

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

**Morfologia interna e externa dos pleópodos de *Aegla platensis* Schmitt,  
1942 (Crustacea, Anomura, Aeglidae): a fixação dos ovos e as glândulas  
pleopodais**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Paula Beatriz de Araujo  
Co-orientador: Maurício Almerão

Porto Alegre  
2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

**Morfologia interna e exrterna dos pleópodos de *Aegla platensis* Schmitt,  
1942 (crustacea, anomura, aeglidae): a fixação dos ovos e as glândulas  
pleopodais**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Paula Beatriz de Araujo  
Co-orientador: Maurício Almerão

Trabalho apresentado ao  
instituto de Biociências da  
Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul como parte dos  
requisitos para a obtenção do  
título de Bacharel em Ciências  
Biológicas.

Porto Alegre  
2011

*Aos meus pais, Joice, Idel e Robson, pelo amor, paciência, incentivo e investimento na educação; ao meu avô Pedro, que me instigou à formulação de hipóteses, teorias e a busca por resposta; ao Lucas, pelo amor, paciência e permanente disposição em ajudar, seja em saídas de campo e coletas, na edição de imagens ou trazendo-me cafés durante as madrugadas; e minha querida Professora Georgina, que me acolheu quando os caminhos que eu buscava ainda eram incertos e me mostrou o gosto pelo fazer científico.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha amada família, por todo o suporte, amor e incentivo. Muitas foram às noites em que fiquei acordada sapateando no mezanino e atrapalhando o sono de vocês. Muitos foram os dias de cansaço ou nervosismo em que despejei meu mau humor em vocês. Obrigada. Mãe, obrigada por sempre apoiar as minhas decisões e por estar sempre ao meu lado. Idel, obrigada pelas revigorantes xícaras de café que me trazias às 6 horas da manhã quando eu havia passado a noite acordada e pelas caronas e carretos. Lou, obrigada pela força nas coletas, pela paciência e por me ajudar a disseminar o conhecimento sobre os eglídeos na feira de ciências da tua escola. Lucas, o que seria da minha vida sem tí? Certamente não tão feliz. És um companheiro maravilhoso, com que divido as indiadas, os problemas e também as conquistas. Obrigada por estar sempre ao meu lado, por entender meus maus momentos, por me ajudar a digitar os trabalhos durante a madrugada ou fazer a janta enquanto eu estudava.

Sou grata também aos meus colegas de laboratório, aos antigos e aos atuais, com os quais aprendi muito, aos quais importunei com inúmeras perguntas e a quem tantas vezes recorri pedindo ajuda. Dai, sinto falta das nossas conversinhas, de te ajudar nas coletas no Lami ou em Mariana Pimentel, de ter que empurrar a combi atolada ou roubar goiabas no caminho. Dani, agradeço tua constante disposição, mesmo quando estavas mais distante, sempre pronta a me ajudar. Carol, obrigada pela ajuda cada vez que eu te enchia de perguntas. Aline, obrigada por toda a força e todas as vezes que me ajudastes, principalmente quando eu estava desesperada com a estatística. Camila, obrigada pela força nos momentos difíceis, pela companhia e pelas conversas de boteco, descontraídas, mas também produtivas. Kelly, obrigada por estar sempre disposta a ajudar, por ser uma pessoa tão dedicada com quem sempre posso contar. Maurício, obrigada por me ouvir, ajudar e orientar. Agradeço também ao professor Sandro, professor Ludwig e a professora Paula, com quem sempre pude contar e me aconselhar e especialmente a professora Georgina, que sempre investiu em mim, em minha formação e me serviu de modelo.

Meus queridos amigos, Letícia, Thiago, Huanri, Cíntia e Lúcia, agradeço não apenas pelos momentos descontraídos, mas também pela participação constante de vocês, mesmo durante os momentos mais difíceis da minha vida.

Todos vocês, de alguma forma contribuíram para que eu pudesse seguir em frente. Não fui ninguém, não sou ninguém e não sei se um dia posso chegar a ser alguém. O que importa para mim é que hoje me sinto realizada. Ainda não cheguei, mas continuo em busca do que quero.

Aos familiares que me mostraram o caminho, espero não tê-los decepcionado! Aos professores que me ensinaram, devo uma quantia imensurável de agradecimentos! Aos amigos que me apoiaram, devo a retribuição incondicional!

Agradeço também ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica que tive durante quatro anos e as bolsas de produtividade cedidas a Profa. Dra. Georgina Bond Buckup e a Profa. Dra Paula Beatriz de Araujo, que permitiram a realização da pesquisa desenvolvida durante o meu trabalho de conclusão de curso. Sou grata também ao Centro de Microscopia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que cedeu o espaço e os equipamentos necessários para o desenvolvimento deste projeto.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> -----	1
<b>INTRODUÇÃO</b> -----	2
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> -----	8
<b>RESULTADOS</b> -----	10
<b>DISCUSSÃO</b> -----	19
<b>REFERÊNCIAS</b> -----	26

Manuscrito formatado conforme as  
regras editoriais da revista Journal of  
Morphology

**MORFOLOGIA INTERNA E EXTERNA DOS PLEÓPODOS DE AEGLA PLATENSIS SCHMITT, 1942 (CRUSTACEA, ANOMURA, AEGLIDAE): A FIXAÇÃO DOS OVOS E AS GLÂNDULAS PLEOPODAIS.**

Tainã Gonçalves Loureiro<sup>1,4</sup>, Mauricio Almerão<sup>2</sup>, Maria Cristina Faccioni-

Heuser<sup>3</sup>, Georgina Bond-Buckup<sup>1</sup> e Paula Beatriz de Araújo<sup>1</sup>

1-Laboratório de Carcinologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

2-Centro de Biotecnologia (CBiot), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

3- Departamento de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

4- Autor para contato- e-mail: [loureiro.tg@gmail.com](mailto:loureiro.tg@gmail.com)

**RESUMO**

Uma das fases do cuidado parental em eglídeos se dá durante a incubação dos ovos no abdomen da fêmea, onde permanecem aderidos aos seus pleópodos. Nesta cavidade os ovos são mantidos limpos e aerados pela fêmea. Esse trabalho visou investigar a morfologia interna e externa dos pleópodos de fêmeas de *Aegla platensis*, a fim de esclarecer o papel desempenhado por estes apêndices na fixação dos ovos. Para tanto, foram utilizadas três técnicas de microscopia: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Microscopia Óptica (MO). As principais estruturas envolvidas neste processo de fixação são as setas pleopodais, as quais se enrolam em torno de seu próprio eixo na região distal formando o funículo, e as glândulas pleopodais, responsáveis pela produção da substância cimentante que seria a responsável pela fixação dos ovos às setas pleopodais, na região do funículo. As glândulas pleopodais são formadas



por ácinos compostos por células secretoras organizadas em torno de um duto central, dando-lhes uma aparência de roseta. Dois tipos de células secretoras foram observadas, as que produzem grânulos de secreção eletrôn-lúcidos e as que apresentam grânulos elétron-densos. As vesículas produzidas pelas células secretoras são liberadas em um duto que se abre através de um poro na superfície do pleópodo, liberando o material adesivo que é, provavelmente, responsável pela adesão dos ovos às setas pleopodais.

**Palavras-chave:** *Aegla platensis*, fixação dos ovos, glândulas pleopodais, setas pleopodais, ultraestrutura.

## INTRODUÇÃO

Cuidado parental é toda e qualquer atividade realizada pelos progenitores para com sua prole que apresente algum tipo de custo ao mesmo (Clutton-Brock, 1991) e segundo Gross (2005), este cuidado não é uma adaptação que leva ao benefício da espécie, mas sim do indivíduo, maximizando o sucesso reprodutivo do progenitor e sua propagação genética.

Inúmeras espécies de crustáceos apresentam cuidado parental, independente do táxon ou do ambiente em que se encontram, desde espécies que vivem em águas oceânicas profundas a espécies estuarinas, de desertos, mangues ou que ocorrem em montanhas de altitude (Thiel, 1999; Thiel, 2000; Duffy e Thiel 2007). Nestes ambientes o grau de cuidado e os mecanismos utilizados no cuidado com a prole variam imensamente entre os grupos (Clutton-Brock 1991; Thiel 1999; Thiel, 2000).

Nos crustáceos decápodos o cuidado com a prole é amplamente disseminado, estando comumente associado à incubação, limpeza e aeramento dos ovos pelas fêmeas (Hazlett, 1983; Anger, 2001; Burton *et al.*, 2007). Os ovos são, geralmente, mantidos junto ao corpo materno durante seus estágios iniciais de desenvolvimento, sendo então liberados

na forma larval a fim de completarem sozinhos o resto de seu desenvolvimento. Algumas espécies, por outro lado, apresentam desenvolvimento direto, onde os estágios larvais ocorrem ainda dentro do ovo e dele eclodem indivíduos juvenis morfologicamente semelhantes ao adulto. Há ainda espécies em que o cuidado parental continua mesmo após a emergência do ovo, caracterizando então o cuidado parental estendido (Thiel, 1999; Thiel, 2000; Duffy e Thiel, 2007).

O prolongamento dos cuidados maternos com a prole está evolutivamente relacionado à colonização bem sucedida de habitats de água doce (Vogt e Tolley, 2004). As estratégias de cuidado parental podem ser ativas, como por exemplo mudanças no comportamento, ou passivas, onde há o desenvolvimento temporário de estruturas morfológicas específicas que contribuem para a fixação dos ovos e/ou dos juvenis sob o abdômen da fêmea (Vogt e Tolley, 2004; Thiel, 2000; Duffy e Thiel, 2007).

Entre os decápodos, os ovos são protegidos por um revestimento externo através do qual fixam-se uns aos outros e às setas pleopodais, dentro da cavidade abdominal após a fertilização (Bond-Buckup e Santos, 2007). A incubação dos ovos é uma das formas de cuidado parental mais importante entre os decápodos limnicos e depende da eficiente adesão dos ovos ao corpo materno.

A investigação da fixação dos ovos vem sendo estudada a partir da análise da morfologia externa e interna dos pleópodos e do próprio ovo; a espécie de lagosta *Homarus americanus* Milne-Edwards, 1837 é o modelo mais estudado (Aiken e Waddy, 1982; Goudeau *et al.*, 1987; Johnson e Talbot, 1987; Talbot, 1991; Talbot e Zao, 1991). Após a fertilização, os ovos movem-se ao longo da superfície ventral das fêmeas e depositam-se no abdome (Talbot, 1991). Estes ovos são compostos por um revestimento externo que é supostamente formado ainda dentro do ovário, antes de chegar ao abdome da fêmea, e pelo

fúnculo que, segundo alguns autores é formado dentro do abdome com o auxílio dos pleópodos (Talbot, 1991) ou derivado do próprio ovo (Cheung, 1966; Goudeau e Lachaise, 1980; Goudeau e Lachaise, 1983). No abdome ocorre a fixação dos ovos nas setas ovíferas, processo que parece ser auxiliado pelos pleópodos (Talbot, 1991) e pela substância cimentante liberada por glândulas presentes na epicutícula.

As glândulas tegumentares são massas esféricas que se originam abaixo da epiderme e que liberam seu conteúdo em um duto central que se abre para a superfície através de um poro (Talbot e Demers, 1993). São características da cutícula dos crustáceos decápodos variando em número e em componentes estruturais de acordo com a espécie e com a função que desenvolvem (Yonge, 1932; Felgenhauer, 1991; Talbot e Demers, 1993), podendo ser encontradas em inúmeras regiões do corpo (Felgenhauer, 1991; Talbot e Demers, 1993) como estatocistos, gonópodos, brânquias, pereiópodos, pleópodos e urópodos (Yonge, 1932; Lang e Yonge, 1935; Babu *et al.*, 1985; Beninger e Larocque, 1998; Almerão *et al.*, 2007). Diversas funções já foram atribuídas às glândulas tegumentares como, por exemplo, o auxílio no enrijecimento da carapaça em estruturas como peças bucais e esôfago (Stevenson e Schneider, 1962; Doughtie e Rao, 1982; Babu *et al.*, 1985; Talbot e Zao, 1991), a sinalização química (Bushman e Atema, 1996) e a produção de muco pelo aparelho bucal a fim de auxiliar no processo de ingestão (Alexander, 1989; McKenzie e Alexander, 1989).

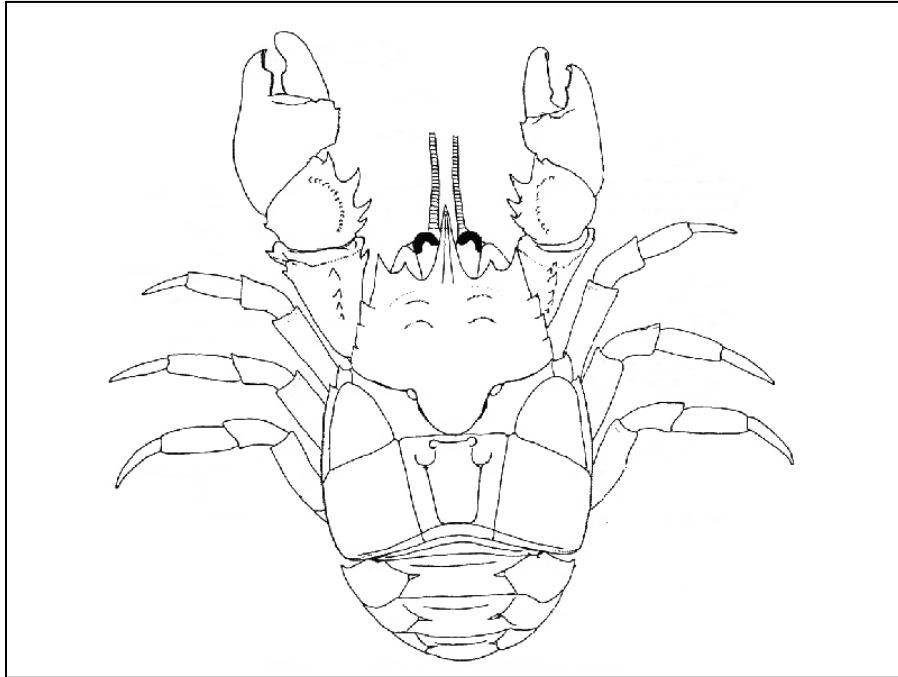
Aiken e Waddy (1982), Johnson e Talbot (1987), Talbot (1991) e Talbot e Zao (1991) também ressaltaram a contribuição das glândulas tegumentares em roseta à produção de substâncias cimentantes envolvidas na aderência ou fixação do ovo ao corpo materno em *H. americanus* sendo então denominadas glândulas de cimento. Posteriormente, estas glândulas foram encontradas em diversas espécies e receberam outras denominações, como

glândulas pleopodais ou glândulas abdominais (Andrews, 1906; Yonge, 1937; Spalding, 1942; Burkenroad, 1947; Stephens, 1952; Mason, 1970; Pandian, 1970; Aiken e Waddy, 1982; Goudeau e Lachaise, 1983; Vogt e Tolley, 2004). Mason (1970) sugere que além da função adesiva, o produto viscoso secretado pelas glândulas de cimento parece estar envolvido na dissolução da bainha do espermátóforo antes da fertilização.

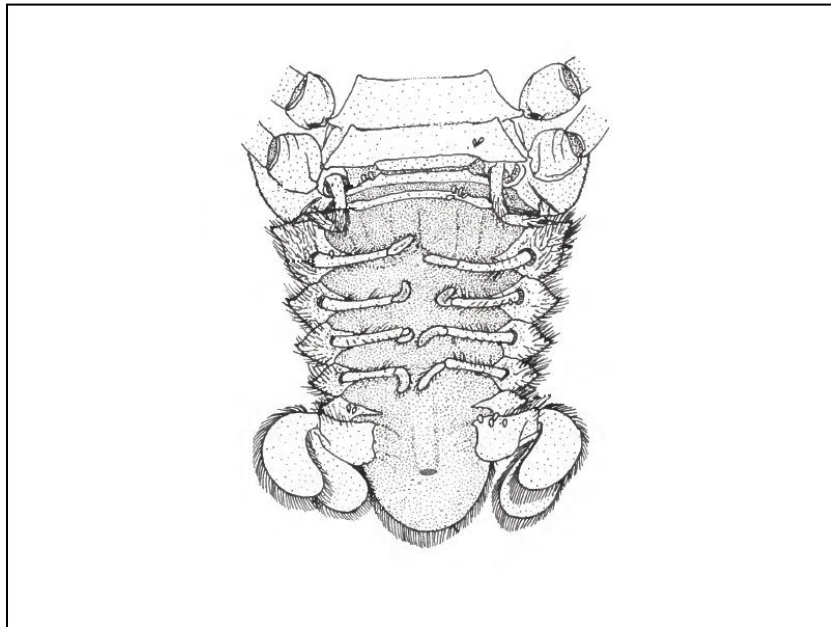
Fisher e Clark (1983) sugerem que a substância adesiva pode não ser produzida por glândulas, mas por células especializadas, denominadas células de mucilagem, presentes nos basipoditos dos pleópodos de *Palaemon macrodactylus* Rathbun, 1902. Apesar de muitas hipóteses já terem sido levantadas, a verdadeira função que estas glândulas desempenham na desova, fertilização e/ou fixação dos ovos ainda permanece obscura e bastante contraditória.

Os eglídeos (Fig.1) constituem um grupo singular entre anomuros, tanto pela sua morfologia quanto ecologia e biogeografia (Bond-Buckup e Santos 2007). São juntamente com a espécie *Clibanarius fonticula* McLaughlin & Murray, 1990, os únicos anomuros que vivem em água doce, podendo ser encontrados em rios de correnteza e lagos, escondidos sob pedras, serrapilheira ou enterrados no areia (Burns, 1972; Bond-Buckup e Buckup, 1994).

As fêmeas de *Aegla platensis* Schimitt, 1942 possuem 4 pares de pleópodos localizados na cavidade abdominal (Fig.2), nos machos, estes apêndices são vestigiais (Martin e Abele, 1988). São estruturas unirremes compostas por dois segmentos mais uma estrutura basal fracamente calcificada em forma de anel, que poderia ser considerada um terceiro segmento por alguns autores (Martin e Abele, 1988). Assim como na maioria dos decápodos reptantes, a principal função dos pleópodos é a fixação e incubação dos ovos e dos juvenis após a eclosão (Martin e Abele, 1988).



**Figura 1: Visão dorsal esquemática de um eglídeo típico baseada em um macho adulto de *A. platensis*. Imagem retirada de Martin e Abele (1988).**



**Figura 2: Visão esquemática do abdome estendido de uma fêmea de *A. platensis* evidenciando os pleópodos. Imagem retirada de Martin e Abele (1988).**

Durante a cópula, a fêmea externaliza os oócitos através do poro genital feminino que se localiza na base do terceiro par de pereiópodos. Após a cópula, estes oócitos são então

direcionados para a cavidade abdominal e imersos em um meio líquido liberado pela fêmea (Almerão *et al.*, 2010). Posteriormente, a fêmea fecha o abdome e inicia o processo de fixação dos ovos, que deve ser feito de forma firme e segura para evitar que os mesmos sejam carregados pela correnteza do rio e garantir seu sucesso reprodutivo (Almerão *et al.*, 2010). Estes animais possuem desenvolvimento direto ou abreviado, de forma que a fêmea, após a incubação dos ovos, libera indivíduos juvenis e não larvas (Rodrigues e Hebling, 1978; Verdi, 1985; Jara e Palacios, 2001; Lizardo-Daudt e Bond-Buckup, 2003; Tudge, 2003; Lopez-Greco *et al.*, 2004; Almerão *et al.*, 2010). Segundo Vogt e Tolley (2004), a abreviação do desenvolvimento larval está geralmente relacionada a um aumento do cuidado parental, estratégia pouco estudada entre os eglídeos. Escassas também são as informações sobre a morfologia dos pleópodos destes caranguejos, assim como sobre o processo de fixação dos ovos. Sendo assim, este trabalho tem por objetivo analisar a morfologia externa e interna dos pleópodos de fêmeas de *A. platensis* e investigar o processo de fixação dos ovos ao corpo materno, de forma a contribuir com o entendimento sobre o cuidado parental entre os eglídeos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Fêmeas ovígeras de *A. platensis* foram coletadas em Julho de 2010 no Arroio do Mineiro, município de Taquara, localidade da Fazenda Fialho, RS (29° 46 S - 50° 53 W) e levadas para o Laboratório de Carcinologia da UFRGS onde foram mantidas em condições de cultivo: acondicionadas em aquários individuais de 9 litros cada um, com areia e substratos pedregosos, aeração constante, temperatura ambiente constante de aproximadamente 20° C e com fotoperíodo de 12:12. Os pleópodos de seis fêmeas ovígeras foram dissecados. A fim de facilitar a visualização, o excesso de ovos aderidos a cada um dos pleópodos foi removido de forma a manter em média quatro ovos por peça.

A preparação do material para visualização em microscópio óptico (MO) incluiu a fixação dos apêndices em Solução de Bouin por 24 horas, decalcificação em solução de EDTA 10% por 7 dias e, em seguida, a desidratação em soluções de crescente concentrações de álcool (70 %, 95 %, 100%) e a diafanização em dois banhos de xilol. Posteriormente o material foi incluído em moldes, preenchidos por parafina fundida e deixado solidificar à temperatura ambiente. Os blocos foram seccionados em micrótomo manual LEICA RM2145 na espessura de 10 µm; as secções foram colocadas em banho-maria a 37° C para estirar os cortes e aderidas a lâminas tratadas previamente com albumina. Os cortes foram processados e corados com hematoxilina e eosina segundo as técnicas de Manual (1960). Para análise e fotomicrografias utilizou-se o Microscópio Óptico ZEISS AXIOLAB.

O material utilizado para visualização em microscópio eletrônico de varredura (MEV) foi fixado em formalina tamponada 10% e tetróxido de ósmio 2% em solução fosfato por 2 horas. Seguiu-se a hidratação em água destilada, desidratação em série alcoólica de álcool 25%, 50%, 70%, 80%, 95%, 100% e solução de álcool-acetona (1:1). A

secagem em ponto crítico foi realizada no aparelho BAL-TEC, modelo CPD 030. A metalização foi feita com recobrimento em ouro com corrente de 40mA, no aparelho SPUTTER COATER, BALZERS SCD050. O material foi observado e micrografado no JEOL JSM 5800. Todas as etapas foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS (CME-UFRGS).

Para a preparação do material visualizado em microscópio eletrônico de transmissão (MET) seguiu-se Gonzáles-Santander (1969). O material coletado foi imediatamente colocado em solução fixadora de glutaraldeído 2,5% e paraformaldeído 2,0% em tampão fosfato (pH 7,4; 0,1 M). Posteriormente o material foi lavado em tampão fosfato, pós-fixados em solução de tetróxido de ósmio 1% por uma hora e desidratado em série alcoólica de álcool 30%, 50%, 70%, 95% e 100%, seguido de acetona pura. Após a desidratação o material foi pré-embebido em resina Durcupan ACM, diluída em acetona 100% na proporção de 3:1, por 2 horas; 1:1 por 12 horas; e 1:3, por 2 horas. A embebição foi processada em resina 100%, por 24 horas. A seguir, o material foi incluído em moldes e polimerizado a 60° C (48-72 h). Cortes semifinos (1µm), foram obtidos em Ultramicrotomo (MT 600-XL, RMC, Tucson, AZ), utilizando navalha de vidro e corados com azul de toluidina 1% diluído em tetraborato de sódio 4%. Após a seleção da área, foram realizados os cortes ultrafinos (70 nm) os quais foram coletados em telas de cobre. Os cortes foram contrastados em solução aquosa de acetato de uranila 2% por 30 min. Em seguida, os cortes foram lavados em água deionizada e secados em papel filtro. A seguir, os cortes foram contrastados com citrato de chumbo 1% (Reynolds, 1963), por 30 min, lavados em água deionizada e secados com papel filtro. As telas contrastadas foram visualizadas e eletromicrografadas no microscópio eletrônico JEOL JEM EXII.



Na classificação das setas adotaram-se os conceitos de Martin e Felgenhauer (1986), Jacques (1989), Watling (1989) e Teodósio e Masunari (2007).

## RESULTADOS

### MORFOLOGIA DOS PLEÓPODOS

Ao longo do apêndice foram encontrados dois tipos de setas simples (desprovidas de projeções cuticulares): setas longas e setas robustas. As setas longas distribuem-se ao longo de todo o apêndice, concentram-se na porção distal do pleópodo, formam tufos (Fig.3) nas articulações e apresentam um poro terminal (Fig.4). As setas robustas (Fig.5) apresentam hastes mais curtas e mais engrossadas, distribuindo-se em pequenos grupos ao longo do apêndice.

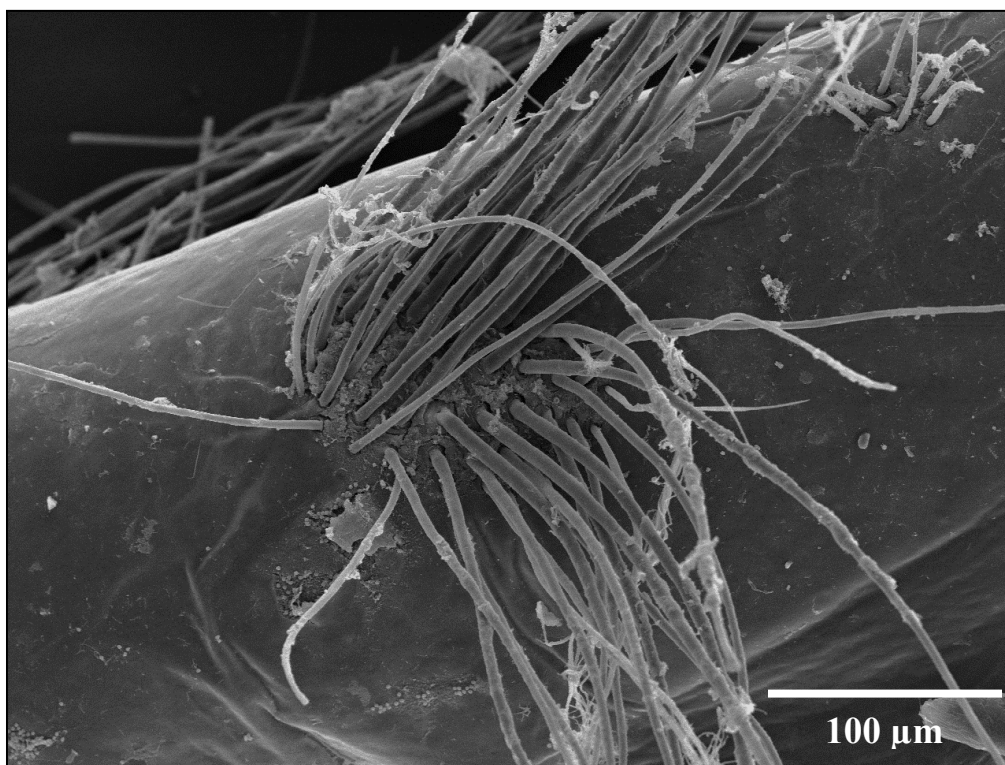


Figura 3: Fotomicrografia em MEV dos pleópodos de *A. platensis* evidenciando as setas simples longas organizadas em tufos.

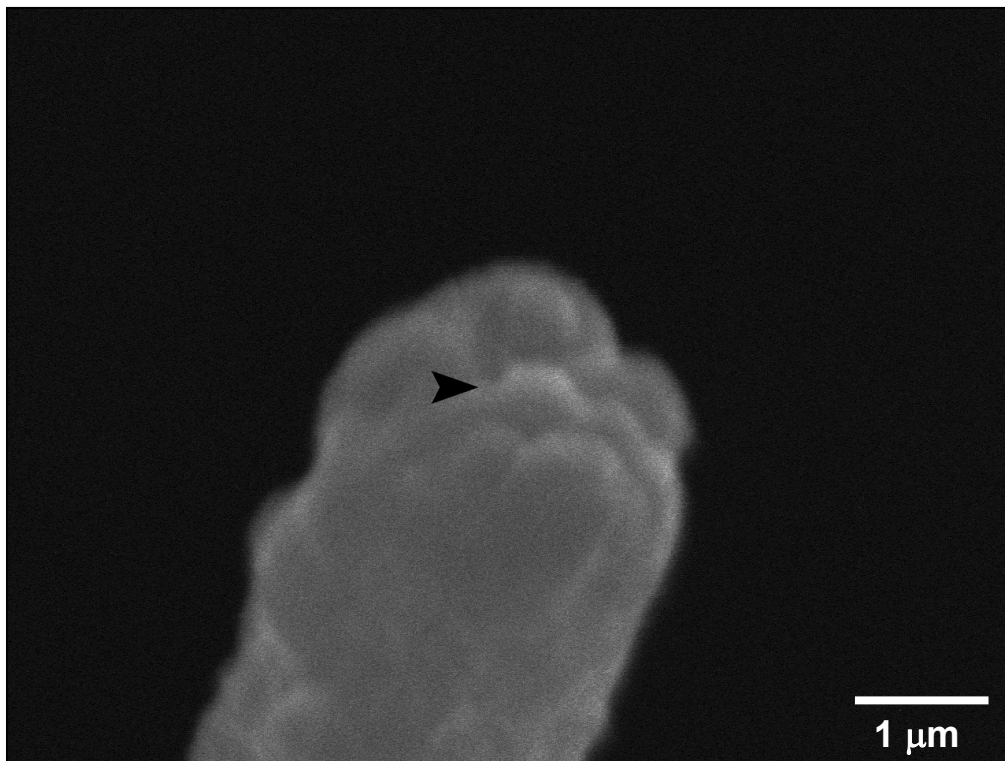


Figura 4: : Fotomicrografia em MEV de uma setas simples longa em *A. platensis*. A seta indica a região do poro terminal.

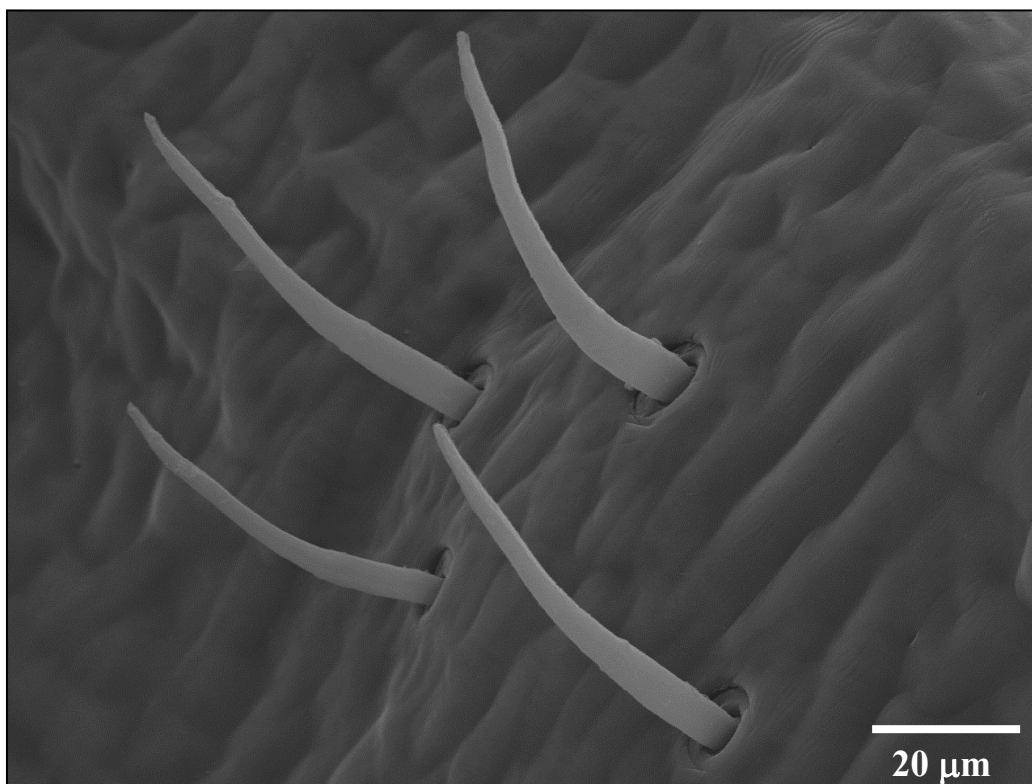


Figura 5: : Fotomicrografia em MEV dos pleópodos de *A. platensis* evidenciando as setas simples robustas.

## FIXAÇÃO DOS OVOS

A análise da morfologia externa dos pleópodos de *A. platensis* evidenciou que a fixação dos ovos ocorre nas setas simples longas acima descritas, também conhecidas como setas pleopodais (Fig.6). Durante o processo de fixação dos ovos, as setas pleopodais que compõem um mesmo tufo enrolam-se umas às outras distalmente e fixam-se na região do funículo do ovo (Fig.7) através de uma substância adesiva que parece envolver não apenas as setas enroladas como também o ovo (Fig.8).

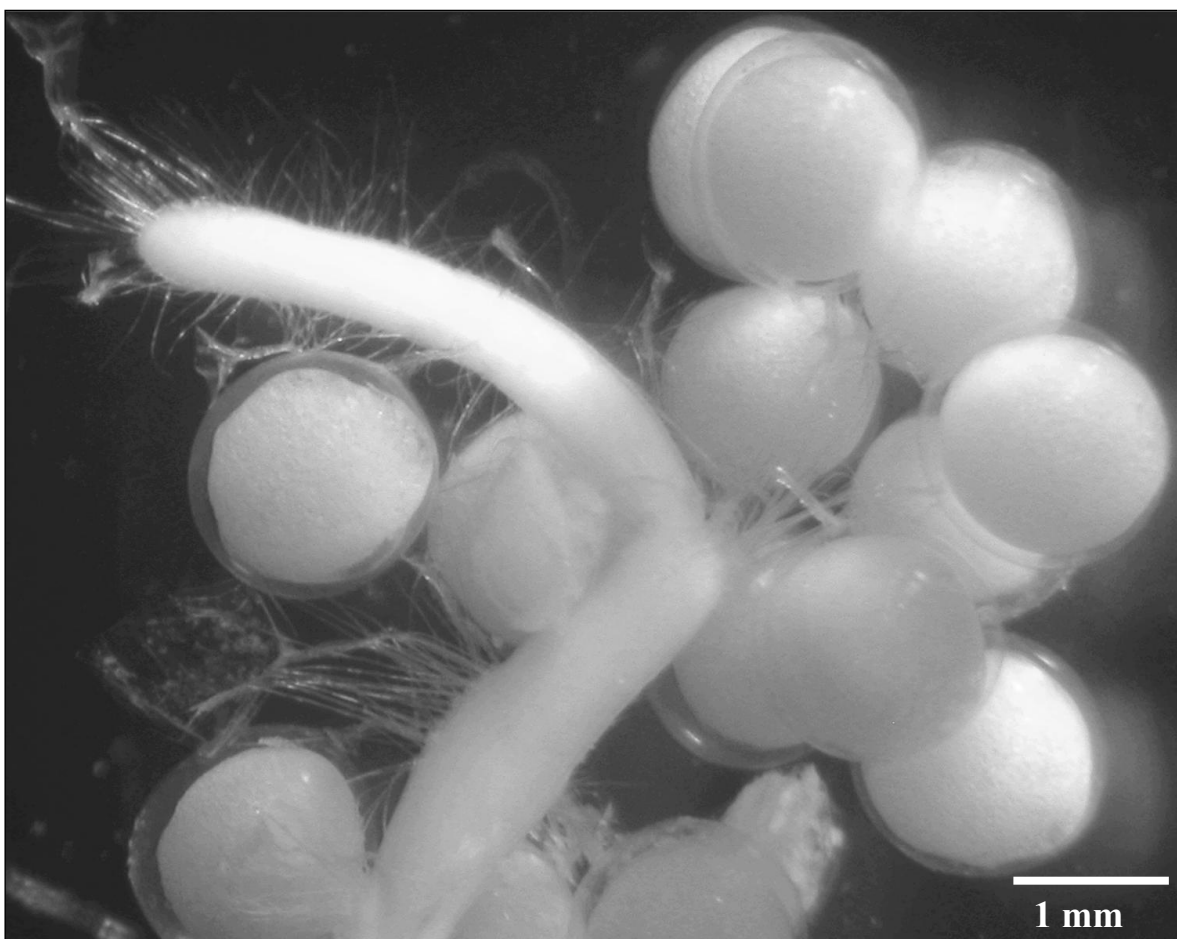


Figure 6: Pleópodo de *A. platensis* com os ovos aderidos às setas pleopodais.

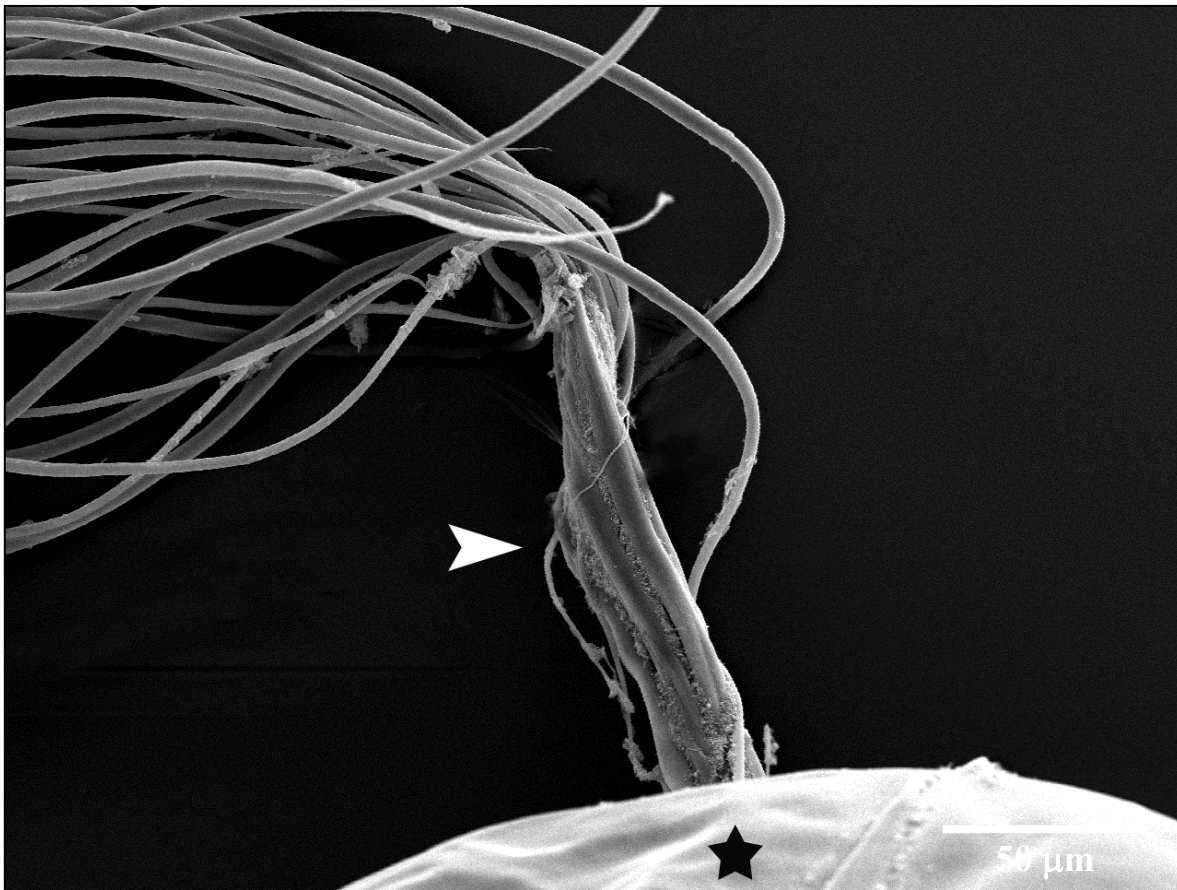


Figura 7: : Fotomicrografia em MEV das setas simples longas de um mesmo tufo presentes nos pleópodos de *A. platensis* evidenciando a região do funículo (apontada pela seta branca). A estrela preta sinaliza o ovo.

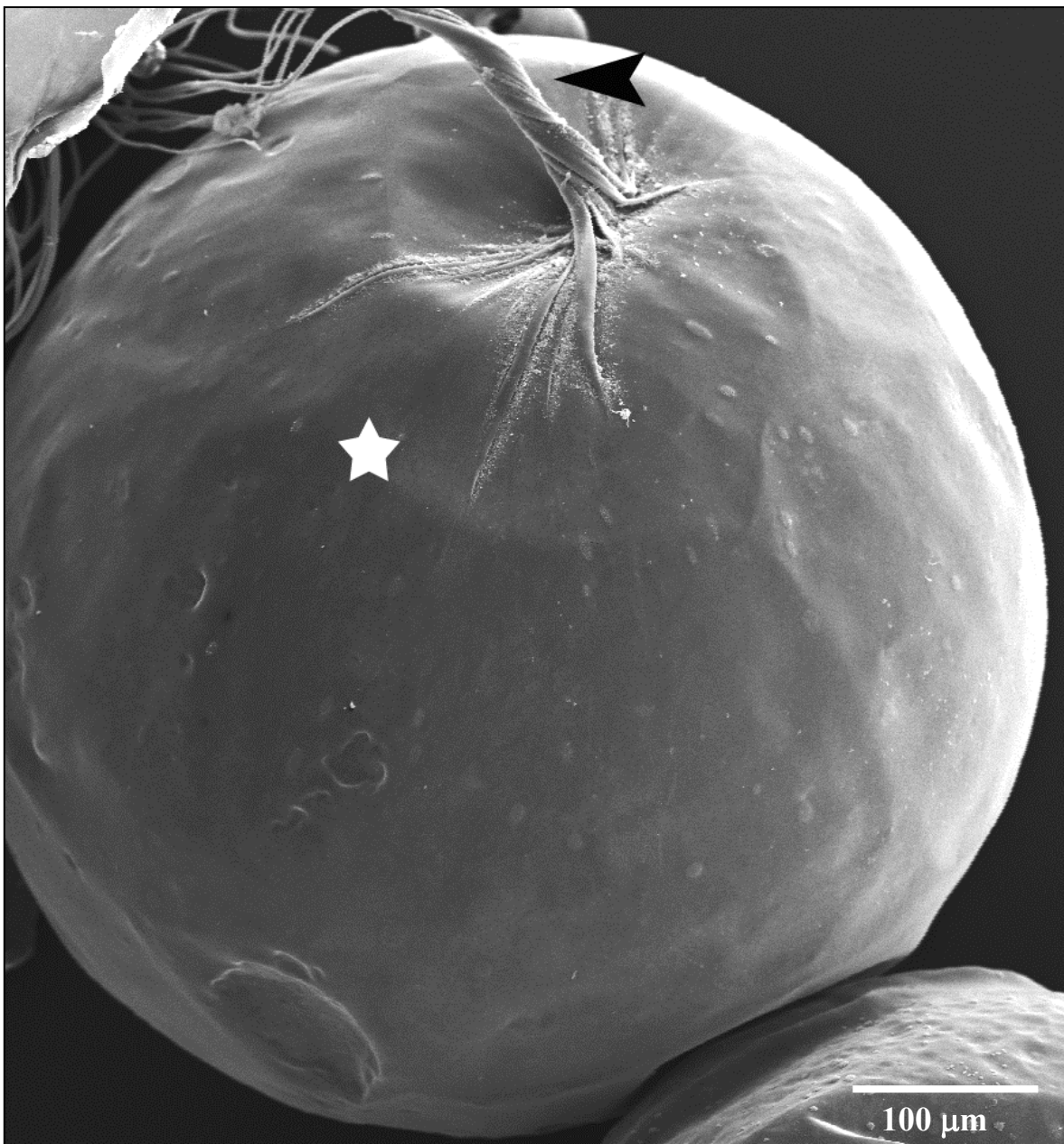
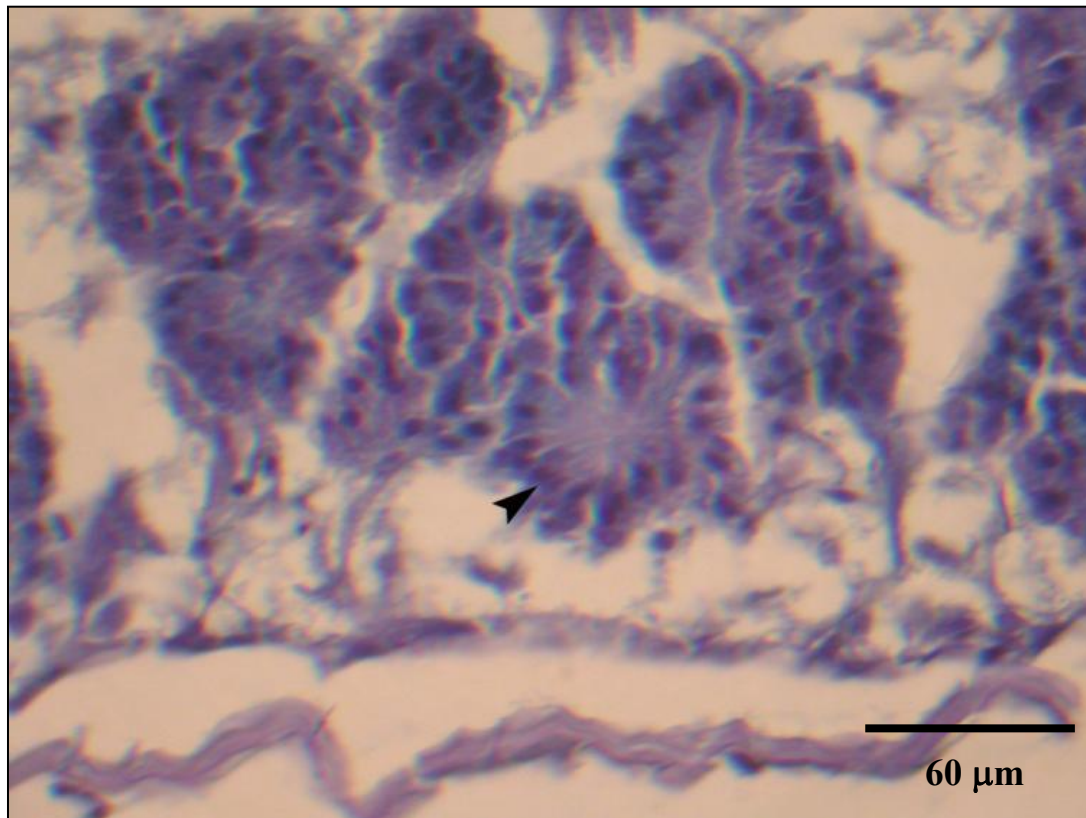


Figura 8: : Fotomicrografia em MEV de um ovo de *A. platensis* (estrela branca). A região do funículo está apontada pela seta preta.

### GLÂNDULAS PLEOPODAIS

As glândulas tegumentares presentes nos pleópodos de *A. platensis* ocorrem na forma de aglomerados ao longo de todo o apêndice. Estes aglomerados são formados por vários ácinos (Fig.9) que possuem inúmeras células secretoras e uma célula dutal. As glândulas estão organizadas em forma de roseta de maneira que as células secretórias se

arranjam concentricamente em torno do duto central onde liberam seus produtos. Este duto possui formato redondo ou oval e se abre através de um poro na superfície do pleópodo (Fig.10).



**Figura 9:** Fotomicrografia em MO de um corte transversal do pleópodo de *A. platensis* evidenciando o aglomerado de ácinos que compõe a glândula pleopodal. A seta preta aponta um dos ácinos.

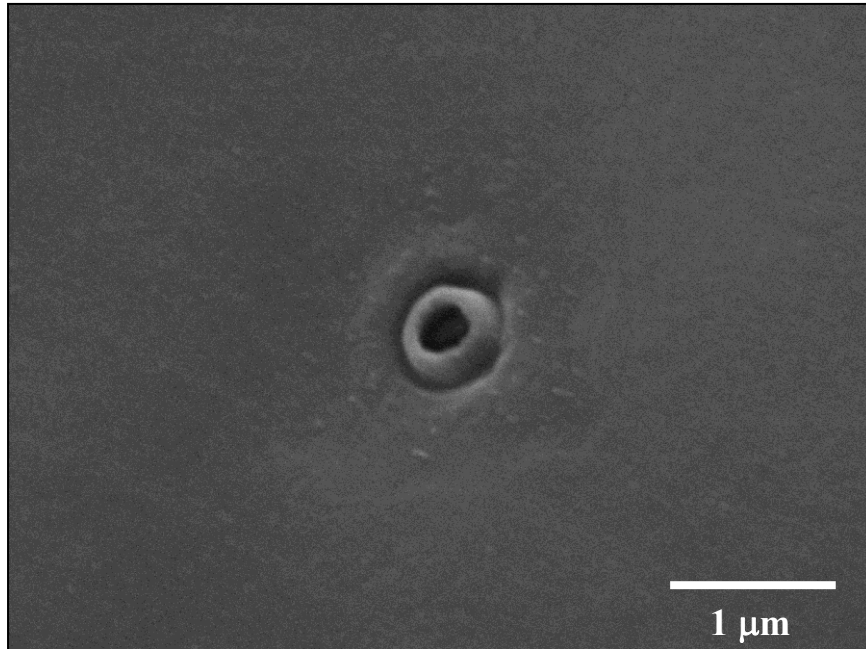
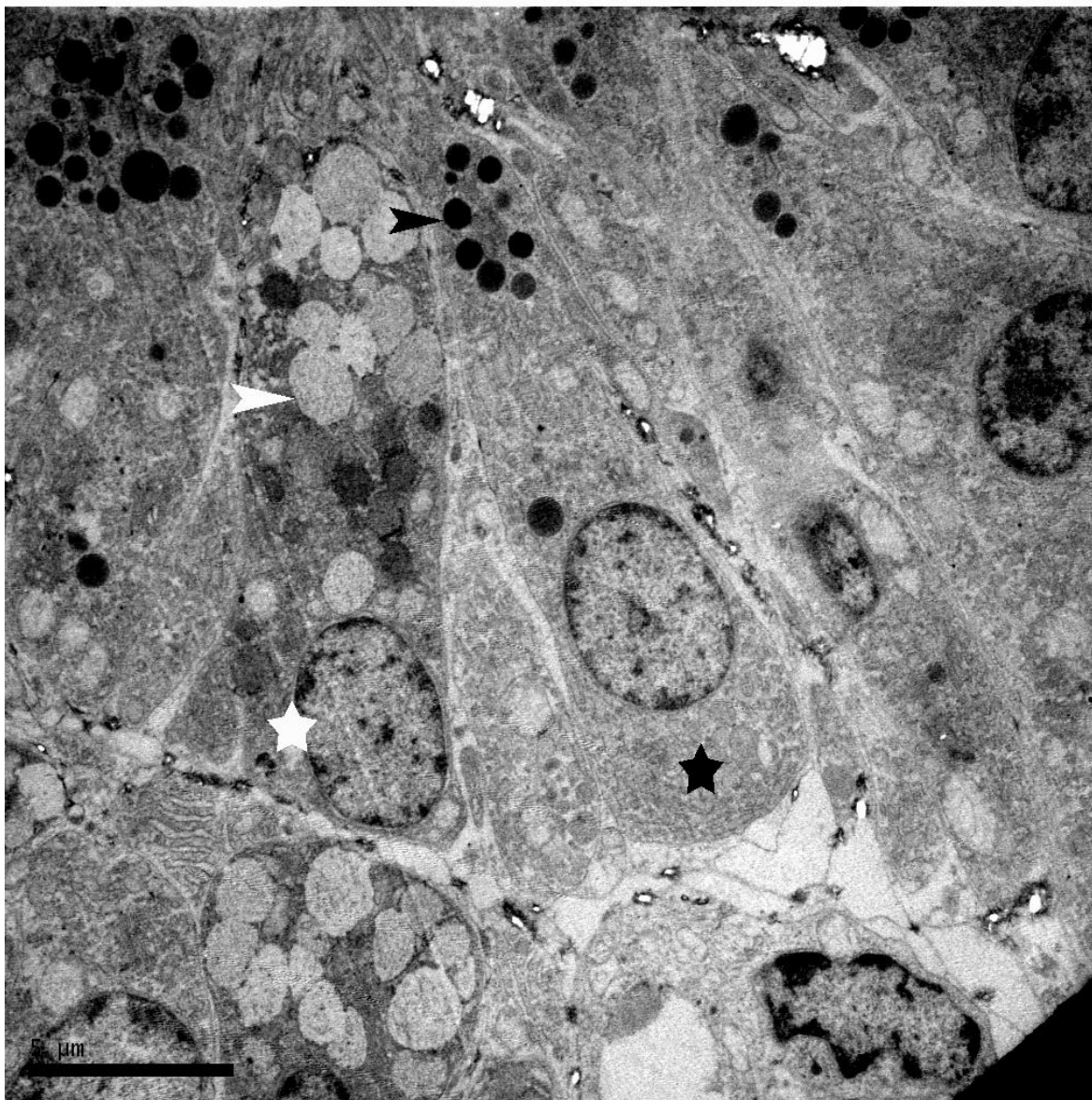


Figura 10: Fotomicrografia em MEV da superfície do pleópodo de *A. platensis* evidenciando a região do poro.

As células secretórias são piramidais (Fig.11), com núcleos esféricos ou ovais e apresentam retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi bastante desenvolvidos, sendo que este último apresenta entre 8 e 10 cisternas. Dois tipos de células secretoras podem ser distinguidos: as células secretoras mucosas (Fig.11) que apresentam núcleos basais e possuem inúmeros grânulos ou vesículas preenchidas por material elétron-lúcido e as células secretoras serosas (Fig.11) que possuem grânulos elétron-densos e seu núcleo está localizado no terço basal. A maioria das células contém somente um dos tipos de grânulos (elétron-densos ou elétron-lúcidos), todavia algumas células apresentam ambos os tipos de grânulos em seu citoplasma. Estes grânulos parecem se fundir conforme se aproximam da região apical da célula e posteriormente liberam seu conteúdo dentro do duto

central.

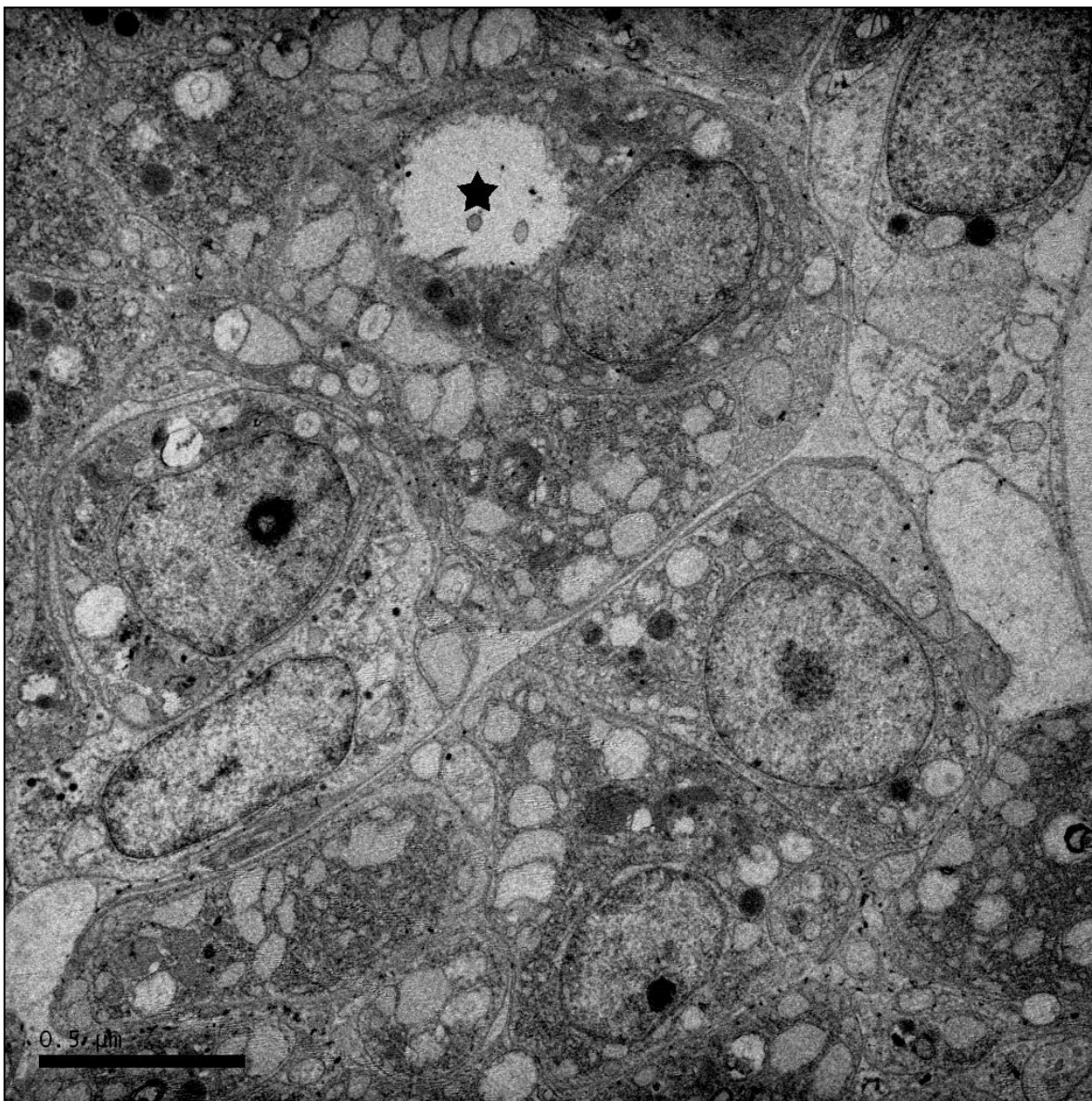


**Figura 11: Fotomicrografia em MET de um corte transversal da glândula pleopodal de *A. platensis* evidenciando as células secretórias piramidais. A seta preta aponta um grânulo de secreção elétron-denso e a seta branca aponta um grânulo de secreção elétron-lúcido. A estrela preta aponta uma célula secretória produtora de grânulos elétron-denso com núcleo localizado na porção terço-basal e a estrela branca aponta uma célula secretória que possui grânulos de ambas elétron densidades e núcleo basal.**

A célula do duto (Fig.12) apresenta retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi menos desenvolvidos que nas células secretórias, o núcleo é ovóide ou esférico e sua



mais importante característica, que inclusive lhe dá o nome, é a presença de um canal que passa por toda a sua extensão e que se abre no espaço extracelular ou lúmen.



**Figura 12: Fotomicrografia em MET de um corte transversal de uma glândula pleopodal de *A. platensis* evidenciando a célula do duto, sinalizada pela estrela preta localizada na porção central do duto presente no citoplasma desta célula.**

## DISCUSSÃO

Os crustáceos constituem um grupo extremamente diverso em vários aspectos, sejam estes taxonômicos, morfológicos ou ecológicos (Martin e Davies, 2001), apresentando uma das mais surpreendentes irradiações evolucionárias no reino animal. Rabalis (1991) e Scholtz (2002) sugerem que habitats de água doce, especialmente os ambientes lóticos, exigiram algumas adaptações específicas dos indivíduos que os colonizaram, de forma que os grandes grupos de decápodos límnicos, como os camarões das famílias Atyidae e Palaemonidae, os lagostins da família Parastacidae e os caranguejos de água doce, incluindo os anomuros da família Aeglidae e os braquiúros da família Trichodactylidae, compartilham algumas similaridades reprodutivas. Estas adaptações ao ambiente límnico incluem a redução do número de ovos, se comparados aos grupos marinhos mais próximos, o aumento do tamanho individual de cada ovo devido a uma grande deposição de vitelo e a abreviação do desenvolvimento larval (Jalihal *et al.*, 1993; Bond-Buckup e Buckup, 1996; Von Sternberg *et al.*, 1999; Reynolds, 2002). Estas adaptações visam a aceleração do desenvolvimento do embrião e dos juvenis, assim como a eclosão de indivíduos já desenvolvidos e independentes, a fim de reduzir o risco de que a prole seja levada pela correnteza ou predada (Jalihal *et al.*, 1993; Hancock, 1998; Burton *et al.*, 2007).

As fêmeas de *A. platensis* possuem 4 pares de pleópodos, onde podem carregar em torno de 60 ovos (Lizardo-Daudt e Bond-Buckup, 2003), desde a oviposição até a eclosão dos mesmos, de forma que todo o desenvolvimento embrionário é completado sob seu abdome. Como apresentam desenvolvimento abreviado sem formas larvais livre natantes, quando os ovos eclodem são liberados indivíduos juvenis morfológicamente semelhantes ao adulto (Verdi, 1985; Jara e Palacios, 2001; Lizardo-Daudt e Bond-Buckup, 2003; López-

Greco *et al.*, 2004;) que ainda permanecem abrigados sob o abdome materno durante alguns dias ou semanas, dependendo da espécie (Rodrigues e Hebling, 1978; Swiech-Ayoub e Masunari, 2001; Fransozo *et al.*, 2003; Lopez-Greco *et al.*, 2004), caracterizando o que Thiel (1999, 2000) denomina cuidado parental estendido. Sendo assim, os eglídeos apresentam cuidado parental não apenas durante a incubação dos ovos, através de sua fixação, manutenção, limpeza, remoção de ectoparasitas e aeração (Martin e Felgenhauer, 1986), mas também durante o período seguinte, caracterizado pela incubação dos juvenis.

Vários autores referiram-se à importância das pesquisas sobre a morfologia, a classificação e a distribuição dos diversos tipos de setas nos artrópodes. O primeiro sistema de classificação apoiado na morfologia funcional das setas de crustáceos foi proposto por Jacques (1989), enquanto Watling (1989) adotou o conceito da homologia das setas para embasar sua classificação. Entre os eglídeos o estudo da morfologia das setas foi desenvolvido principalmente em indivíduos juvenis, por Bond-Buckup *et al.* (1996), Bueno e Bond-Buckup (1996) e Bond-Buckup *et al.* (1998).

Dois tipos morfológicamente distintos de setas pleopodais são observados em *Aegla platensis*: setas simples longas e setas simples robustas; ambos tipos já foram anteriormente descritos por Martin e Felgenhauer, (1986) nesta mesma espécie porém, em diferentes apêndices, estando relacionadas à limpeza do animal. Setas simples longas semelhantes às observadas neste estudo foram encontradas no quinto par de pereiópodos e no terceiro par de maxilípodos de *A. platensis*, enquanto que as setas simples robustas são semelhantes às observadas no terceiro par de maxilípodos. A função das setas pleopodais robustas em *A. platensis* permanece incerta; as setas pleopodais longas, no entanto, estão comprovadamente relacionadas à fixação dos ovos ao pleópodos em *Sesarma haematocheir*

(Saigusa, 1994; Saigusa, 1995; Saigusa *et al.* 2002), *Austropotamobius pallipes* (Thomas, 1991) e em *Cherax cainii* (Burton *et al.* 2007).

Apesar de ainda haver muita discussão entre os pesquisadores quanto à definição do processo envolvido na fixação dos ovos aos pleópodos e do fato de que este mecanismo parece variar entre os grupos de decápodos (Cheung, 1966), a função das setas pleopodais é indiscutível. Estas estruturas parecem constituir sítios de quimiorrecepção, envolvidos no processo de fixação dos ovos. Em *H. americanus* e *P. macrodactylus* as setas ovígeras e as setas pleopodais fixam-se diretamente aos ovos (Talbot, 1991; Fisher e Clark, 1983) enquanto que no caranguejo *Sesarma haematocheir* de Haan, 1887, as setas ovígeras possuem projeções cuticulares denominadas setulas ou pêlos ovígeros aos quais os ovos se fixam (Saigusa *et al.*, 2002).

Outras espécies de crustáceos como lagostins (Andrews, 1906; Thomas, 1991; Burton *et al.*, 2007), camarões (Davis, 1965a; Fisher & Clark, 1983), caranguejos (Davis, 1965b; Cheung, 1966; Saigusa, 1994; Saigusa *et al.*, 2002) e lagostas (Aiken e Waddy, 1982; Johnson e Talbot, 1987) também foram investigadas quanto à fixação dos ovos.

Na maioria dos crustáceos decápodos os ovos aderem-se uns aos outros e às setas pleopodais através de seu revestimento externo e na região de adesão forma-se um pequeno funículo ou pedúnculo (Andrews, 1904; Kamalaveni, 1949; Von Bonde, 1936; Yonge, 1937; Stephens, 1952; Cheung, 1966; Silberbauer, 1971; Goudeau e Lachaise, 1980; Aiken e Waddy, 1982; Goudeau e Becker, 1982; Goudeau e Lachaise, 1983; Fisher e Clark, 1983; Goudeau *et al.*, 1987; Johnson e Talbot, 1987; Thomas, 1991; Saigusa *et al.*, 2002; Burton *et al.*, 2007). Em *P. macrodactylus* a fêmea posiciona-se perpendicularmente durante a oviposição e os ovos movem-se para a cavidade abdominal, sendo fixados uns aos outros e às setas pleopodais por um material adesivo que forma o revestimento externo do ovo. Nos

locais de fixação, o material adesivo tem forma de tira achatada ou de um pedúnculo enrolado, também conhecido como funículo (Fisher e Clark, 1983). Saigusa *et al.* (2002), observaram a fixação dos ovos em *S. haematocheir* na qual os ovos, depois de externalizados, dentro da cavidade abdominal fixam-se às setas ovígeras por um funículo e raramente uns aos outros. O mesmo foi observado em *A. pallipes* (Thomas, 1991).

Os resultados do presente estudo mostram que em *A. platensis*, o processo de fixação dos ovos é semelhante aos supracitados, de forma que os ovos são fixados aos pleópodos maternos através de um funículo que parece ser formado pelo enrolamento de várias setas pleopodais (Fig.8); na região distal, estas setas são grudadas umas as outras e ao ovo por uma substância adesiva. O mesmo processo foi observado por Burton *et al.* (2007) no lagostim *Cherax cainii* Austin & Ryan, 2002.

Talbot (1991) constatou que em *H. americanus* o revestimento externo do ovo e o funículo são produzidos dentro da cavidade abdominal, o mesmo observado para *P. macrodactylus* (Fisher & Clark, 1983), *S. haematocheir* (Saigusa *et al.*, 2002) e *Carcinus maenas* Linnaeus, 1758 (Cheung, 1966) sendo que nesta última espécie, o funículo é comprovadamente derivado do próprio ovo (Goudeau e Lachaise, 1980; Goudeau e Becker, 1982; Goudeau e Lachaise, 1983). Yonge (1937) e Silberbauer (1971) também já haviam sugerido anteriormente que o funículo de *Homarus gammarus* Linnaeus, 1758, *Jasus lalandii* H.Milne-Edwards, 1837 e talvez de outros decápodos seria originado a partir da camada externa do ovo, já Thomas (1991) observou que em *A. pallipes* o funículo possui origem dupla, sendo formado através da união entre as partes distais da ooseta e as camadas externas do ovo. Com relação a *A. platensis*, o funículo parece ser formado pela união das setas pleopodais que compõe um mesmo tufo, sendo que as mesmas são mantidas aderidas

umas as outras por uma substância adesiva, todavia, estudos mais aprofundados serão necessários para o esclarecimento deste processo.

A presença de uma substância adesiva responsável pela fixação do ovo às setas pleopodais foi também observada em lagostins (Andrew, 1904; Von Bonde, 1936; Stephens, 1952), lagostas (Yonge, 1937; Silberbauer, 1971; Aiken & Waddy, 1982; Johnson e Talbot, 1987) e ermitões (Kamalaveni, 1949), entre outros. Burkenroad (1947) e Saigusa *et al.* (2002) sugerem que esta substância cimentante seja produzida pelo próprio ovo, através da fusão das camadas de seu envoltório todavia, Lizardo-Daudt e Bond-Buckup (2003) ao analisar os ovos de *A. platensis* não encontraram nenhuma estrutura que poderia ser a responsável pela produção ou formação de tal substância. Em *A. platensis*, assim como em *H. americanus*, *H. vulgaris*, *J. lalandii* e outros anomuros (Andrews, 1904; Von Bonde, 1936; Stephens, 1952; Aiken & Waddy, 1982; Johnson & Talbot, 1987), este material parece ser secretado pelas glândulas pleopodais.

Braun (1875, 1876) foi o primeiro a reconhecer e descrever as glândulas presentes nos pleópodos de alguns decápodos, todavia, foram as investigações de Cano (1891) que direcionaram mais eficientemente a atenção a estas estruturas. Posteriormente, Williamson (1904) sugeriu, pela primeira vez, que fêmeas de crustáceos possuem estas glândulas a fim de produzir um tipo de substância adesiva cuja finalidade é auxiliar na fixação dos ovos.

Há também pesquisadores que salientam e reconhecem uma relação entre o desenvolvimento do ovário e das glândulas pleopodais ou cimentantes em *H. americanus*, *H. vulgaris* e em outros macruros (Herrick, 1893, 1895, 1909; Yonge, 1937; Stephens, 1952; Cheung, 1964; Aiken e Waddy, 1980; Aiken e Waddy, 1982), o que fortalece a hipótese de que estas glândulas estejam relacionadas à fixação dos ovos. Em *Astacus*

*pallipes* Ninni, 1886 e em *C. maenas* por outro lado, esta relação não foi observada (Cheung, 1966).

Aiken e Waddy (1982) também contribuíram com esta hipótese ao observar que as glândulas de cimento não estão presentes nem em fêmeas imaturas tampouco em machos de *H. americanus*, começando a se desenvolver apenas durante o processo de maturação sexual. Entretanto, Talbot e Zao (1991), estudando a mesma espécie, verificaram que a produção de secreção pelas glândulas pleopodais, além de ser um processo contínuo, ocorre próxima à ecdise, podendo sugerir que estas glândulas estão mais relacionadas ao endurecimento carapaça, como em *Orconectes propinquus* Girard, 1852 (Stevenson e Schneider, 1962), *Palaemonetes pugio* Holthuis, 1949 (Doughtie e Rao, 1982) e *Menippe rumphii* Fabricius, 1798 (Babu *et al.*, 1985).

Cheung (1966) sugere que as glândulas podem estar envolvidas no processo de fertilização dos ovos, provendo substâncias que tornariam o meio favorável a este processo, ou que poderiam estar relacionadas com seu “endurecimento”, função que já havia sido levantada por Dennell (1947) e por Stevenson e Schneider (1962) quando descobriram que estas glândulas produzem tirosinase e compostos fenólicos que endureceriam o ovo ao reagir entre si. A hipótese de Cheung é sustentada pelo fato de que ovos não fertilizados não se fixam adequadamente aos pleópodos de *H. americanus* (Aiken e Waddy, 1980), de forma que alguns são perdidos imediatamente e outros são precariamente fixados e perdidos com o tempo. Isto sugere que a correta fixação dos ovos não depende apenas da produção de uma substância adesiva, mas da interação entre esperma, ovo e secreção cimentante.

As glândulas tegumentares exócrinas presentes nos pleópodos de *A. platensis* são formadas por ácidos que apresentam o mesmo padrão multicelular observado em

outros crustáceos decápodos (Arsenault *et al.*, 1979; Felgenhauer, 1991; Almerão *et al.*, 2007) e que se abrem em poros presentes ao longo de toda a superfície do pleópodo; estas estruturas organizam-se em forma de roseta, de forma que as células secretórias se arranjam concentricamente em torno do duto central onde liberam seus produtos (Aiken and Waddy, 1982; Doughtie and Rao, 1982); o mesmo foi observado em *H. americanus* e *H. vulgaris* (Herrick, 1893, 1895, 1909; Yonge, 1932, 1937; Aiken e Waddy, 1982; Johnson e Talbot, 1987). Glândulas em roseta também foram observadas em embriões de *S. haematocheir* (Ikeda *et al.*, 2005; Saigusa *et al.*, 2002), nas brânquias de *P. pugio* (Doughtie e Rao, 1982) e no quinto par de pereiópodos de *A. platensis* (Almerão *et al.*, 2007).

As células secretórias que compõem as glândulas pleopodais de *A. platensis* são bastante semelhantes às descritas na literatura (Doughtie e Rao, 1982; Alexander, 1989; Felgenhauer, 1991; Talbot e Zao, 1991; Almerão *et al.*, 2007), com formato piramidal e retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi bem desenvolvidos, características relacionadas à atividade secretora destas células (Alberts *et al.*, 1994). As células secretoras mucosas apresentam grânulos de secreção elétron-lúcidos, o que sugere que o material por elas secretado seja mucopolissacarídeo. As células secretoras serosas possuem grânulos elétron-densos, indicando que o material liberado por estas células seja de origem protéica. A célula do duto parece ser responsável pelo estoque das vesículas produzidas pelas células secretórias e sua liberação no duto central (Doughtie e Rao, 1982).

O estudo analisa, pela primeira vez, o mecanismo de fixação dos ovos em eglídeos. A análise dos ovos ou oócitos antes de alcançarem a cavidade abdominal, assim como a análise da secreção das glândulas pleopodais e das camadas componentes do ovo através de testes histoquímicos são passos subseqüentes, necessários para uma melhor avaliação desse processo. Muitas lacunas ainda permanecem quanto à verdadeira função das glândulas



pleopodais, não apenas em eglídeos como em outros crustáceos. Os resultados sugerem estas glândulas estão envolvidas com a produção da substância adesiva responsável pela aderência dos ovos às setas pleopodais, garantindo a correta fixação dos mesmos e conseqüentemente a manutenção do cuidado materno com a prole.

### REFERÊNCIAS

- Aiken DE, Waddy SL. 1980. Reproductive biology. In: Cobb J S, Phillips BF. The biology and management of lobsters. Volume 1. New York: Academic Press. p. 215-276.
- Aiken DE, Waddy SL. 1982. Cement gland development, ovary maturation, and reproductive cycles in the american lobster, *Homarus americanus*. Journal of Crustacean Biology 2: 315-327.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson J D. 1994. Molecular Biology of the Cell. New York: Garland Publishing. 1155p.
- Alexander CG. 1989. Tegumental glands in the paragnaths of *Palaemon serratus* (Crustacea: Natantia). J Mar Biol Ass UK 69:53-64.
- Almerão M, Bond-Buckup G, Mendonça Jr M de S. 2010. Mating behavior of *Aegla platensis* (Crustacea, Anomura, Aeglididae) under laboratory conditions. J Ethol 28:87-94.
- Almerão M, Faccioni-Heuser MC, Bond-Buckup G. 2007. An ultrastructural study of tegumental glands of the fifth pereopods of *Aegla platensis* (anomura: aeglididae). Journal of Crustacean Biology 27:529-533.
- Andrew E A. 1904. Breeding habits of crayfish. American naturalist 38:165-206.
- Anger K. 2001. The biology of decapod crustacean larvae. Lisse: A.A. Balkema Publishers. 419 p.
- Arsenault AL, Clattenburg RE, Aiken DE. 1979. The morphology and secretory-transport mechanism of the tegumental glands of the lobster (*Homarus americanus*) as related to the molt cycle. J Submicr Cytol 11:193-207.

- Babu D, Rao K, Shyamasundari K, Umadevi D. 1985. Histochemistry of the cuticle of the crab *Menippe rumphii* (Fabricius) (Crustacea: Brachyura) in relation to moulting. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 88:129-144.
- Beninger PG, Larocque R. 1998. Gonopod tegumental glands: a new accessory sex gland in the Brachyura. *Marine Biology* 132:435–444.
- Bond-Buckup G, Buckup L. 1994. A família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arquivos de Zoologia* 2: 159-346.
- Bond-Buckup G, Bueno AAP, Keunecke KA. 1996. Primeiro estágio juvenil de *Aegla prado* Schmitt (Crustacea, Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 13:1049–1061.
- Bond-Buckup G. 2003. Família Aeglidae. In: Melo GAS. Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil. São Paulo: Loyola. p 21–116.
- Bond-Buckup G, Santos S. 2007. Crustáceos Anomuros de Águas Continentais- Diversidade e aspectos biológicos. *Ciência & Ambiente UFSM* 35:47-54.
- Braun M. 1875. Ueber die histologischen Vorgänge bei der Haltung von *Astacus fluviatilis*. *Arbeiten aus dem Zoologisch-zootomischen Institut in Würzburg* 2 : 121-166.
- Braun M. 1876. Zur Kenntniss des Vorkommens der Speichel-und Kittdriisen bei den Decapoden.- *Arbeiten aus dem Zoologisch-zootomischen Institut in Würzburg* 3: 472-479.
- Burkenroad MD. 1947. Reproductive activities of decapod crustacea. *American Naturalists* 81:392-398
- Burns J. 1972. The distribution and life history of South American freshwater crabs (*Aegla*) and their role in trout streams and lakes. *Trans. of the Am. Fisheries Soc.* 101:595-607.
- Burton T, Knott B, Judge D, Vercoe P, Brearley A. 2007. Embryonic and juvenile attachment structures in *Cherax cainii* (decapoda: Parastacidae): Implications for maternal care. *The American Midland Naturalist* 157:127-136.

- Bushmann PJ, Atema J. 1996. Nephropore rosette glands of the lobster *Homarus americanus*: possible sources of urine pheromones. *Journal of Crustacean Biology* 16:221–231.
- Cano G. 1891. Morfologia dell apparecchio sessuale femminile, glandule del cemento e fecondazione nei crostacei decapodi. *Mittheilungen der Zoologischen Station Neapel* 9: 503-532.
- Cheung TS. 1966. The development of egg-membranes and egg attachment in the shore crab, *Carcinus maenas*, and some related decapods. *Journal of Marine Biology Association U.K.* 46: 373-400.
- Clutton-Brock T. 1991. The evolution of parental care. Princeton N.J.: Princeton University Press. 368 p.
- Copetti N. 1996. Métodos de Colorações Histológicas e Citológicas. Porto Alegre: Faculdade de medicina da UFRGS. 120p.
- Dennell R. 1947. A study of an insect cuticle: The larval cuticle of *Surcophuga falculuta*. *Pyoc roy Sot* 134: 79-110.
- Davis CC. 1964. A study of the hatching process in aquatic invertebrates. *Hydrobiologia* 23:253–266.
- Davis CC. 1965a. A study of the hatching process in aquatic invertebrates. XIV. An examination of hatching in *Palaemonetes vulgaris* (Say). *Crustaceana* 8:233–238.
- Davis CC. 1965b. A study of the hatching process in aquatic invertebrates. XX. The Blue Crab, *Callinectes sapidus*, Rathbun, XXI. The Nemertean, *Carcinonemertes carcinophila* (K Iliker). *Chesapeake Science* 6:201–208.
- Doughtie DG, Rao KR. 1982. Rosette glands in the gills of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. I. Comparative morphology, cyclical activity, and innervation. *J. Morphol.* 171:41-67.
- Duffy J, Thiel, M. 2007. Evolutionary ecology of social and sexual systems : crustaceans as model organisms. New York: Oxford University Press. 502 p.

- Felgenhauer BE. 1991. External Anatomy and Integumentary Structures. In: Harrison FW, Humes GA, editors. *Microscopic Anatomy of Invertebrates*. New York: Wiley-Liss, p. 7-43.
- Fisher WS, Clark Jr WH. 1983. Eggs of *Palaemon macrodactylus*: I. Attachment to the pleopods and formation of the outer investment coat. *The Biological Bulletin* 164:189-200.
- Fransozo A, Costa RC, Reigada ALD, Nakagaki JM. 2003. Population structure of *Aegla castro* Schmitt, 1942 (Crustacea: Anomura: Aeglidae) from Itatinga (SP), Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 15:13–20.
- Goudeau M, Lachaise F. 1980. Fine structure and secretion of the capsule enclosing the embryo in a crab (*Carcinus maenas* (L.)). *Tissue and Cell* 12:287–308.
- Goudeau M, Lachaise F. 1983. Structure of the egg funiculus and deposition of embryonic envelopes in a crab. *Tissue and Cell* 15:47–62.
- Goudeau M, Talbot P, Harper R. 1987. Mechanism of egg attachment stalk formation in the lobster *Homarus*. *Gamete Res.* 18:279-289.
- Goudeau M, Jacqueline B. 1982. Fertilization in a crab. II. Cytological aspects of the cortical reaction and fertilization envelope elaboration. *Tissue and Cell* 14:273-282.
- Gross MR. 2005. The evolution of parental care. *The Quarterly review of biology* 80:37–45.
- Hazlett BA. 1983. Parental behavior in decapod crustacea. In: Rebach S, Dunham DW, editors. *Studies in adaptation. The behavior of higher Crustacea*. New York: John Wiley & Sons. P 171–193.
- Hancock MA. 1998. The relationship between egg size and embryonic and larval development in the freshwater shrimp *Paratya australiensis* Kemp (Decapoda: Atyidae). *Freshwater Biology* 39:715–723.
- Herrick 1893. Cement glands and origin of egg membranes in the lobster. *Johns Hopkins University Circular* 12: 103.

- Herrick FH. 1895. The American lobster, a study of its habits and development. Bulletin of the United States Fisheries Commission 15: 1-252.
- Herrick FH. 1909. Natural history of the American lobster. Bull. Bur. Fish. 29:149-408.
- Ikeda H, Hirano Y, Saigusa M. 2004. A pair of rosette glands in the embryo and zoeal larva of an estuarine crab *Sesarma haematocheir*, and classification of the tegumental glands in the embryos of other crabs. Journal of Morphology 259:55–68.
- Jacques F. 1989. The setal system of crustaceans: types of setae, groupings, and functional morphology. In: Felgenhauer BE, Watling L, Thistle AB Editors. Functional morphology of feeding and grooming in Crustacea. Crustacean Issues 6. Rotterdam: A.A. Balkema. p.1-13
- Jalihal DR, Sankolli KN, Shenoy S. 1993. Evolution of larval developmental patterns and the process of freshwaterization in the prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae). Crustaceana 65:365–376.
- Jara CG, Palacios VL. 2001. Occurrence of conjoined twins in *Aegla abtao* Schmitt, 1942 (Decapoda, Anomura, Aeglidae). Crustaceana 74:1059–1065.
- Johnson B, Talbot P. 1987. Ultrastructural analysis of the pleopod tegumental glands in male and female lobsters, *Homarus americanus*. Journal of crustacean biology 7:288–301.
- Kamalaveni S. 1949. On the ovaries, copulation and egg-formation in the hermit-crab *Clibanarius olivaceus* Henderson (Crustacea, Decapoda). Journal of the Zoological Society of India 1:12-128.
- Lang D, Yonge CM. 1935. The Function of the Tegumental Glands in the statocyst of *Homarus vulgaris*. J. Mar. Biol. Ass. 20:333.
- Lizardo-Daudt HM, Bond-Buckup G. 2003. Morphological aspects of the embryonic development of *Aegla platensis* (Decapoda, Aeglidae). Crustaceana 76:13–25.
- López Greco LS, Viau V, Lavalpe M, Bond-Buckup G, Rodriguez EM. 2004. Juvenile hatching and maternal care in *Aegla uruguayana* (anomura, aeglidae). Journal of Crustacean Biology 24:309-313.

- Martin JW, Abele LG. 1988. External morphology of the genus *Aegla* (Crustacea: Anomura: Aeglidae). *Smithsonian Contributions to Zoology* 453: 1-46.
- Martin JW, Felgenhauer BE. 1986. Grooming behaviour and the morphology of grooming appendages in the endemic South American crab genus *Aegla* (Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Journal of Zoology* 209:213-224.
- Martin JW, Davis GE, 2001. An updated classification of the recent Crustacea. *Natural History Museum of Los Angeles County, Contributions in Science* 39: 1–164.
- Mason JC. 1970. Egg-laying in the western North American crayfish, *Pacifastacus trowbridgii* (Stimpson)(Decapoda, Astacidae). *Crustaceana* 19:37–44.
- McKenzie L, Alexander C. 1989. Mucus-secreting glands in the paragnaths and second maxillipeds of the Banana Prawn, *Penaeus merguensis* de Man. *Mar. Freshwater Res.* 40:669-677.
- Pandian TJ. 1970. Ecophysiological studies on the developing eggs and embryos of the European lobster *Homarus gammarus*. *Marine Biology* 5:154–167.
- Rabalais NN. 1991. Egg production in crabs with abbreviated development. In: Wenner A, Kurlis A Editors. *Crustacean egg production*. Rotterdam: A.A.Balkema. p 217-234.
- Reynolds E S. 1963. The use of lead citrate of high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Bio* 17: 208-211.
- Reynolds JD. 2002. Growth and reproduction. In: Holdich DM, editor. *Biology of freshwater crayfish*. Oxford: Blackwell Science. p 152–191.
- Rodrigues W, Hebling NJ. 1978. Estudos biológicos em *Aegla perobae* Hebling & Rodrigues, 1977 (Decapoda, Anomura). *Rev. Bras. Biol* 38:383-390.
- Saigusa M, Terajima M, Yamamoto M. 2002. Structure, formation, mechanical properties, and disposal of the embryo attachment system of an estuarine crab, *Sesarma haematocheir*. *The Biological Bulletin* 203:289-306.
- Saigusa M. 1994. A substance inducing the loss of premature embryos from ovigerous crabs. *The Biological Bulletin* 186:81-89.

- Saigusa M. 1995. Bioassay and preliminary characterization of ovigerous-hair stripping substance (OHSS) in hatch water of crab larvae. *The Biological Bulletin* 189:175-184.
- Scholtz G. 2002. Phylogeny and evolution. In: Holdich DM, editor. *Biology of freshwater crayfish*. Oxford: Blackwell Science. p 30–52.
- Silberbauer B I. 1971. The biology of the South African rock lobster *Joasus lolundii* (H. Milne Edwards) - 1. Development. *Investl Rep Div Fish S Afi* 92: 1-70.
- Spalding JF. 1942. The nature and formation of the spermatophore and sperm plug in *Carcinus maenas*. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 2:399-423.
- Stephens GC. 1952. The control of cement gland development in the crayfish, *Cambarus*. *Biological Bulletin* 103:242–258.
- Stevenson JR. 1961. Polyphenol oxidase in the tegumental glands in relation to the molting cycle of the isopod crustacean *Armadillidium vulgare*. *Biol Bull* 121: 554-560.
- Stevenson JR, Schneider RP. 1962. Tyrosinase activity of organs containing tegumental glands in the crayfish. *J. Exp. Zool.* 150:17-25.
- Swiech-Ayoub BP, Masunari S. 2001. Biologia reprodutiva de *Aegla castro* Schmitt (Crustacea, Anomura, Aeglidae) no Buraco do Padre, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 18:1019–1030.
- Talbot P, Zao P. 1991. Secretion at molting by the pleopod tegumental glands of the lobster *Homarus americanus* (Milne Edwards). *Journal of Crustacean Biology* 11:1–9.
- Talbot, P. 1991. Ovulation, attachment and retention of lobster eggs. In: Wenner A, Kuris A, editors. *Crustacean Issues, 7: Crustacean Egg Production*. Rotterdam: A. A. Belkema p 9–18.
- Talbot P, Demers D. 1993. Tegumental glands of Crustacea. In: Horst MN, Freeman JA, editors. *The crustacean integument: morphology and biochemistry*. Boca Raton, FL: CRC Press p 151–191.
- Teodósio EAFMO e Masunari S. 2007. Description of first two juvenile stages of *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Anomura: Aeglidae). *Nauplius* 15: 73-80.

- Thiel M. 1999. Extended parental care behavior in crustaceans – a comparative overview.  
In: Von Vaupel Klein J C, Schram FR editors. The Biodiversity Crisis and Crustacea: Proceedings of the Fourth International Crustacean Congress. Rotterdam: A.A. Balkema p. 221–226.
- Thiel M. 2000. Extended parental care behavior in crustaceans— a comparative overview.  
In: Vaupel Klein JC von, Schram FR, editors. The biodiversity crisis and Crustacea. Crustacean Issues 12. Rotterdam: Balkema. p 211–226.
- Thomas WJ. 1991. Aspects of egg attachment in *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858) (Decapoda, Astacidae). *Crustaceana* 61:287–293.
- Tudge CC. 2003. Endemic and enigmatic: the reproductive biology of *Aegla* (Crustacea: Anomura: Aeglidae) with observations on sperm structure. *Memoirs of Museum Victoria* 60:63–70.
- Verdi AC. 1985. Estudio del desarrollo embrionario en *Aegla prado* Schmitt (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Actas de las Jornadas de Zoología del Uruguay* 36–37.
- Vogt G, Tolley L. 2004. Brood care in freshwater crayfish and relationship with the offspring's sensory deficiencies. *J. Morphol.* 262:566-582.
- Von Sternberg R, Cumberlidge N, Rodriguez G. 1999. On the marine sister groups of the freshwater crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *J Zool Syst Evol Research* 37:19-38.
- Von Bonde C. 1936. The reproduction, embryology and metamorphosis of the Cape Crawfish (*Jasus lalandii* (Milne Edwards) Ortman). Union S. Africa, Dept. Comm. Industr., Fish, and Mar. Biol. Surv. Div., Invest. Rep., No. 6, 1-25.
- Watling L. 1989. A classification system for crustacean setae based on the homology concept. In: Schram FR editor. Functional morphology of feeding and grooming in Crustacea. *Crustacean Issues* 6:15-26.
- Williamson HC. 1904. Contribution to the life-histories of the Edible crab (*Cancer pagurus*) and of other Decapod Crustacea: Impregnation; spawning, casting, distribution, rate of growth. *Rep. Fish. Bd Scotl.* 3:10-140.



Yonge CM. 1932. On the nature and permeability of chitin. I.—The chitin lining the foregut of decapod crustacea and the function of the tegumental glands. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character 111:298–329.

Yonge CM. 1937. The nature and significance of the membranes surrounding the developing eggs of *Homarus vulgaris* and other Decapoda. In: Proceedings of the Zoological Society of London. Vol. 107. pp. 499–517.