to the embryo development of *Benthana cairensis*, *Balloniscus sellowii*, *Porcellio scaber*, *Armadillidium nasatum* and *A. vulgare*. In *B. sellowii* and *A. vulgare* cotyledon length is proportional to female size. In *B. cairensis* and *A. vulgare* there is no difference in the length of the cotyledons during the embryonic stages which was evidenced in the other species, where *B. sellowii* and *P. scaber* show increased egg stage to the embryo, decreasing during the mancas stage. *A. nasatum*, however gradually increases until the phase of manca, and then regresses dramatically. Cotyledons are exclusive Crinocheta, where we found more adapted species to the terrestrial environment, and we might possibly state that regression is a strategy to avoid desiccation. However, the variation in *B. cairensis* and *A. vulgare*

may be related to different reproductive strategies, which should help determine the developmental pattern of cotyledons.

Carina Appel, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Avenida Bento Gonçalves, 9500, prédio 43435, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: carinaappel@yahoo.com.br

Introdução

Os isópodos terrestres mais derivados, pertencentes ao grupo Crinocheta (Schmidt 2008), apresentam estruturas exclusivas, chamadas cotilédones, as quais estão envolvidas diretamente na manutenção da prole em desenvolvimento no interior do marsúpio (Hoese e Janssen 1989). O marsúpio é formado durante o período reprodutivo da fêmea, onde cinco pares de oostegitos surgem próximos aos pereiópodos 2-5 (Mead e Gabouriaut 1988, Suzuki e Yamasaki 1989) e se projetam em direção ao centro do corpo da fêmea, imbricando-se, formando assim uma bolsa fechada (Patane 1940, Hoese 1984). Logo após a fertilização, os ovos passam pelo oviduto, saindo pelo poro genital o qual está localizado na base da coxa do terceiro pereiópodo, no interior do marsúpio (Sutton 1980). Wolff (2009) e Milatovič *et al.* (2010) descrevem 20 etapas para o desenvolvimento intramarsupial de *Porcelio scaber* Latreille, 1804. Inicialmente os ovos apresentam-se como uma massa globular de vitelo protegidos por uma membrana (Sutton 1980, Milatovič *et al.* 2010). Na fase de embrião, os mesmos permanecem envoltos pela membrana vitelina mas, já é possível a visualização da segmentação do corpo do isópodo, dos olhos e projeções dos apêndices (Ouyang e Wright 2005). Após a ruptura da membrana, a fase passa a ser considerada de manca (Ouyang e Wright 2005).

Para nutrir e oxigenar a prole em desenvolvimento, os cotilédones surgem como extensões do tegumento do assoalho ventral (Hoese e Janssen 1989). Segundo Appel *et al.* (em preparação) os cotilédones apresentam formato, comprimento, número e arranjos variados, dependendo da espécie. Até o momento foram registrados seis formatos de cotilédones com comprimentos que podem variar entre curto ($<0,5$ vezes a largura do cefalotórax da fêmea), médio (<1 vez a largura do cefalotórax da fêmea) e longo (>1 vez a largura do cefalotórax da fêmea) (Appel *et al.* em preparação). Quanto ao número, eles variam de quatro a 28 cotilédones por fêmea (Lewis 1991) e podem estar distribuídos desde o 1° até o 6° esternito (Appel *et al.* (em preparação)), sendo que o arranjo mais comum é do 2° ao 5° esternito (Lewis 1991, Appel *et al.* (em preparação)). De acordo com Hoese e Janssen (1989), essa variação pode ter relação com a umidade do ambiente. Lewis (1991) acrescenta que o número de cotilédones é maior quando as espécies pertencem a habitats mais áridos.

Além da variação em número e posição entre diferentes espécies, cotilédones de uma mesma fêmea podem variar de tamanho ao longo do desenvolvimento da prole (Hoese e Janssen 1989, Appel *et al.* (em preparação)). As fêmeas ovígeras apresentam grande quantidade de tecido adiposo armazenado (Hoese e Janssen 1989) e células produtoras de muco (Akahira 1956), preenchendo os cotilédones juntamente com a hemolinfa (Hoese and Janssen 1989). Ao final do período marsupial essas células perdem as substâncias de reserva e em algumas espécies como, *Oniscus asellus* Linnaeus, 1758 e *Porcellio scaber*, existe considerável regressão no comprimento dos cotilédones, pouco antes da liberação das manca visto que, a permanência dos mesmos poderia causar a morte da fêmea por dessecação (Hoese e Janssen 1989).

Apesar da regressão desta estrutura ter sido citada por Hoese e Janssen (1989) ainda não houve um estudo que evidencie tal acontecimento, que é sem dúvida uma grande adaptação ao

ambiente terrestre. Assim, o presente estudo compara o comprimento dos cotilédones a fatores que podem ou não influenciá-lo: tamanho da fêmea e estágio de desenvolvimento intramarsupial, buscando responder às seguintes perguntas: (i) Ocorre um padrão no comprimento dos cotilédones nos pereionitos? (ii) Há relação entre o tamanho da fêmea, o estágio de desenvolvimento embrionário e o comprimento dos cotilédones? (iii) As espécies estudadas apresentam regressão dos cotilédones próximo ao nascimento dos filhotes? (iiii) Caso esta não ocorra, qual é o tempo de intermuda? Para estas análises utilizou-se fêmeas ovígeras de espécies nativas da região neotropical, *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940), *Benthana cairensis* Sokolowicz, Boelter & Araujo, 2008 e *Balloniscus sellowii* (Brandt, 1833), assim como espécies introduzidas, *Armadillidium nasatum* Budde-Lund, 1885, *A. vulgare* (Latreille, 1804) e *P. scaber*, a fim de comparar possíveis variações.

Material e métodos:

Coletas

Foram coletadas fêmeas ovígeras de *Atlantoscia floridana* (Philosciidae) (n=20), *B. cairensis* (Philosciidae) (n=20), *B. sellowii* (Balloniscidae) (n=65), *A. nasatum* (n=50), *A. vulgare* (n=20) e *P. scaber* (Porcellionidae) (n=15). Estas fêmeas foram obtidas em áreas urbanas nas localidades de Bom Jesus, Caxias do Sul, Viamão, Taquara e Porto Alegre (Rio Grande do Sul) assim como em Bom Retiro (Santa Catarina) região sul do Brasil.

Trabalho em laboratório

Os espécimes foram fixados e corados em Dubosc (Humason 1972) com Rosa de Bengala, por no mínimo 48 horas. A largura do cefalotórax foi medida, como estimativa do

tamanho (Sutton 1968, Araujo e Bond-Buckup 2004). O conteúdo do marsúpio foi classificado em até quatro estágios conforme Milatovič *et al.* (2010) sendo eles, ovo (estágio 1-8) embrião (estágio 9-18 onde apêndices, olhos e segmentação estão visíveis no interior da membrana vitelina), manca (estágio 19, onde isópodo já está livre da membrana), manca final (estágio 20, pouco antes da liberação do marsúpio) e quantificado. Fêmeas apresentando marsúpio vazio foram consideradas como pós-ovígeras. Após, as fêmeas foram dissecadas, os cotilédones extraídos, preparados em lâminas permanentes com meio de De Faure's (Cannon e Sewell 1995), para em seguida serem medidos sob microscópio estereoscópico.

Para verificar se ocorre a regressão dos cotilédones após o nascimento das mancas, fêmeas ovígeras foram trazidas ao laboratório, separadas em placas de petri, e mantidas na estufa em temperatura controlada ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$) onde permaneceram até o nascimento das mancas. As fêmeas, neste caso, pós-ovígeras, foram fixadas e medidas conforme procedimento mencionado.

Para estimar o tempo de intermuda após a liberação das mancas, dez fêmeas ovígeras de cada espécie foram separadas e mantidas em placas de petri, em temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$. O nascimento das mancas e a ecdise de cada fêmea foram monitorados.

Análises estatísticas

Para verificar se existe diferença entre o comprimento dos cotilédones de acordo com o pereionito no qual estão inseridos, primeiramente se dividiu o valor do comprimento do cotilédone pela largura do cefalotórax da fêmea, esta medida relativa do comprimento dos cotilédones foi utilizada nas análises a seguir. Estes valores foram agrupados por pereionito (2, 3, 4 e 5) e comparados através de Análise da Variância (ANOVA), com teste *a posteriori* de Tukey. Não foi possível realizar este teste para *P. scaber* pois grande parte das fêmeas obtidas

encontravam-se no final do desenvolvimento embrionário, S20 (Milatovič *et al.* 2010), tendo seus cotilédones já regredidos.

O estudo da relação entre o comprimento dos cotilédones, o tamanho da fêmea e o estágio de desenvolvimento intramarsupial, foi realizado utilizando *B. sellowii* e *A. vulgare*. Visto que foi observada variação no tamanho entre cotilédones de um mesmo pereionito, assim como entre os pereionitos de *B. sellowii* (o qual possui 12 cotilédones, três por pereionito 2-5, sendo um central e os dois laterais), e observando-se diferença no comprimento dos cotilédones entre os pereionitos de *A. vulgare* (o qual possui 4 cotilédones, 1 por pereionito 2-5 sempre centrais) optou-se por utilizar apenas o valor de comprimento dos cotilédones localizados nos pereionitos centrais e somente os que não apresentaram diferença significativa em tamanho, quando comparados entre si.

A análise da variância foi utilizada para verificar se o comprimento do cotilédone muda de acordo com o estágio de desenvolvimento intramarsupial, incluindo o estágio pós-ovigero das fêmeas que, aparentemente, não apresentaram regressão.

Para verificar se existe relação entre o comprimento dos cotilédones e o tamanho da fêmea, de *B. sellowii* e *A. vulgare*, foi utilizada uma análise de regressão, sendo o comprimento do cotilédone a variável dependente e a largura do cefalotórax da fêmea a variável independente, para este estudo foram utilizados fêmeas pertencentes a estágios de desenvolvimento intramarsupial que não apresentaram variação significativa no teste realizado anteriormente.

A duração do período de intermuda das fêmeas pós-ovigeras que não apresentaram aparente regressão dos cotilédones, foi estimado através da média obtida dos espécimes analisados.

Resultados

As espécies estudadas apresentam variação no número, posição e comprimento dos cotilédones. *Balloniscus sellowii* apresenta cotilédones mais longos, e em maior número (12 cotilédones) que as outras espécies. Com exceção de *A. floridana* que possui oito, as demais possuem quatro. O comprimento dos cotilédones varia de acordo com o pereionito no qual estão inseridos em *A. floridana*, *B. sellowii*, *A. vulgare* e *A. nasatum* (Tab. I). Em *B. cairensis* os cotilédones dos quatro pereionitos não diferem em tamanho (ANOVA $F_{3,38}=1,1667$; $p=0,33$). Em *B. sellowii*, os cotilédones do pereionito 2 são mais curtos do que os demais (ANOVA $F_{3,185}=11,2$; $p<0,0001$ seguido de Tukey, $p<0,01$). Em *A. floridana* e *A. vulgare* o cotilédone do 5º pereionito é mais curto que os demais, (ANOVA $F_{3,55}= 17,5531$, $p<0,0001$ seguido de Tukey, $p<0,01$) (ANOVA $F_{3,41}=4,8653$; $p<0,005$ seguido de Tukey, $p<0,01$) respectivamente. *Armadillidium nasatum* apresenta diferença nos pereionitos dois e cinco, sendo estes sempre menores com relação aos demais (ANOVA $F_{3,52}= 34,9259$; $p<0,0001$, seguido de Tukey, $p<0,01$).

Armadillidium nasatum apresenta regressão drástica dos cotilédones (ANOVA $F_{3,40}=25,5471$; $p<0,0001$ seguido de Tukey, $p <0,01$). De acordo com as fêmeas analisadas em diferentes estágios da prole, parece haver um crescimento gradual ao longo do desenvolvimento embrionário e pouco tempo antes da liberação das manca do marsúpio, os cotilédones regridem em cerca de 80% seu tamanho (Fig.1A), chegando a média de 0,15 vezes o tamanho da fêmea ou em alguns casos, somente “cicatrices” foram observadas. Em *Porcellio scaber*, os cotilédones também sofrem regressão (ANOVA $F_{2,10}=61,929$; $p<0,0001$, seguido de Tukey, $p<0,01$) (Fig.1B) uma vez que durante a fase inicial do período ovígero apresentam-se longos, chegando a ultrapassar o volume da massa de ovos (Fig. 2A). O crescimento segue até a fase seguinte (embrião) (Fig. 2B), sendo que durante a última fase de desenvolvimento intramarsupial, eles

regridem tornando-se quase imperceptíveis (Fig. 2C). Em *B. sellowii* a regressão é menos evidente, uma vez que os cotilédones não reduzem na mesma proporção que as espécies anteriores. Há variação significativa ao longo das fases (ANOVA $F_{3,146}=11.94$; $p<0.0001$ seguido de teste de Tukey) cerca de 12% para cada uma. Com base na comparação de fêmeas em diferentes estágios de desenvolvimento intramarsupial, observou-se que os cotilédones são, em média, maiores na fase de embrião podendo esta ser considerada como o auge do crescimento dos mesmos, visto que na fase de manca observou-se uma diminuição no comprimento dos mesmos. Nas fêmeas pós-ovígeras a regressão é maior, cerca de 22% do seu comprimento quando comparado a fase de manca (Fig.1C). *Atlantoscia floridana* e *B. cairensis* não apresentaram diferença entre os estágios de desenvolvimento intramarsupiais (ANOVA $F_{2,15}=0.3858$; $p=0.691$) e (ANOVA $F_{3,48}=0.2733$; $p=0.7656$), assim como *A. vulgare* (ANOVA $F_{2,53}=2.4259$; $p=0.0963$).

O tamanho dos cotilédones é proporcional ao tamanho da fêmea, com relação positiva tanto para *B. sellowii* ($F_{1,25}=31.96$; $p<0.0001$) quanto para *A. vulgare* ($F_{1,24}=33.506$; $p<0.0001$) (Fig.3).

Em *Balloniscus sellowii*, apesar de haver regressão nos cotilédones, estes ainda permanecem longos após a liberação das mancas e a ecdise da fêmea ocorre entre 8 a 13 dias. As fêmeas de cujas espécies não apresentam regressão dos cotilédones, *B. cairensis*, *A. floridana* e *A. vulgare* realizaram a ecdise em dois dias após a liberação das mancas.

Discussão

Alguns autores apontam que a variação existente no número, posição e comprimento dos cotilédones, pode estar associada a caráter taxonômico ou questões filogenéticas, uma vez que ter poucos ou nenhum cotilédone, pode ser considerado como primitivo, visto que ancestrais

marinhos (Lewis 1991) e espécies da linhagem *Synocheta* não os possuem (Vandel 1925). Hoese e Janssen (1989) estabelecem uma correlação dos cotilédones ao habitat da espécie, onde espécies com preferência por locais mais úmidos possuem cotilédones mais longos (*Philoscia muscorum* (Scopoli, 1763) e *O. asellus*) enquanto que espécies melhor adaptadas a locais mais áridos (*Hemilepistus aphganicus* Borutzky, 1958, *H. reaumuri* Milne- Edwards, 1840 e *Armadillo ausseli* Dollfus, 1893) sobrevivem e obtêm sucesso reprodutivo com poucos cotilédones e estes em menor tamanho. No entanto para as espécies estudadas não parece existir relação entre número e comprimento dos cotilédones e o habitat das mesmas. As espécies foram coletadas em regiões muito próximas sendo que algumas (*A. floridana*, *B. sellowii*, *A. nasatum* e *A. vulgare*) vivendo em simpatria. *Benthana cairensis*, *A. nasatum* e *A. vulgare* possuem apenas quatro cotilédones curtos e, no entanto a primeira espécie, nativa da região sul do Brasil, não habita com sucesso ambientes xéricos, sendo sua família (Philosciidae) considerada a mais basal dentro de Crinocheta (Schmidt 2002).

Lewis (1991) relata a presença de 10 cotilédones para *A. vulgare* (um no pereionito 2 e três nos pereionitos 3-5), considerando a literatura parece haver variação biogeográfica intraespecífica, visto que *Armadillidium* spp apresentaram apenas quatro cotilédones, sendo um para cada esternito do 2-5 (Appel *et al.* (em preparação)).

Além da variação de comprimento existente entre as espécies, os resultados apontam variação também no comprimento dos cotilédones entre os pereionitos no qual estão inseridos. Hoese e Janssen (1989) demonstram através de experimentos com fêmeas ovigeras de *P. scaber*, que a atividade enzimática nos cotilédones dos pereionitos 3 e 4 é mais forte, considerando que os cotilédones dos pereionitos 2 e 5 apresentaram reação fraca a *acP* (Non-specific acid phosphatases) e/ou nenhuma a *alP* (Non-specific alkaline phosphatases). Embora os autores

apresentem dados testados somente em *P. scaber*, é tentador sugerir que os cotilédones não envolvidos em elevada atividade enzimática possam ter menor comprimento, visto que das cinco espécies estudadas quatro apresentaram comprimento reduzido justamente nesses cotilédones. Entretanto devido ao pouco conhecimento existente e a complexidade fisiológica envolvida é demasiado arriscado qualquer afirmação a esse respeito. Essa análise foi de grande importância para os resultados que se seguiram uma vez que a variação de comprimento entre os pereionitos poderia “mascará-los”.

Das espécies que apresentaram regressão, a de *B. sellowii* pode ser considerada “regressão parcial”, visto que se os cotilédones não fossem extraídos, fixados e medidos, aparentemente não se poderia apontar diferença em comprimento. Isto se deve ao longo comprimento de seus cotilédones (cerca de 1,5 vezes o tamanho da fêmea), e apesar de haver regressão de aproximadamente 0,89 mm entre o seu pico (fase de embrião) e a fase pós-ovígera, este fato pode passar despercebido, pois os 12 cotilédones permanecem na fêmea e ainda assim bastante longos (aproximadamente 1,13 vezes o tamanho da fêmea. Nas espécies *A. nasatum* e *P. scaber*, pode-se afirmar que ocorre regressão total, pois as fêmeas em estágio final de manca (quando a manca já possui pigmentação) apresentam apenas cicatrizes e algumas vezes nem estas. Em todas as espécies que ocorre regressão os cotilédones extraídos nas fases finais do desenvolvimento marsupial foram examinados em microscopia e sempre apresentaram a cutícula íntegra, mesmo quando se encontravam quase imperceptíveis, o que descarta a possibilidade de terem sido ingeridos pelas mancas em desenvolvimento.

Hoese e Janssen (1989) apontam que a regressão ocorre como forma de evitar a dessecação da fêmea. Espécies da família Philosciidae e *A. vulgare* não apresentaram regressão. O tempo desde a liberação das mancas até a ecdise (onde a fêmea perde os cotilédones e os

oostegitos) é curto (dois dias) sendo o mesmo registrado para as espécies que apresentam regressão total (*A. nasatum* e *P. scaber*). *Balloniscus sellowii* apresenta regressão parcial, permanecendo com cotilédones ainda longos por até 13 dias.

Os oostegitos das fêmeas pós-ovígeras das espécies estudadas permanecem tão rentes ao assoalho ventral que só podem ser observados em lupa e com o auxílio de agulha histológica. De acordo com Hoese (1984) eles possuem uma cutícula espessa e impermeável, além disso, todo o processo metabólico nos cotilédones cessa, não possuindo qualquer atividade enzimática após a liberação das mancás (Hoese and Janssen 1989). Estes fatores podem ser imprescindíveis para que os cotilédones não constituam uma fonte de perda de água para a fêmea pós-ovígera, uma vez que área de superfície ventral encontra-se aumentada.

De acordo com o diagrama filogenético proposto por Schmidt (2002) com base em características morfológicas de Crinocheta, Phillosciidae faria parte de um clado mais basal quando comparada às demais famílias estudadas. Porcellionidae e Armadillidiidae seriam os mais derivados, formando um grupo irmão. Neste estudo foi constatado que Phillosciidae não apresenta regressão, Balloniscidae apresenta regressão parcial, e Porcellionidae e *A. nasatum* (Armadillidiidae) apresentam regressão total. Embora Balloniscidae, não esteja entre as famílias estudadas por Schmidt, neste estudo ela estaria entre Phillosciidae e os mais derivados (Porcellionidae e Armadillidiidae) estando de acordo a proposta filogenética proposta por Holdich *et al.* (1984) e Schmalfuss (1989). No entanto, *A. vulgare* (Armadillidiidae) não apresenta regressão durante os estágios intramarsupiais, sendo que esta variação interespecífica pode estar associada a diferentes estratégias reprodutivas, as quais devem contribuir para determinar o padrão de desenvolvimento de seus cotilédones, abrindo caminhos para novas pesquisas.

Referências bibliográficas

- Akahira, Y. 1956. The function of thoracic processes found in females of the common woodlouse, *Porcellio scaber*. *Journal Faculty of Science*. Hokkaido University. 12:493-498.
- Araujo, P.B. e Bond-Buckup, G. 2004. Growth curve of *Atlantoscia floridana* (van Name) (Crustacea, Isopoda, Phillosciidae) in a Brazilian restinga Forest. *Revista Brasileira de Zoologia*. 21(1):1-8.
- Cannon, L.R.G. e Sewell, K.B. 1995. Craspedellinae Baer, 1931 (Platyhelminthes: Temnocephalida) ectosymbionts from the branchial chamber of Australian crayfish (Crustacea: Parastacidae). *Memoirs of the Queensland Museum*. 38: 397-418
- Hoese, B. 1984. The marsupium in terrestrial isopods. *Symposium of the Zoological Society of London*. 53:65-76.
- Hoese, B. e Janssen, H.H. 1989. Morphological and physiological studies on the marsupium in terrestrial isopods. *Monitore zoológico italiano (N.S.) Monografia* 4:153-173.
- Holdich, D.M.; Lincoln, R.J. e Ellis, J.P. 1984. The biology of terrestrial isopods: terminology and classification. In: Sutton, S.L. and Holdich, D.M. (Eds.), The biology of terrestrial isopods. *The zoological society of London*. Clarendon Press, Oxford. 1-6.
- Humason, G.L. 1972. *Animal Tissue Techniques*, 641p. W. H. Freeman and Company, San Francisco, CA, USA.
- Lewis, F. 1991. The relationship between broodpouch cotyledons, aridity and advancement. *Biology of Terrestrial Isopods Third International Symposium*. 104:81-88.

- Mead, F. and Gabouriaut, D. 1988. Influence du groupement sur la formation du marsupium et la production des jeunes chez *Helleria brevicornis* (Ebner) (Isopoda, Oniscoidea, Tylidae). *Crustaceana* 54 :245-255.
- Milatovič, M.; Kostanjšek, R. and Štrus, J. 2010. Ontogenetic Development of *Porcellio scaber*: Staging Based on Microscopic Anatomy. *Journal of Crustacean Biology* 30(2):225-235.
- Ouyang, D. and Wright, J. 2005. Calcium accumulation in eggs and manca of *Armadillidium vulgare* (Isopoda; Oniscoidea). *Journal of Crustacean Biology* 25(3): 420-426.
- Patane, L. 1940. Sull struttura e la funzione del marsupio di *Porcellio laevis* Latreille. *Archivio Zoologico Italiano* 28: 271-296.
- Schmalfuss, H., 1989. Phylogenetics in Oniscoidea. In Ferrara, F.; Argano, R.; Manicasteri, C.; Schmalfuss, H. and Taiti, S. (Eds.): Proceedings of the Second Symposium on the Biology of Terrestrial Isopods. *Monitore Zoologico Italiano* 4, pp.3-27.
- Schmidt, C. 2002. Contribution to the phylogenetic system of the Crinocheta (Crustacea, Isopoda). Part 1. (Olibrinidae to Scyphacidae s. str.). *Mitteilungen Museum für Naturkund. Berlin, Zool. Reihe* 78: 275-352.
- Schmidt, C. 2008. Phylogeny of the Terrestrial Isopoda (Oniscoidea): a Review. *Arthropod Systematics & Phylogeny* 66 (2): 191 – 226.
- Suzuki, S. and Yamasaki, K. 1989. Ovarian control of oostegite formation in *Armadillidium vulgare* (Crustacea, Isopoda). *Zoological Science* 6: 11-32.
- Sutton, S.L. 1968. The population dynamics of *Trichoniscus pusillus* and *Philoscia muscorum*(Crustacea; Oniscoidea) in limestone grassland. *Journal of Animal Ecology* 37:425-444.

Sutton, S.L. 1980. *Woodlice*, 143p. Pergamon Press, Oxford.

Vandel, A. 1925. Recherches sur la sexualité des Isopodes. *Bulletin Biologique France Belgique*. 59 (3): 317-371.

Wolff, C. 2009. The embryonic development of the malacostracan crustacean *Porcellio scaber* (Isopoda, Oniscidea). *Development Genes and Evolution* 219:545–564.

Tabela 1. Comprimento dos cotilédones e sua relação com o tamanho (largura do cefalotórax) da fêmea nos pereionitos em que estão inseridos. $\bar{X} \pm EP$ (Número de cotilédones). Medidas em mm.

Espécies	Pereionito	Comprimento dos cotilédones	
		mm \pm SE	Comprimento/largura do cefalotórax da fêmea
<i>Armadillidium nasatum</i>	2	1,77 \pm 0,056 (38)	0,58
	3 e 4	1,98 \pm 0,019 (50)	0,66
	5	1,21 \pm 0,019 (35)	0,45
<i>Armadillidium vulgare</i>	2-4	1,92 \pm 0,088 (56)	0,66
	5	1,27 \pm 0,109 (16)	0,43
<i>Atlantoscia floridana</i>	2-4	0,73 \pm 0,026 (48)	0,56
	5	0,34 \pm 0,040 (11)	0,26
<i>Balloniscus sellowii</i>	2	1,63 \pm 0,102 (38)	1,02
	3-5	2,62 \pm 0,065 (122)	1,5
<i>Benthana cairensis</i>	2-5	0,76 \pm 0,022 (51)	0,44

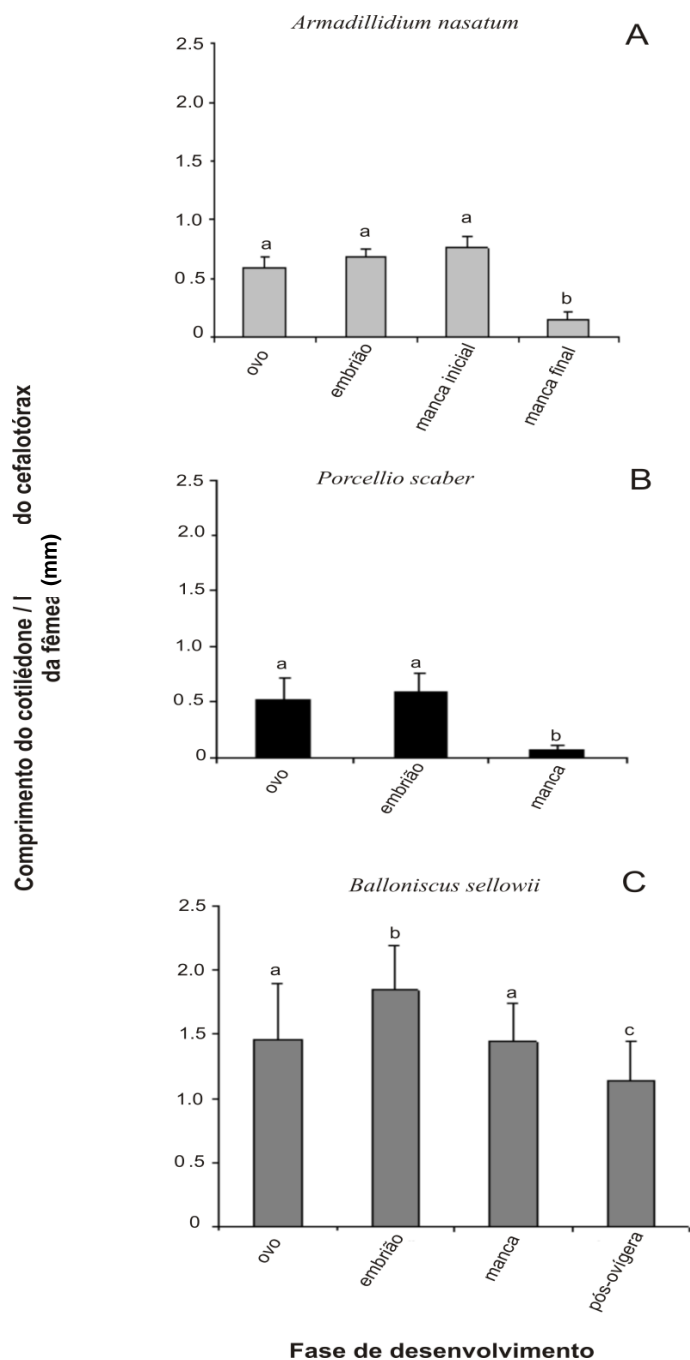


Figura 1. Comprimento (mm) relativizado dos cotilédones de isópodos terrestres em diferentes fases de desenvolvimento intramarsupial. Os valores representam a média \pm 95% intervalo de confiança. A-B. Letra diferente indica diferença significativa (ANOVA seguida do teste de Tukey; $p < 0.01$). A – *Armadillidium nasatum*, apresentando duas fases para o estágio de manca. B – *Porcellio scaber*. C – *Balloniscus sellowii*, inclui medidas dos cotilédones presentes na fêmea pós-ovígera. Letras indicam diferença entre os estágios (Teste Tukey; a= $p < 0,01$; b= não significante e c= $p < 0,05$).

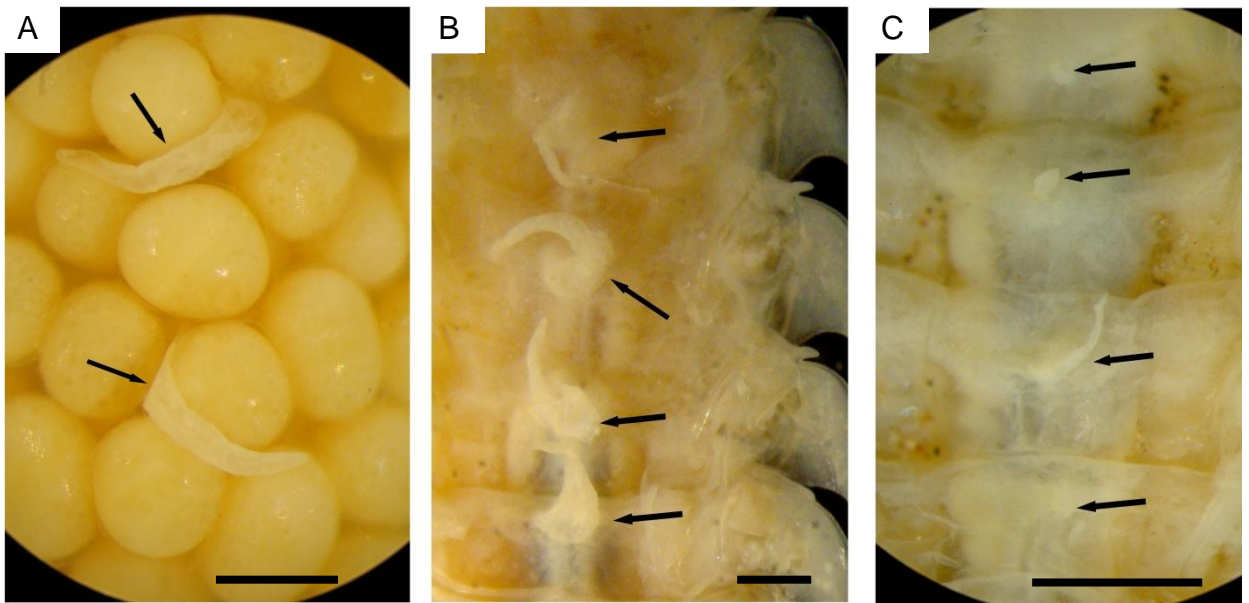


Figura 2. Cotilédones de *Porcellio scaber* durante diferentes estágios do desenvolvimento da prole. Seta indica o cotilédone. A. Cotilédone sobressaindo aos ovos. B. Cotilédones observados durante a fase de embrião. C. Cotilédones vestigiais, observados durante a fase de manca. Escala: 1mm.

Legenda:

■ *Balloniscus sellowii*

◆ *Armadillidium vulgare*

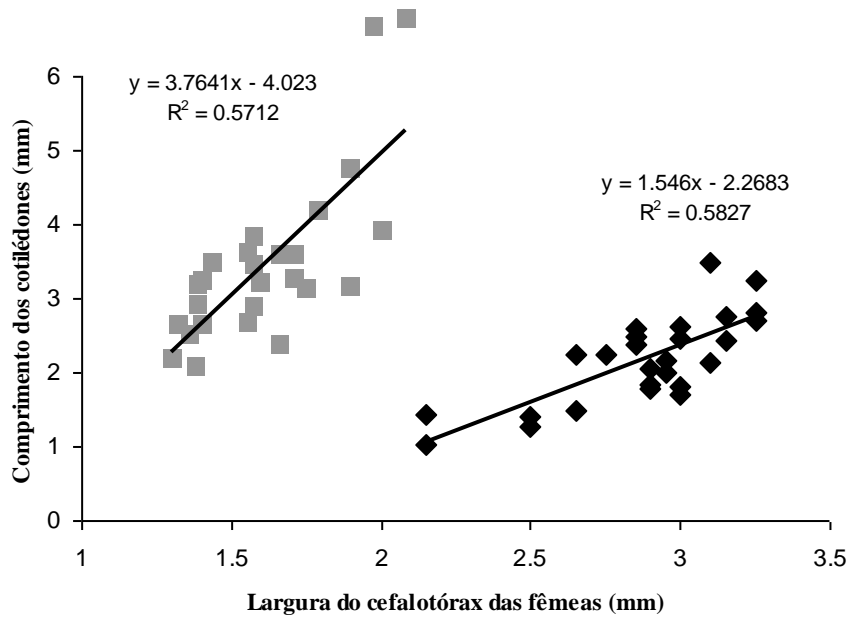


Figura 3. Comprimento (mm) do cotilédone central do 3° pereionito de *Balloniscus sellowii* e *Armadillidium vulgare*, em relação à largura (mm) do cefalotórax das fêmeas.

**Extensão marsupial em isópodos terrestres
(Peracarida, Oniscidea).**

Resumo.....	76
Abstract.....	77
Introdução.....	77
Material e métodos.....	79
Resultados & Discussão.....	79
Referências bibliográficas.....	81
Figuras e tabelas.....	85

Artigo a ser submetido ao Journal of Crustacean Biology.

EXTENSÃO MARSUPIAL EM ISÓPODOS TERRESTRES (PERACARIDA,
ONISCIDEA).

Carina Appel¹, Aline F. Quadros² and Paula B. Araujo¹

C.A & P.B.A. Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Avenida Bento Gonçalves, 9500, prédio 43435, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil. E-
mail: (carinaappel@yahoo.com.br)(pabearaujo@gmail.com).

A.F.Q. Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), Parque
Tecnológico Itaipu (PTI). Avenida Tancredo Neves, 6731, Caixa Postal: 2044. Foz do
Iguaçu, PR, Brasil, CEP: 85856-970 (bioaline@gmail.com).

RESUMO

O marsúpio é uma bolsa incubadora ventral onde a prole se desenvolve independente de fontes externas de água, sendo formado por cinco pares de oostegitos sobrepostos que surgem nas fêmeas durante seu período reprodutivo. Em Oniscidea, dois tipos de marsúpio são identificados: o tipo anfíbio, com extremidades abertas encontrado em *Ligia* sp., e o tipo fechado, encontrado em *P. scaber*, no qual a prole obtém, além de proteção, nutrientes para seu desenvolvimento. Neste estudo, fêmeas ovígeras de 35 espécies foram dissecadas, tendo seus oostegitos extraídos, a prole intramarsupial quantificada e o intestino examinado. Destas, *Armadillidium nasatum*, *A. vulgare*, *Pudeoniscus birabeni*, *Circoniscus* sp. *Cubaris murina*, *Neotroponiscus daguerri* e *N. carolii*, apresentaram extensão marsupial comportando aproximadamente 25 % do total da prole. Apenas as duas últimas não são volvacionais. Embora esse formato de marsúpio possibilite o movimento de volvação, as fêmeas não se alimentam durante o período em que ocorre o maior crescimento da prole, ou seja, na fase de embrião e

manca. Para maiores informações sobre a extensão marsupial serão necessários maiores estudos.

ABSTRACT

The marsupium a ventral brood pouch where the offspring develops independently of external sources of water, and it is formed by five pairs of overlapping oostegits that arise in females during their reproductive periods. In Oniscidea, two types of marsupium are identified: the amphibious type, with open ends found in *Ligia* sp. and closed type found in *P. scaber*, in which the offspring gets, besides protection, nutrients for their development. In this study, ovigerous females of 35 species were dissected, having their oostegits extracted, their intramarsupial offspring quantified and their intestine examined. Of these, *Armadillidium nasatum*, *A. vulgare*, *Pudeoniscus birabeni*, *Circoniscus* sp., *Cubaris murina*, *Neotroponiscus daguerrii* and *N. carolii* presented marsupial extension comprising approximately 25% of the offspring. And only the last two are not volvational. Although this format allows the movement of marsupium volvation, females do not feed during the period in which the offspring has its major growth, that is, at the embryo stage and manca. For further information about the marsupial extension it is necessary to carry out deeper studies.

INTRODUÇÃO

Várias adaptações permitiram aos isópodos terrestres a conquista do ambiente terrestre, entre elas cabe ressaltar a presença de um marsúpio mais derivado, o qual possibilitou a total independência de fontes externas de água para reprodução (Warburg 1987, Hoese 1984, Carefoot 1993). O marsúpio é uma bolsa incubadora ventral onde a prole se

desenvolve (Patane 1940), sendo que para Oniscidea, existem dois tipos (Hoese 1984). O marsúpio tipo anfíbio, encontrado em *Ligia* sp., apresenta extremidades abertas e circulação interna de água por capilaridade através do 6° e 7° pereiópodos, já o tipo terrestre, representado por *Porcellio scaber* Latreille, 1804, é totalmente fechado desempenhando funções como proteção e nutrição da prole em desenvolvimento (Hoese 1984, Hoese e Janssen 1989). Sua formação ocorre durante o período reprodutivo da fêmea quando por controle de hormônios ovarianos (Suzuki e Yamasaki 1989) formam-se cinco pares de oostegitos junto a base dos pereiópodos 1-5, os quais projetam-se para o centro do corpo da fêmea sobrepondo-se uns aos outros (Patane 1940). Cada oostegito é constituído por uma fina lamela quitinosa e translúcida, bastante resistente (Patane 1940, Hoese 1984). Essa constituição e a forma como estão organizados e imbricados, permite a expansão para melhor acomodar a prole. No interior deste aprimorado marsúpio surgem, logo após a liberação dos ovos, estruturas responsáveis pela nutrição e oxigenação da prole (Akahira 1956, Hoese e Janssen 1989), chamadas cotilédones. Durante estudos comparativos sobre padrões morfológicos dos cotilédones em diversas espécies de isópodos terrestres, foi observada a existência de uma extensão no interior dos esternitos seis e sete. Assim este estudo busca: (i) identificar dentre as espécies estudadas, quais apresentam extensão marsupial; (ii) comparar as espécies que apresentam extensão com as demais que não a apresentam afim de registrar possíveis variações; (iii) verificar o número de indivíduos abrigados no interior dessa cavidade.

MATERIAL E MÉTODOS.

Fêmeas ovígeras de isópodos terrestres foram coletadas em diferentes estados brasileiros, sendo reunidas 35 espécies as quais estão distribuídas em 11 famílias (Tab.I). As fêmeas foram fixadas em Dubosc (Humason 1972) e dissecadas sendo que, após a remoção dos oostegitos e da prole contida no marsúpio, foram também fotografadas. Foram realizados cortes transversais em indivíduos de espécies que apresentam extensão marsupial assim como nos que não apresentam a fim de comparar a estrutura interna de ambos. A prole foi quantificada e classificada quanto ao seu estágio de desenvolvimento conforme Milatovič *et al.* (2010): ovo (1 até S8) embrião (S9 até S18 onde apêndices, olhos e segmentação estão visíveis no interior da membrana vitelina), manca (S19 onde isópodo já está livre da membrana). O intestino das fêmeas foi examinado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Entre as espécies examinadas, sete apresentam reentrância no assoalho ventral do 6° e 7° pereionitos: *Armadillidium nasatum* Budde-Lund, 1885, *A. vulgare* (Latreille, 1804), *Circoniscus gaigei* Pearse, 1917, *Cubaris murina* Brandt, 1833, *Neotroponiscus carolii* Arcangeli, 1936, *N. daguerri* (Giambiagi de Calabrese, 1939) e *Pudeoniscus birabeni* Vandel, 1963 (Tab. I). As demais espécies apresentam o marsúpio como observado na maioria dos isópodos terrestres, com formato distendido e prole contida somente no interior do mesmo (Fig.A). Espécies que apresentam extensão marsupial, não possuem marsúpio distendido. Seus oostegitos encontram-se paralelos ao sexto e sétimo esternitos (Fig.B), assemelhando-se muito ao assoalho ventral torácico o que dificulta muitas vezes a visualização da presença de marsúpio. Essa concavidade inicia-se a partir do quinto esternito, onde encontram-se os últimos pares de oostegitos, ou seja

onde termina o marsúpio, podendo abrigar aproximadamente 25% do total da prole (Fig. C). Todas as fêmeas com extensão marsupial apresentaram intestino cheio somente no início do período ovífero (Fig. E) sendo que as fêmeas que portavam embriões e manca, quando dissecadas, apresentaram intestino vazio, sem qualquer vestígio de alimento (Fig. F). Fêmeas com marsúpio distendido, independente da fase de desenvolvimento intramarsupial em que se encontravam, apresentam intestino sempre cheio (Fig. G). Comparando internamente os formatos de marsúpio, pode-se perceber que no marsúpio distendido os oostegitos se projetam acompanhando o crescimento da prole que ocorre em direção contrária ao corpo da fêmea (Fig. H). Entretanto, em espécies com extensão marsupial os oostegitos pouco distendem fazendo com que o desenvolvimento da prole ocorra em direção aos órgãos internos da fêmea, os quais acabam sofrendo compressão (Fig. I). Provavelmente seja essa a causa que impessa fêmeas ovíferas, em estágio mais avançado, de se alimentarem. Outra questão importante a ser enfatizada é que este formato diferenciado de marsúpio (Fig. B; I) permite a volvação para as fêmeas ovíferas pertencentes a categoria “rollers” o que seria impossível se estas possuíssem o marsúpio distendido. Cabe ressaltar que entre as espécies que apresentam extensão marsupial, duas (*N. carolii* e *N. daguerrii*) não são espécies volvacionais. Embora o marsúpio não distendido apresente vantagens, visto que ¼ da prole pode ser abrigada em seu interior além é claro de possibilitar a volvação para espécies que possuem essa capacidade, provavelmente as fêmeas que o possuem necessitam de um estoque maior de nutrientes em seu corpo uma vez que durante certo período, além de não se alimentarem, estarão liberando substâncias nutritivas para sua prole (Hoese e Janssen 1989). Para melhor compreensão sobre a estrutura da extensão marsupial serão necessários outros estudos.

Referências bibliográficas

- Akahira, Y. 1956. The function of thoracic processes found in females of the common woodlouse, *Porcellio scaber*. Journal Faculty of Science. Hokkaido University. 12:493-498.
- Araujo, P.B. & L. Buckup. 1994. Nova espécie de *Trichorhina* Budde-Lund, 1908 (Crustacea, Isopoda, Platyarthridae) do sul do Brasil. Iheringia, Séria Zoologia. 77: 129-134.
- Araujo, P.B. & L. Buckup. 1994. Two new species of terrestrial isopoda from southern Brazil. Spixiana, München. 17: 269-274.
- Araujo, P.B. & M.C.L. Zardo. 1995. Uma nova espécie de *Balloniscus* Budde-Lund (Crustacea, Isopoda, Balloniscidae) do sul do Brasil. Revista Brasileira de Zoologia. 12: 785-790.
- Araujo, P.B. & A. Leistikom. 1999. Philosciids with pleopodal lungs from Brazil, with descriptions of a new species (Crustacea, Isopoda). Contributions to Zoology. 68: 109-141.
- Araujo, P.B. & E.R.C. Lopes. 2003. Three new species of *Benthana* Budde-Lund (Isopoda, "Philosciidae") from Brazil. Journal of Natural History. 37 (20): 2425-2439.
- Arcangeli, A. 1936. Un genere e due specie nuovi di isopodi terrestri del Brasile. Archivio zoologico italiano. 23: 201-208.
- Brandt, I. 1833. Conspectus monographiae crustaceorum Oniscodorum Latreillii. – Byulleten moskovskogo Obshchestva Ispytatelei Prirody. 6: 171-193.
- Budde-Lund, G. 1885. Crustacea Isopoda terrestria per familias et genera et species descripta, 319 pp.; Copenhagen.
- Budde-Lund, G. 1893. Landisopoder fra Venezuela, insamlede of Dr. F. MEINERT. – Entomologiske Meddelelser 4: 111-129.

- Budde-Lund, G. 1908. Isopoda von Madagaskar und Ostafrika mit diagnosen verwandter Arten. In: Voeltzkow, A.: Reise in Ostafrika in den Jahren 1903-1905. Wissenschaftliche Ergebnisse, vol. 2: 265-308 and plates 12-18.
- Carefoot, T.H. 1993. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology. Physiology of terrestrial isopods 3: 413-429.
- Dollfus, A. 1899. Sur la distribution géographique des Isopodes terrestres dans l'Afrique septentrionale, du Sénégal à Obock. Proceedings of the 4th International Zoological Congress, Cambridge. (1898): 250-260.
- Ferrara, F. and S. Taiti. 1982. A new philosciid from eastern Africa (Crustacea, Oniscoidea). Revue suisse de Zoologie 89: 439-442.
- Giambiagi de Calabrese, D. 1939. Contribución al estudio de los isopodos terrestres argentinos. – Physis (Buenos Aires). 17: 633-644 and plates I-X.
- Hoese, B. 1984. The marsupium in Terrestrial Isopods. Symposium of the Zoological Society of London. 53:65-76.
- Hoese, B. and H.H. Janssen. 1989. Morphological and physiological studies on the marsupium in terrestrial isopods. Monitore zoológico italiano (N.S.) Monografia 4:153-173.
- Holthuis, L. 1947. On a small collection of isopod Crustacea from the greenhouses of the Royal Botanic Gardens, Kew. Annals and Magazine of natural History. 13: 122-137.
- Humason, G.L. 1972. Animal Tissue Techniques, 641p. W. H. Freeman and Company, San Francisco, CA, USA.
- Latreille, P. 1804. Histoire naturelle, générale et particulière, des crustacés et des insectes. Cloportides; vol. 7: 25-49.

- Lemos de Castro, A. 1958. *Benthanoscia longicaudata*, a new genus and species of terrestrial isopod of the family Oniscidae (Isopoda, Oniscoidea). American Museum Novitates. 1884: 7 pp.
- Lemos de Castro, A. 1964. *Trichorhina heterophthalma*, nueva especie de isópodo terrestre cavernícola de Cuba. Poeyana, Seria A. 2: 1-7.
- Lopes, E. and P.B. Araujo. 2003. Nova espécie de *Novamundoniscus* Schultz (Isopoda, Oniscoidea, Dubioniscidae) para o Rio Grande do Sul, Brasil. – Revista Brasileira de Zoologia 20: 611-614.
- Milatovič, M.; R. Kostanjšek and J. Štrus. 2010. Ontogenetic Development of *Porcellio scaber*: Staging Based on Microscopic Anatomy. Journal of Crustacean Biology 30(2):225-235.
- Patane, L. 1940. Sull struttura e la funzione del marsupio di *Porcellio laevis* Latreille. Archivio Zoologico Italiano 28: 271-296.
- Sokolowicz, C.C.; J.F. Boelter and P.B. Araujo. 2008. A new species of *Benthana* (Crustacea: Isopoda: Philosciidae) from southern Brazil. Revista Brasileira de Zoologia 25: 314-318.
- Suzuki, S. and K. Yamasaki. 1989. Ovarian control of oostegite formation in *Armadillidium vulgare* (Crustacea, Isopoda). Zoological Science 6: 11-32.
- Van Name, W. 1940. A supplement to the American land and freshwater isopod Crustacea. Bulletin of the American Museum of Natural History 77: 109-142.
- Vandel, A. 1963. Isopodes terrestres recueillis en Amérique du Sud par Claude Delamare Deboutteville. In: Biologie del'Amérique australe. 2: 63-100.
- Verhoeff, K. 1941. Über eine neue südamerikanische Gattung der Isopoda terrestria. – Zoologischer Anzeiger 134: 169-173.

Warburg, M.R. 1987. Isopods and their terrestrial environment. *Advances in Ecological Research* 17: 187-242.

Tabela 1. Formato de marsúpio apresentado por espécies de isópodos terrestres.

Família/Espécie	n	Marsúpio			
		Distendido	Nada ou pouco distendido	Extensão marsupial	Volvacional
Armadillidae					
<i>Cubaris murina</i> Brandt, 1833	10		X	X	X
Armadillidiidae					
<i>Armadillidium vulgare</i> (Latreille, 1804)	21		X	X	X
<i>Armadillidium nasatum</i> Budde-Lund, 1885	51		X	X	X
Balloniscidae					
<i>Balloniscus glaber</i> Araujo & Zardo, 1996	20	X			
<i>Balloniscus sellowii</i> (Brandt, 1833)	65	X			
Bathytropidae					
<i>Neotroponiscus carolii</i> Arcangeli, 1936	2	X		X	
<i>Neotroponiscus daguerrii</i> (Giambiagi de Calabrese, 1939)	6	X		X	
Dubioniscidae					
<i>Novamundoniscus meridionalis</i> (Araujo & Buckup, 1994)	3	X			
<i>Novamundoniscus gracilis</i> Lopes & Araujo, 2003	4	X			
Philoscidae					
<i>Atlantoscia floridana</i> (van Name, 1940)	35	X			
<i>Atlantoscia rubromarginata</i> Araujo & Leistikow, 1999	2	X			
<i>Benthana araucariana</i> Araujo & Lopes, 2003	3	X			
<i>Benthana cairensis</i> Sokolowicz, Boelter & Araujo, 2008	20	X			
<i>Benthana convexa</i> Lemos de Castro, 1958	4	X			
<i>Benthana longicornis</i> Verhoeff, 1941	4	X			
<i>Benthana longipenis</i> Lemos de Castro, 1958	4	X			
<i>Benthana picta</i> (Brandt, 1833)	4	X			
<i>Benthana taeniata</i> Araujo & Buckup, 1994	9	X			
<i>Benthana itaipuensis</i> Campos Filho & Araujo, 2011	8	X			
<i>Burmoniscus meeusei</i> (Holthuis, 1947)	4	X			
<i>Littorophiloscia denticulata</i> (Ferrara & Taiti, 1982)	1	X			
Platyarthridae					
<i>Trichorhina acuta</i> Araujo & Buckup, 1994	7	X			
<i>Trichorhina argentina</i> Vandel, 1963	4	X			
<i>Trichorhina heterophthalma</i> Lemos de Castro, 1964	3	X			
<i>Trichorhina tomentosa</i> (Budde-Lund, 1893)	2	X			
Porcellionidae					
<i>Agabiformius lentus</i> (Budde-Lund, 1885)	5	X			
<i>Porcellio dilatatus</i> Brandt, 1833	22	X			
<i>Porcellio laevis</i> Latreille, 1804	6	X			
<i>Porcellio scaber</i> Latreille, 1804	15	X			
<i>Porcellionides pruinosus</i> (Brandt, 1833)	13	X			
<i>Porcellionides sexfasciatus</i> (Budde-Lund, 1885)	8	X			
Pudeoniscidae					
<i>Pudeoniscus birabeni</i> Vandel, 1963	2		X	X	X
Scleropactidae					
<i>Circoniscus gagei</i> Pearse, 1917	2		X	X	X
Trachelipodidae					
<i>Nagurus cristatus</i> (Dollfus, 1889)	4	X			
<i>Nagurus nanus</i> (Budde-Lund, 1908)	5	X			



Figura A-G. Marsúpio de isópodos terrestres. **A-B.** Diferentes formatos de marsúpio. **A.** *Balloniscus sellowii*, espécie não volvocional portando marsúpio distendido. **B.** *Cubaris murina*, espécie volvocional apresentando marsúpio rente ao assoalho ventral do 6º e 7º esternitos. **C-D.** Detalhes da extensão marsupial. **C.** Manca de *C. murina* no interior da cavidade. **D.** Cavidade registrada em *Armadillidium vulgare*. Ao fundo observa-se mancas que estavam abrigadas em seu interior. **E-G.** Cortes transversais apontado presença ou ausência de detritos no interior do intestino e a fase de desenvolvimento intramarsupial da fêmea. **E.** *A. vulgare* no início do período ovífero, portando ovos. Intestino apresenta detritos. **F.** *A. vulgare*, portando mancas. Nesta fase o intestino não apresenta qualquer alimento. **G.** *B. sellowii* portando mancas e apresentando intestino cheio. Barra de escala: 0,5 mm.

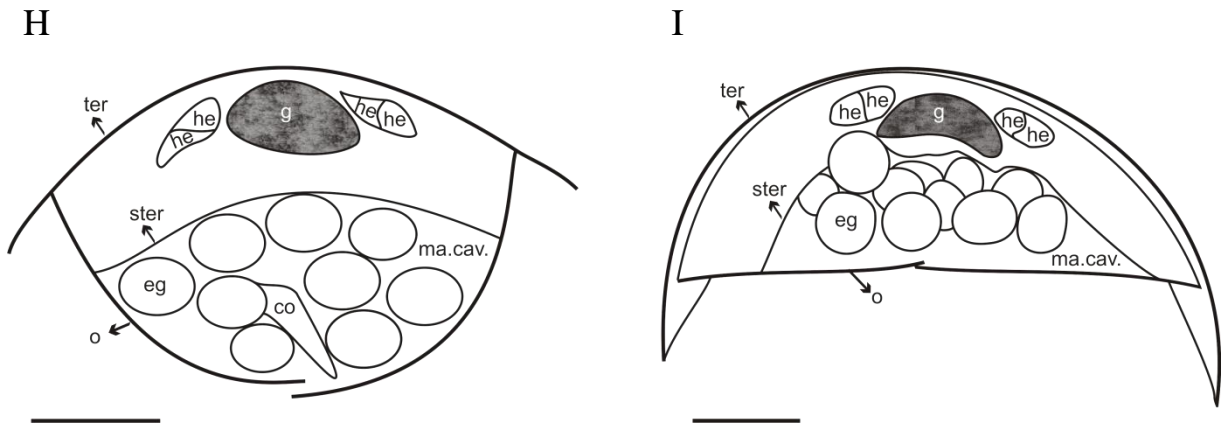


Figura H-I: Esquema de cortes transversais do marsúpio de isópodos terrestres, evidenciando os formatos encontrados. **H.** *Balloniscus sellowii* com oostegitos distendidos moldando-se a prole em desenvolvimento. **I.** *Armadillidium vulgare* com oostegitos sem qualquer proeminência, imitando o assoalho ventral. Legenda: co: cotilédone; eg: ovo; he: hepatopâncreas; hg: intestino; ma. cav: cavidade marsupial; o: oostegitos; ster: esternito; ter: tergito. Escala: 0,5 mm.

Considerações finais

Frente a pouca literatura existente sobre os cotilédones, abre-se um “leque” de questões a serem respondidas e um “universo” a ser desvendado. A presente dissertação nasceu da necessidade de informações sobre o tema e, cabe ressaltar que, apesar do estudo conduzido no Capítulo I, ter identificado seis formatos, sete arranjos e três comprimentos de cotilédones, um número enorme de espécies ainda merecem ser examinadas e comparadas o que aumentará o número de formatos e arranjos exponencialmente. Várias perguntas ainda, ou melhor, a partir deste estudo ficam sem respostas. O que estaria por trás de tantas formas? O que a variação nos números de cotilédones significa realmente? O que a variação intraespecífica registrada para *A. floridana* significa? Como espécies portando até 138 indivíduos no marsúpio e apresentando quatro cotilédones com comprimento médio, consegue nutrir a prole com a mesma eficiência (e será que consegue?!) que fêmeas com no máximo 39 filhotes, 12 cotilédones e estes extremamente longos? Será estratégia de investimento parental, ou seja, prole em menor quantidade, melhor nutrida maior chance de chegar a vida adulta?

O Capítulo II apresenta dados totalmente inéditos ao apontar que a regressão, anteriormente citada como estratégia para evitar a morte da fêmea, não ocorre para todas as espécies. O crescimento dos cotilédones ao longo das fases de desenvolvimento intramarsupial também não é algo comum a todas as espécies. Então, se os cotilédones, considerados por alguns autores como fonte de perda de água, podem permanecer no assoalho ventral da fêmea por até 13 dias após a liberação das manchas em algumas espécies, como estas evitam a perda excessiva de água? Por que algumas espécies necessitam que os cotilédones estejam mais compridos em determinada fase

embrionária? Os cotilédones de espécies mais basais que Philosciidae apresentam regressão?

Quanto aos formatos de marsúpio, abordados no Capítulo III, as vantagens da extensão marsupial são claras: (a) permite a fêmea gerar 25% a mais de prole por período ovífero, assim como, (b) possibilita a volvação para espécies volvacionais. Neste caso, o tópico em aberto é o gasto energético. Visto que este tipo de marsúpio não permite que a fêmea se alimente durante certa fase do período ovífero, teriam essas espécies capacidade de armazenar maior quantidade de reserva de nutrientes? O número de prole a se desenvolver no interior do marsúpio seria controlado pela fêmea de acordo com suas reservas nutritivas, ou esta poderia liberar a prole antes do tempo oportuno no caso de um número elevado de filhotes? Quanto a estrutura em si, ela desaparece somente após a fêmea realizar ecdise, ou ela retorna ao seu formato normal após a liberação das mancas?

Este estudo é só o início de uma série de pesquisas, com intuito de desvendar as intrigantes questões abordadas acima sobre as estratégias reprodutivas que cada família, gênero e/ou espécie apresenta.

Anexos

Em anexo, os sites onde consta normas das revistas para as quais os papers serão submetidos. Em primeiro consta as normas da **Zoologia**, as quais orientaram a formatação da dissertação em si. A seguir o site das demais revistas: **Acta Zoologica** (Estocolm) para a qual serão submetidos os artigos dos capítulos I e II e **Journal of Crustacean Biology** para onde será enviado o artigo que deu origem ao capítulo III .

Dissertação



<http://www.scielo.br/revistas/zool/pinstruc.htm>

Capítulos I e II



<http://www.wiley.com/bw/journal.asp?ref=0001-7272>

Capítulo III

Journal of Crustacean Biology

<http://web.vims.edu/tcs/jcb.html?svr=www>