

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
CURSO DE BACHARELADO EM BIOLOGIA**

**ÍTALO NUNES DOS SANTOS**

**MORFOLOGIA DO APÊNDICE MASCULINO E MATURIDADE SEXUAL  
DOS MACHOS DE *Macrobrachium jelskii* (MIERS, 1877) (CRUSTACEA:  
DECAPODA: PALAEMONIDAE)**

**Cruz das Almas**

**2020**

**ÍTALO NUNES DOS SANTOS**  
**MORFOLOGIA DO APÊNDICE MASCULINO E MATURIDADE SEXUAL**  
**DOS MACHOS DE *Macrobrachium jelskii* (MIERS, 1877) (CRUSTACEA:**  
**DECAPODA: PALAEMONIDAE)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como parte das exigências do Curso de Graduação de Bacharelado em Biologia, para obtenção do título de Bacharel em Biologia.

**Cruz das Almas**  
**2020**

TERMO DE APROVAÇÃO DO TRABALHO DE  
CONCLUSÃO DE CURSO

Ítalo Nunes dos Santos

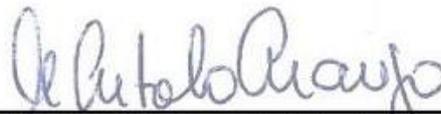
“Morfologia do apêndice masculino e maturidade sexual dos machos de *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae)”

BANCA EXAMINADORA



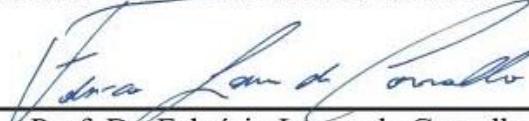
---

Prof. Dr. Sergio Schwarz da Rocha  
orientador(a)  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)



---

Profa. Dra. Mariana Cutolo de Araújo  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)



---

Prof. Dr. Fabricio Lopes de Carvalho  
Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB)

CRUZ DAS ALMAS

Dezembro-2020

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, primeiramente, que me deu força para concluir esta etapa de minha vida, por ter me abençoado e não ter me desamparado nesta etapa.

Inicialmente, gostaria de agradecer a minha família. Especialmente, a minha mãe Rita Conceição Nunes, aquela que nunca me deixou desistir mesmo não entendendo o que eu fazia, que sempre me apoiou e me incentivou, agradeço por ter me auxiliado com tudo que eu precisava durante a minha vida, por ter me ouvido sempre que precisava, por se preocupar se estava tudo indo bem, sem seu apoio eu nada seria e nada alcançaria, a você só tenho agradecimento e dizer que te amo, agradecer aos meus irmãos Ariel e Railene Nunes por me auxiliar e incentivar nesta etapa tão importante na vida, a busca pelo conhecimento e desenvolvimento, agradecer por serem minha inspiração, por serem a imagem daquilo que quero ser.

Agradecer a minha namorada, parceira e incentivadora Beatriz Barbosa de Souza de Jesus, você é e foi um dos pilares mais importante desta minha construção, muito obrigado por todo o incentivo, por todo o apoio e por me ouvir em todas as horas, tanto difíceis como nas alegres, obrigado por abrir meus olhos e enxergar que isto seria o meu futuro e me incentivar a buscar sempre mais conhecimento, a você meu eterno agradecimento. Também agradecer aos seus pais Moacyr e D. Eliana por terem me auxiliados várias e várias vezes, por terem me entendido e pela contribuição valiosa durante toda a jornada, me senti abraçado como um filho.

A todos os amigos que, direta ou indiretamente, participaram da minha formação, Pedro (Pedrinho), Daniel (Bango), Anderson (Samsung), Vinicius, Victor, Bruno, Luiza e Larissa com vocês o riso é certo. E para aqueles que conheci nesta grande universidade, uma grata surpresa, Lucas, Fernanda, Elaine e também Robert, onde esse me auxiliou nas análises estatísticas, meus mais sinceros agradecimentos, a todos vocês só tenho a bendizer, muito obrigado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Sérgio Schwarz da Rocha, por ter me apoiado e incentivado a buscar o conhecimento e pela confiança durante a graduação. Agradeço seus puxões de orelha quando faltava no laboratório, sua disponibilidade em realizar as coletas de campo

e por todas as explicações a um estudante ainda em crescimento. Obrigado pela chance de participar juntamente com você nesta pesquisa.

À Técnica Carolina Yamamoto, pela disponibilidade e imensa paciência com a qual me ajudou a fotografar os apêndices masculinos dos exemplares de camarões.

À Coordenação do Núcleo de Gestão Técnico Específico (NUGTESP/CCAAB: Clínica Fitossanitária) pela disponibilidade dos horários e equipamentos necessários para realização da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marcos Lhano, por permitir o uso de seu estereomicroscópio Zeiss (modelo Discovery V20) para fotografar os apêndices masculinos dos camarões.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) – Campus de Cruz das Almas e ao LABMACRO (Laboratório de Macroinvertebrados Bentônicos) pelo apoio logístico fornecido à realização deste trabalho.

## LISTA DE SÍMBOLOS, FIGURAS, GRÁFICOS E TABELAS

### ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1 - Ilustração de estruturas sexuais de *M. jelskii* -----p. 30

### FOTOGRAFIAS

Fotografia 1A - Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Início do desenvolvimento” -----p. 31

Fotografia 1B - Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Início do desenvolvimento” -----p. 31

Fotografia 2A - Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Em desenvolvimento 1” -----p. 32

Fotografia 2B - Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Em desenvolvimento 1” -----p. 32

Fotografia 3A - Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Em desenvolvimento 2” -----p. 33

Fotografia 3B - Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Em desenvolvimento 2” -----p. 33

Fotografia 4A - Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Totalmente desenvolvido” -----p. 34

### GRÁFICOS

Gráfico 1 - Regressão  $\ln CC$  vs.  $\ln CAM$  dos indivíduos nos estágios “início do desenvolvimento”, “Em desenvolvimento 1”, “Em desenvolvimento 2” e “Totalmente desenvolvido” com as respectivas equações lineares -----p. 22

Gráfico 2 - Regressão  $\ln\text{CAI}$  vs.  $\ln\text{CAM}$  dos indivíduos nos estágios “início do desenvolvimento”, “Em desenvolvimento 1”, “Em desenvolvimento 2” e “Totalmente desenvolvido” com as respectivas equações lineares. -----p. 23

Gráfico 3 - Tamanho da primeira maturação morfológica estimado por regressão logística considerando a relação biométrica comprimento do apêndice masculino vs. comprimento da carapaça -----p. 23

Gráfico 4 - Tamanho da primeira maturação morfológica estimado por regressão logística considerando a relação biométrica comprimento do apêndice masculino vs. comprimento do apêndice interno -----p. 24

## **TABELAS**

Tabela 1 - Comparação dos parâmetros de regressão linear entre os estágios de desenvolvimento do apêndice masculino -----p. 21

Tabela 2. Coeficientes angulares (b) das equações de regressão linear das análises de crescimento relativo entre as variáveis independentes vs. variável dependente e os estados de alometria correspondentes -----p. 22

## RESUMO

DOS SANTOS, Ítalo Nunes, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, dezembro de 2020. **Morfologia do apêndice masculino e maturidade sexual dos machos de *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae).** Orientador: Sérgio Schwarz da Rocha.

Em machos de camarões carídeos existe uma estrutura denominada apêndice masculino, localizado no segundo par de pleópodes, com importante papel reprodutivo. Além disso, sua morfologia também é um importante caráter taxonômico. Desta forma, o presente estudo investigou a morfologia do apêndice masculino e a maturidade sexual de machos de *Macrobrachium jelskii*. Exemplares de *M. jelskii* foram coletados no açude da Fazenda Engenho São João, município de Cruz das Almas, Bahia. A morfologia do apêndice masculino de cada exemplar capturado foi analisada e fotografada sob microscópio óptico. Além disso, foram tomadas as medidas do comprimento da carapaça (CC), comprimento do apêndice masculino (CAM) e comprimento do apêndice interno (CAI), utilizando-se um software de manipulação de imagem. Com base nessas medidas analisou-se o crescimento relativo, considerando as relações biométricas CAM vs. CC e CAM vs. CAI. Em ambos os casos CAM foi considerada variável dependente. As diferentes equações lineares obtidas foram comparadas tiveram seu padrão de alometria determinado. O tamanho médio da primeira maturação morfométrica (L50%) foi estimado a partir de dados de crescimento relativo considerando as relações biométricas mencionadas acima. Ao todo foram analisados 195 machos, cujo CC variou de 3,42mm a 7,41mm. As análises de microscopia óptica permitiram a descrição de quatro estágios de desenvolvimento do apêndice masculino (não desenvolvido; em desenvolvimento 1; em desenvolvimento 2 e; totalmente desenvolvido), bem como detalhes das mudanças ocorridas em sua estrutura a cada estágio. A comparação das inclinações e elevações das retas de regressão comprovou a existência de diferença significativa entre os quatro estágios de desenvolvimento do apêndice masculino. As regressões lineares nos indivíduos em “início do desenvolvimento” também não apresentaram significância estatística. Ambas as relações biométricas estudadas apresentaram os mesmos padrões de alometria, sendo alométrico positivo nos estágios “em desenvolvimento 1” e “totalmente desenvolvido” e isométrico no estágio “em desenvolvimento 2”. O tamanho médio da primeira maturação (L50%) morfométrica para CC vs. CAM foi estimado em 4,82 mm e para CAI vs. CAM foi estimado em 4,81 mm. A morfologia e o desenvolvimento do apêndice masculino de *M. jelskii* mostraram-se compatíveis com o observado em outros carídeos. Além disso, verificou-se uma diminuição na taxa de crescimento com avanço do desenvolvimento do apêndice masculino.

## ABSTRACT

DOS SANTOS, Ítalo Nunes, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, dezembro de 2020. **Morphology of the appendix masculina and size at the onset of maturity of males of *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae)**  
Orientador: Sérgio Schwarz da Rocha.

Caridean prawns males have a structure with an important reproductive role called appendix masculina, which is located in the second pair of pleopods. In addition, its morphology is also an important taxonomic character. Thus, the present study investigated the morphology of the appendix masculina and the size at the onset of sexual maturity of males of *Macrobrachium jelskii*. Specimens were collected in the artificial reservoir of Engenho São João farm, municipality of Cruz das Almas, Bahia. The appendix masculina of each specimen captured was analyzed and photographed under an optical microscope. In addition, measurements of carapace length (CC), appendix masculina length (CAM) and appendix interna length (CAI) were taken, using an image manipulation software. Relative growth analyzes were carried out, considering the biometric relationships CAMvs.CC and CAMvs.CAI. In both cases, CAM was considered as dependent variable. All linear equations were compared and had their allometry pattern determined. The average size at the onset of maturity (L50%) was estimated from relative growth analysis considering the biometric relationships mentioned above. In total, 195 males were analyzed, with CC ranging from 3.42mm to 7.41mm. The analysis of the appendix masculina under optical microscopy allowed the description of four stages of development (undeveloped; development 1; development 2 and; fully developed), and the observation of morphological changes during the development. The comparison of the slopes and elevations of the linear regressions showed significant difference between the four stages of development of the appendix masculina. Considering individuals at "undeveloped" stage, both biometric relationships were not statistically significant. CAMvs.CC and CAMvs.CAI relationships showed the same allometric patterns, with positive allometric in the "development 1" and "fully developed" stages and isometric in the "development 2" stage. The L50% for CAMvs.CC and CAMvs.CAI relationships were respectively 4.82 mm and 4.81 mm. The morphology and development of the appendix masculina of *M. jelskii* were similar to that observed in other caridean prawns. Finally, there was a decrease in the growth rate with advancing development of the appendix masculina.

## ÍNDICE

INTRODUÇÃO	11
OBJETIVOS	16
MATERIAL E MÉTODOS	17
RESULTADOS	19
DISCUSSÃO	24
CONCLUSÃO	28
PRANCHAS DE IMAGENS	29
REFERÊNCIAS	34

## INTRODUÇÃO

A maioria das espécies de camarões de água doce pertence ao gênero *Macrobrachium* Spence Bate, 1868, o qual compreende 250 espécies, com ampla distribuição geográfica nas regiões tropicais e subtropicais do planeta (DE GRAVE; FRANSEN, 2011; MAGALHÃES *et al.*, 2016; VERA-SILVA *et al.*, 2016; SAENGPAN *et al.*, 2018; ROSSI *et al.*, 2020). Atualmente são registradas 20 espécies no Brasil (MACIEL *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2013; VERA-SILVA *et al.*, 2016; ROSSI *et al.*, 2020), algumas delas de importância econômica (SILVA; VIANA, 2009; DE GRAVE; FRANSEN, 2011; PILEGGI; MANTELATTO, 2012; DE GRAVE; ASHELBY, 2013).

Dentre todas essas espécies, *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) é dito como endêmica da América do Sul e com ocorrência, natural ou introduzida, na maioria das bacias hidrográficas do Brasil (MAGALHÃES *et al.*, 2004; VERA-SILVA *et al.*, 2016). Caracterizado por ser um crustáceo de pequeno porte, seu nome popular no Brasil é “camarão-sosso” (BASTOS; PAIVA, 1959).

Segundo Montoya (2003) e Silva *et al.*, (2019), *M. jelskii* pode ser comumente encontrada em associação com raízes de plantas aquáticas, as quais são utilizadas como recursos nutricionais e proteção para fêmeas ovígeras e para indivíduos de diferentes estágios de desenvolvimento, incluindo larvas. Além disso, tem uma grande importância ecológica nos ambientes límnicos (SILVA *et al.*, 2019), alimentando-se de larvas de insetos, diatomáceas e algas (MELO, 2003; CIRILO *et al.*, 2011), bem como servindo de alimento para peixes e outros animais (BAUER, 2004; MAGALHÃES *et al.*, 2014). Apesar de seu pequeno porte, a espécie é utilizada como fonte de alimentação para ribeirinhos e também como isca para pesca, e aquariofilia constituindo um item de valor econômico em algumas regiões do Brasil (CIRILO *et al.*, 2011; VERA-SILVA *et al.*, 2016).

*Macrobrachium jelskii* é um camarão restrito à água doce, uma vez que Gamba (1984) e Magalhães (2000) confirmaram que esta espécie possui desenvolvimento larval abreviado (de 9 a 15 dias de duração), independente da água salobra, incluindo dois zigóticos e um estágio pós-zigótico antes de chegar ao estágio juvenil. Com relação a aspectos reprodutivos, segundo Rocha e Barbosa (2017) a estratégia reprodutiva da espécie é do tipo “pure search” (*sensu* CORREA; THIEL, 2003) e o padrão reprodutivo mais frequente nas populações é o contínuo-sazonal.

O estudo da maturidade sexual torna possível a compreensão das diferentes estratégias reprodutivas empregadas por determinado crustáceo e do momento em que machos e fêmeas começam a atuar diretamente na flutuação populacional (LIMA; OSHIRO, 2006; MOURA; COELHO, 2004). Variações no tamanho da maturidade podem ser causadas por diferenças na taxa de crescimento e variação de parâmetros físicos, químicos e biológicos que podem ocorrer sazonalmente ou em diferentes localidades (WENNER *et al.*, 1985). A maturidade sexual está diretamente relacionada à capacidade dos indivíduos se reproduzirem, e é um dos processos regulatórios mais importantes para manutenção de estoques em populações naturais (COBO; FRANZOZO, 1998). A maturidade sexual de um crustáceo pode ser avaliada do ponto de vista fisiológico, morfométrico, funcional e comportamental (HARTNOLL, 1978, 1985; GONZÁLES-PISANI *et al.*, 2017; WAIHO *et al.*, 2017).

A maturidade fisiológica ou maturidade gonadal em crustáceos caracteriza-se pela capacidade fisiológica de produzir gametas, sendo caracterizada, principalmente, pela presença de gametas plenamente desenvolvidos nas gônadas, espermatozóides nos vasos deferentes em machos e receptáculos seminais de fêmeas repletos de conteúdo espermático em seu interior (HARTNOLL, 1969; CONAN; COMEAU, 1986; GERHART; BERT, 2008; GONZÁLES-PISANI *et al.*, 2017; WAIHO *et al.*, 2017).

Por outro lado, entende-se por maturidade morfométrica aquela que é estimada a partir da relação alométrica entre uma dada medida padrão do corpo (exemplo: comprimento ou largura da carapaça) e várias outras dimensões corporais (exemplo: quelípodas, abdômen, etc.), uma vez que os caracteres sexuais secundários aparecem e se desenvolvem de maneira diferente entre as fases imatura e madura (SASTRY, 1983; HAEFNER, 1990; DARIM, 2007; SOUZA, 2008). Neste contexto, o crescimento relativo é o estudo das relações de dimensões entre partes do corpo ou de órgãos (HARTNOLL, 1978, 1982; VALENTI, 1989) e pode ser utilizado na determinação das diferentes fases de crescimento de crustáceos, as quais são frequentemente relacionadas ao seu estágio de desenvolvimento reprodutivo (HARTNOLL, 1978). Segundo, Rodrigues (1985), refere-se a crescimento relativo quando determinadas dimensões aumentam segundo taxas iguais (isométricas) ou diferentes (alométricas) em relação a outras, levando, na segunda hipótese, a modificações nas proporções ao longo do tempo. Pesquisas com camarões carídeos se dedicaram a estudar e mensurar estas alterações, as quais são de grande importância para determinar certos atributos biológicos como, por exemplo, o tamanho

da primeira maturidade (PANTALEÃO *et al.*, 2012; PASCHOAL *et al.*, 2013; AHAMED; OHTOMI 2014; HERRERA *et al.*, 2017; NOGUEIRA *et al.*, 2019).

Segundo Gerhart e Bert (2008) e Gonzáles-Pisani *et al.*, (2017), a maturidade comportamental é caracterizada pela habilidade do crustáceo acasalar e pode ser verificada pela observação direta de cópula ou presença de marcas de acasalamento, ou seja, comportamentos associados com a reprodução.

A maturidade funcional envolve a capacidade de ambos os sexos participarem efetivamente no processo reprodutivo, ou seja, possuem todas as funcionalidades necessárias para realizar a cópula. Segundo Gerhart e Bert (2008), para se alcançar a maturidade funcional os estágios de maturidade comportamental, morfológica e fisiológica devem ser alcançados. Um dos principais critérios usados para a determinação da maturidade funcional em crustáceos pleociemados é a observação de fêmeas no estado ovígero (portando ovos no abdômen) e marcas de cópula nos indivíduos (*e.g.* cicatrizes de abrasão) e presença de apêndice masculino totalmente desenvolvido (HARTNOLL, 1969; CONAN; COMEAU, 1986; VIAU *et al.*, 2006; BAUER, 2004; GERHART; BERT, 2008; GONZÁLES-PISANI *et al.*, 2017; WAIHO *et al.*, 2017).

Em camarões carídeos (*e.g.* *M. jelskii*) a transferência de esperma é indireta, sendo que o macho deve entregar um espermatóforo pegajoso para a fêmea, mas sem aderi-lo nos apêndices das fêmeas (BAUER, 2004). Para tanto, nos machos é observada a presença de uma estrutura denominada apêndice masculino, localizado no segundo par de pleópodes. Tal estrutura, juntamente com o apêndice interno podem se adaptar para evitar a adesão do espermatóforo em locais inadequados (BAUER, 2004). Neste contexto, os apêndices masculinos desempenham papel fundamental na transferência de espermatóforos (BERKELEY, 1930; DESCOUTERELLE, 1971; LAMPRI, 2015). Tal fato foi comprovado em experimento no qual machos adultos de *Pandalus stenolepis* (Rathbun, 1902) tiveram os endópodes dos segundos pleópodes amputados e apesar de conseguirem se acasalar com fêmeas, não transmitiram espermatóforos (BERKELEY, 1930). Portanto, o apêndice masculino é um importante caractere sexual secundário, diretamente associado à maturidade sexual do indivíduo (TOMBES; FOSTER, 1979; GRILLI *et al.*, 2014; LAMPRI, 2015).

Além da sua importância para o processo de acasalamento e sua relação com a estratégia sexual dos carídeos, em alguns gêneros (*e.g.* *Macrobrachium*, *Leptocheila*, *Eualus*, *Potimirim*) a morfologia do apêndice masculino também é um importante caráter

taxonômico, sendo frequentemente descrito de acordo com seu formato, número, localização e tipos de cerdas e tamanho relativo ao apêndice interno (TOMBES; FOSTER, 1979; HAYASHI, 1995; MELO, 2003; JENSEN, 2004; TORATI; MANTELATTO, 2012).

A maioria dos trabalhos realizados com *M. jelskii* abordou aspectos de sua biologia populacional (PAIVA; BARRETO, 1960; GAMBA, 1997; BARROS-ALVES *et al.*, 2012; LIMA *et al.*, 2013; MOSSOLIN *et al.*, 2013; SOARES *et al.*, 2015; ROCHA; BARBOSA, 2017), ecologia (WILLINER; COLLINS, 2002; MONTOYA, 2003; SILVA *et al.*, 2019). Neste contexto, apenas três trabalhos abordaram a maturidade sexual da espécie, sendo dois deles exclusivamente em fêmeas (SOARES *et al.*, 2015; ROCHA; BARBOSA, 2017) e outro em ambos os sexos (SILVA *et al.*, 2018).

Além disso, pouca atenção tem sido dada à morfologia do apêndice masculino de *M. jelskii*. Tanto a descrição original da espécie feita por Miers (1877) quanto Melo (2003) não fazem menção a características desta estrutura. Mais recentemente, Vera-Silva *et al.* (2017) realizaram a redescrição *M. jelskii*, propondo características que permitissem uma diferenciação mais clara dessa espécie quando comparada a outras espécies congêneres que ocorrem na América do Sul. Entretanto, estes últimos autores também deram pouca atenção à morfologia do apêndice masculino.

Conhecer e identificar quando o crustáceo chega à sua maturidade sexual é um parâmetro chave para a compreensão do seu ciclo de vida. Além disso, informações sobre crescimento relativo, aliadas à maturidade sexual complementam o conhecimento geral do padrão reprodutivo e outros aspectos da biologia de uma espécie.

Até o presente momento não há trabalhos abordando a análise morfológica do apêndice masculino de *M. jelskii* sob microscopia de luz. Além disso, considerando que o apêndice masculino é um importante caractere sexual secundário, fundamental para a capacidade reprodutiva dos machos, a descrição do seu desenvolvimento e ultraestrutura em *M. jelskii* auxiliará trabalhos futuros. Estes poderão permitir a compreensão dos mecanismos de pareamento, cópula e transferência dos espermatóforos, bem como poderá ampliar o conhecimento da estratégia sexual e aspectos reprodutivos desta espécie. Todas essas informações são fundamentais para avaliar as variações na dinâmica populacional em diferentes escalas de áreas geográficas, bem como para o desenvolvimento de programas para conservação de espécies naturais (SOUZA, 2008). Por fim, o acompanhamento do desenvolvimento desta estrutura também pode ser usado como

critério para o estabelecimento do tamanho de maturação, definindo o tamanho em que os animais passam da fase jovem para a adulta.

## OBJETIVOS

### GERAL:

Detectar modificações morfológicas no decorrer do desenvolvimento do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* e calcular o tamanho da primeira maturidade em machos.

### ESPECÍFICOS:

- Descrever o apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* usando microscopia de luz;
- Verificar diferenças no crescimento relativo de machos com diferentes graus de desenvolvimento do apêndice masculino;
- Quantificar e analisar o grau de alometria, com base no crescimento relativo do apêndice masculino em relação ao comprimento da carapaça e comprimento do apêndice interno.
- Estimar a maturidade morfométrica dos machos a partir de análises de crescimento relativo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo foram utilizados animais previamente coletados e armazenados na coleção de crustáceos do Laboratório de Macroinvertebrados Bentônicos da UFRB, bem como outros coletados durante o ano de 2018 e 2019, no açude da Fazenda Engenho São João (12°42'14,9"S 39°02'58,9"O), localizado na zona rural de Cruz das Almas. Material testemunho desta localidade encontra-se depositado no Museu de Zoologia da UFBA (MZUFBA 2723). Todos os exemplares foram coletados com peneira (malha 0,5 mm), passada em movimentos ascendentes por entre a vegetação marginal. A captura foi realizada em profundidades que variavam de 30 a 70 cm.

No laboratório de Macroinvertebrados Bentônicos da UFRB (LABMACRO), todos os exemplares tiveram o sexo determinado com base na presença (machos) ou ausência (fêmeas) do apêndice sexual masculino, localizado no segundo par de pleópodos. Após a identificação do sexo, os machos foram separados para análise detalhada do apêndice masculino a partir da dissecação do segundo pleópodo. Este procedimento teve o auxílio de pinças e um estereomicroscópio Nikon SMZ1000, dotado de câmera digital Motic e software de manipulação de imagens (Motic Image Plus 2.0). De cada exemplar foi aferido o comprimento da carapaça (CC) (da margem pós-orbital até a margem posterior da carapaça), comprimento do apêndice masculino (CAM) (da base até a margem apical do apêndice masculino) e o comprimento do apêndice interno (CAI) (da base até a margem apical do apêndice interno) (Ilustração 1), utilizando-se o software Motic Image Plus 2.0.

Na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, a morfologia de todos os estágios de desenvolvimento do apêndice masculino foi analisada sob microscópio óptico (Zeiss, modelo Axio Imager 2). Os diferentes graus de desenvolvimento foram definidos por critérios de tamanho e mudanças morfológicas do apêndice masculino, ou seja, o comprimento que os apêndices masculinos se apresentavam (quanto maior comprimento, mais desenvolvido) e progressivo desenvolvimento e aumento da quantidade de cerdas (maior quantidade, mais desenvolvido).

Todo o conjunto de dados provenientes das medições citadas acima sofreu transformação logarítmica e foi submetido a sucessivas análises estatísticas de regressão, nas quais foram calculados os resíduos padrões (Microsoft Office EXCEL 2003). A

análise desses resíduos permitiu otimizar o ajuste do modelo linear ao conjunto de dados. Para tanto, quando o módulo dos valores foi maior ou igual a 2,57 ( $p < 0,01$ ), estes foram considerados outliers e excluídos do conjunto de pontos. Este procedimento foi repetido até que todos os outliers fossem detectados e excluídos. Estas análises de regressão foram aplicadas para verificação do crescimento relativo, considerando as seguintes relações biométricas:

- Comprimento do Apêndice Masculino (CAM) (variável dependente) vs. Comprimento da Carapaça (CC) (variável independente);
- Comprimento do Apêndice Masculino (CAM) (variável dependente) vs. Comprimento do Apêndice Interno (CAI) (variável independente).

As equações de cada regressão linear provenientes dos diferentes graus de desenvolvimento do apêndice masculino em relação às variáveis independentes citadas acima foram testadas por análise de variância (ANOVA). As inclinações (coeficiente angular) e elevações (coeficiente linear) das diferentes equações foram comparadas, respectivamente, por análise de covariância (ANCOVA) e pelo teste t de Student apropriado para a comparação de retas, considerando um intervalo de confiança de 95% (ZAR, 1996).

A alometria em cada conjunto de dados foi verificada a partir de comparações dos valores das inclinações da equação linear das retas obtidas, utilizando-se o teste t de Student (ZAR, 1996). Assim, foi possível classificar o crescimento relativo de três formas:  $b < 1$ , alometria negativa – a variável dependente (CAM) cresce a uma taxa relativamente menor que as variáveis independentes (CC e CAI);  $b > 1$ , alometria positiva – a variável dependente (CAM) cresce em uma taxa relativamente maior que as variáveis independentes (CC e CAI) e;  $b = 1$ , crescimento isométrico – as variáveis dependente e independente crescem na mesma proporção (FONTELES FILHO, 1989).

O tamanho médio da primeira maturação morfométrica (L50%) foi estimado a partir de dados de crescimento relativo considerando as relações biométricas mencionadas acima. O L50% foi determinado pela interpolação da equação obtida através da regressão logística (PAGANO; GAUVREAU, 2006) na condição do indivíduo (imaturo = 0; maduro = 1) versus o comprimento da carapaça e comprimento do apêndice interno. Todas as análises estatísticas ( $\alpha = 0.05$ ) foram realizadas utilizando-se os programas de computador P.A.S.T (HAMMER *et al.*, 2001) e Microsoft Office EXCEL 2003 ou superior.

## RESULTADOS

Foram analisados 195 machos, cujo tamanho (CC) variou de 3,42mm a 7,41mm. A partir das análises de microscopia óptica foi possível descrever o apêndice masculino e as mudanças ocorridas em sua estrutura em quatro estágios de desenvolvimento, assim designados por:

- a) **Início do desenvolvimento:** Neste estágio foram observados 28 indivíduos com CC variando de 3,42mm a 5,79mm. O apêndice masculino apresentava tamanho reduzido, variando de 0,06mm a 0,30mm de comprimento e média igual a 0,15mm ( $\pm 0,06$  mm). Apresentava-se pouco desenvolvido, como um pequeno broto, sem forma definível, localizado na base do apêndice interno; sem cerdas em sua superfície; o seu comprimento total não alcançando o terço proximal do apêndice interno. (Figura 1A e 1B)
- b) **Em desenvolvimento 1:** Neste estágio foram observados 41 indivíduos com CC variando de 3,56mm a 4,75mm. O apêndice masculino tinha formato mais longo do que largo, uma única cerda na extremidade apical; comprimento variando entre 0,15mm e 0,60mm, com média igual a 0,48mm ( $\pm 0,13$  mm), correspondendo a cerca de 1,4 vezes o comprimento do apêndice interno (Figura 2A e 2B).
- c) **Em desenvolvimento 2:** Neste estágio foram observados 38 indivíduos com CC variando de 3,93mm a 5,34mm. O apêndice masculino tinha formato mais longo do que largo; possui um intervalo sem cerdas que vai do ápice até a base do apêndice masculino; comprimento variando entre 0,33mm e 0,92mm, com média igual a 0,68mm ( $\pm 0,11$  mm), correspondendo a cerca de 1,75 vezes o comprimento do apêndice interno (Figura 3A e 3B).
- d) **Totalmente desenvolvido:** Neste estágio foram observados 88 indivíduos com CC variando de 4,19mm a 7,41mm. O apêndice masculino apresentava comprimento variando entre 0,72mm e 1,62mm, com média igual a 1,08mm ( $\pm 0,19$  mm), correspondendo a cerca de 2,00 vezes o comprimento do apêndice interno; formato levemente curvado em direção ao endopódito a partir da metade de seu comprimento; cerdas na extremidade apical, diminuindo gradativamente de quantidade até próximo à sua base; observa-se a formação de uma linha de cerdas na sua face lateral passando mais da metade do apêndice (Figura 4A).

As regressões lineares da relação  $\ln CC$  vs.  $\ln CAM$  nos estágios “em desenvolvimento 1”, “em desenvolvimento 2” e “totalmente desenvolvido” podem ser representadas, respectivamente, pelas equações:  $y = 3,7673x - 6,3039$  ( $R^2 = 0,67$ ),  $y = 1,1809x - 2,153$  ( $R^2 = 0,43$ ) e  $y = 1,5464x - 2,536$  ( $R^2 = 0,86$ ) (Gráfico 1). Cabe aqui ressaltar que a regressão linear da relação biométrica do estágio inicial do desenvolvimento, representada pela equação  $y = 0,4503x - 2,6076$  ( $R^2 = 0,0119$ ), não foi significativa ( $F = 0,31$ ;  $p = 0,58$ ), não sendo, portanto, usada no restante das análises. O teste de ANCOVA detectou diferença significativa entre as retas de regressão dos estágios “em desenvolvimento 1” em comparação a “em desenvolvimento 2” e “em desenvolvimento 1” em comparação a “totalmente desenvolvido”. Por outro lado, quando comparadas as regressões lineares dos estágios “em desenvolvimento 2” e “totalmente desenvolvido” a ANCOVA não detectou diferença significativa ( $F = 3,414$ ;  $p = 0,07$ ) na inclinação das retas. Neste último caso, testou-se também a elevação das retas, as quais foram significativamente diferentes (Tabela 1). Desta forma, as regressões lineares dos estágios “em desenvolvimento 2” e “totalmente desenvolvido” foram consideradas estatisticamente diferentes.

A regressão linear da relação biométrica  $\ln CAI$  vs.  $\ln CAM$  nos indivíduos em “início do desenvolvimento”, representada pela equação  $y = 0,7594x - 1,1039$  ( $R^2 = 0,053$ ) também não apresentou significância estatística ( $F = 1,45$ ;  $p = 0,24$ ) e por este motivo também não foi considerada para o restante das análises. Já nos animais com apêndice masculino “em desenvolvimento 1”, “em desenvolvimento 2” e “totalmente desenvolvido” as regressões foram significativas, com valores aceitáveis de  $R^2$ , apresentando as respectivas equações:  $y = 2,1466x + 1,4925$  ( $R^2 = 0,74$ );  $y = 1,1521x + 0,6959$  ( $R^2 = 0,50$ ) e;  $y = 1,121x + 0,7785$  ( $R^2 = 0,82$ ) (Gráfico 2). O teste de ANCOVA detectou diferença significativa entre as retas de regressão dos estágios “em desenvolvimento 1” em comparação a “em desenvolvimento 2” e “em desenvolvimento 1” em comparação a “totalmente desenvolvido”. Por outro lado, quando comparadas as regressões lineares dos estágios “em desenvolvimento 2” e “totalmente desenvolvido” a ANCOVA não detectou diferença significativa na inclinação das retas ( $F = 0,029$ ;  $p = 0,87$ ). Neste último caso, testou-se também a elevação das retas, as quais foram significativamente diferentes (Tabela 1). Desta forma, as regressões lineares dos estágios “em desenvolvimento 2” e “totalmente desenvolvido” foram consideradas estatisticamente diferentes.

Tabela 1. *Macrobrachium jelskii*. Comparação dos parâmetros de regressão linear entre os estágios de desenvolvimento do apêndice masculino. (—) não aplicável.

Estágio de desenvolvimento	Relação	Comparação das inclinações (ANCOVA)	Comparação das elevações (Teste t-Student)
Em desenvolvimento 1 vs. Em desenvolvimento 2	CC x CAM	F = 28,53; p < 0,001	—
Em desenvolvimento 1 vs. Totalmente desenvolvido	CC x CAM	F = 49,2; p < 0,001	—
Em desenvolvimento 2 vs. Totalmente desenvolvido	CC x CAM	F = 3,414; p = 0,07	t = 15.36; p < 0.001
Em desenvolvimento 1 vs. Em desenvolvimento 2	CAI x CAM	F = 9,90; p = 0,002	—
Em desenvolvimento 1 vs. Totalmente desenvolvido	CAI x CAM	F = 36,55; p < 0,001	—
Em desenvolvimento 2 vs. Totalmente desenvolvido	CAI x CAM	F = 0,029; p = 0,87	t = 8,98; p < 0,001

Os resultados do teste t e os respectivos padrões de alometria estão disponíveis na tabela 2.

Tabela 2. *Macrobrachium jelskii*. Coeficientes angulares (b) das equações de regressão linear das análises de crescimento relativo entre as variáveis independentes (comprimento da carapaça e comprimento do apêndice interno) vs. variável dependente (comprimento do apêndice masculino) e os estados de alometria correspondentes.

Estágio de desenvolvimento	Relação	n	b	Teste t-Student	Alometria
Em desenvolvimento 1	CC x CAM	35	3,77	t = 6,04; p < 0,001	Positiva
Em desenvolvimento 2	CC x CAM	37	1,18	t = 0,78; 0,50 > p > 0,20	Isometria
Totalmente desenvolvido	CC x CAM	85	1,55	t = 7,89; p < 0,001	Positiva
Em desenvolvimento 1	CAI x CAM	37	2,15	t = 5,28; p < 0,001	Positiva
Em desenvolvimento 2	CAI x CAM	37	1,15	t = 0,79; 0.50 > p > 0.20	Isometria
Totalmente desenvolvido	CAI x CAM	87	1,12	t = 2,10; p < 0,05	Positiva

A partir dessas observações e descrições considerou-se funcional (maduro) os indivíduos que apresentaram o apêndice masculino na condição “totalmente desenvolvido” e não funcionais (imaturos) os indivíduos com apêndice em “início do desenvolvimento”, “em desenvolvimento 1” e “em desenvolvimento 2”.

O estabelecimento das diferenças biométricas entre as fases imaturas e madura permitiu estimar o tamanho médio da primeira maturação (L50%) morfométrica para a relação CC vs. CAM em 4,82 mm (Gráfico 3) e para CAI vs. CAM em 4,81 mm (Gráfico 4).

Gráfico 1. *Macrobrachium jelskii*. Regressão lnCC vs. lnCAM dos indivíduos nos estágios “início do desenvolvimento”, “Em desenvolvimento 1”, “Em desenvolvimento 2” e “Totalmente desenvolvido” com as respectivas equações lineares.

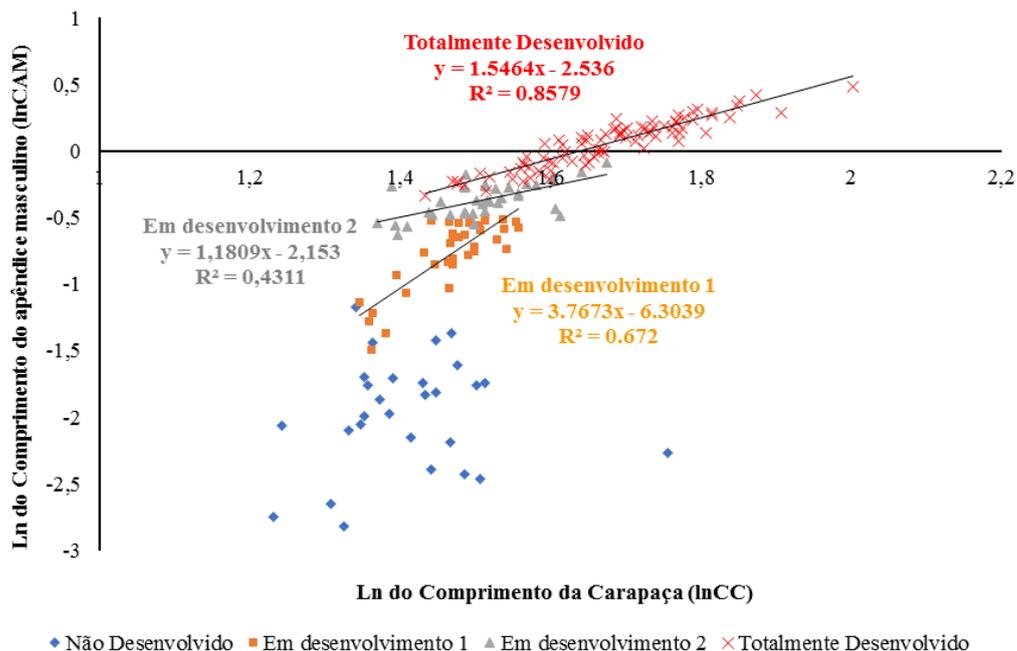


Gráfico 2. *Macrobrachium jelskii*. Regressão lnCAI vs. lnCAM dos indivíduos nos estágios “início do desenvolvimento”, “Em desenvolvimento 1”, “Em desenvolvimento 2” e “Totalmente desenvolvido” com as respectivas equações lineares.

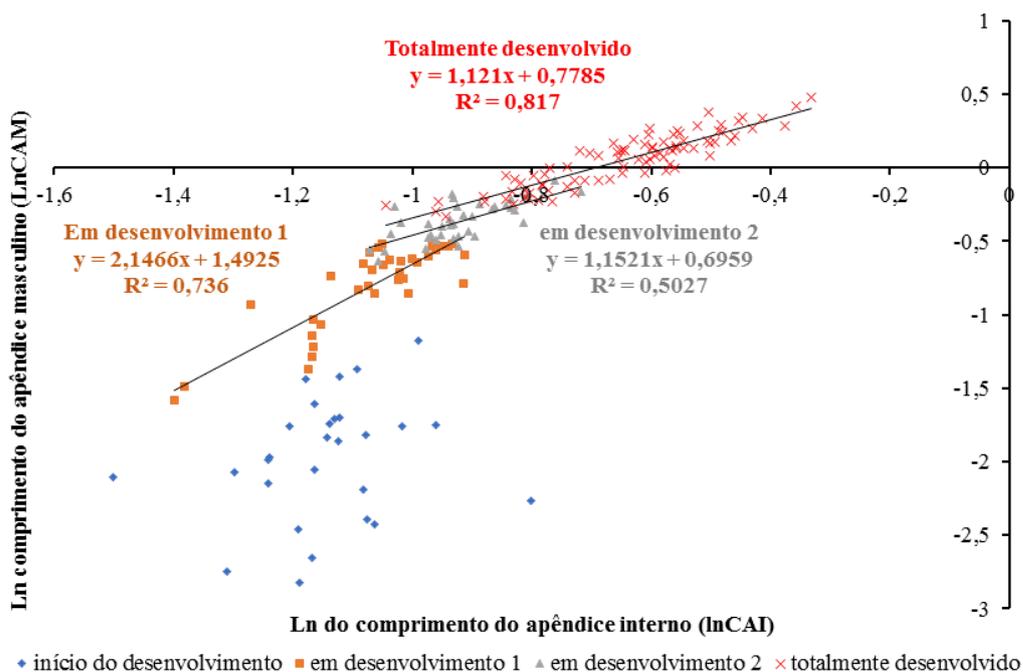


Gráfico 3: *Macrobrachium jelskii*. Tamanho da primeira maturação morfológica estimado por regressão logística baseado na condição imatura (0) ou madura (1) do apêndice masculino, considerando a relação biométrica comprimento do apêndice masculino vs. comprimento da carapaça.

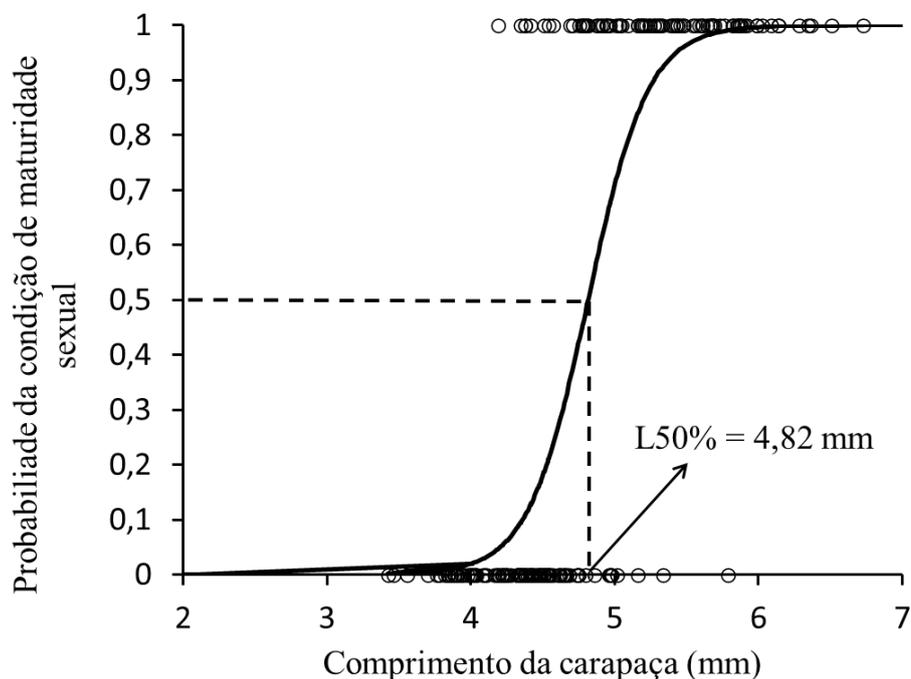
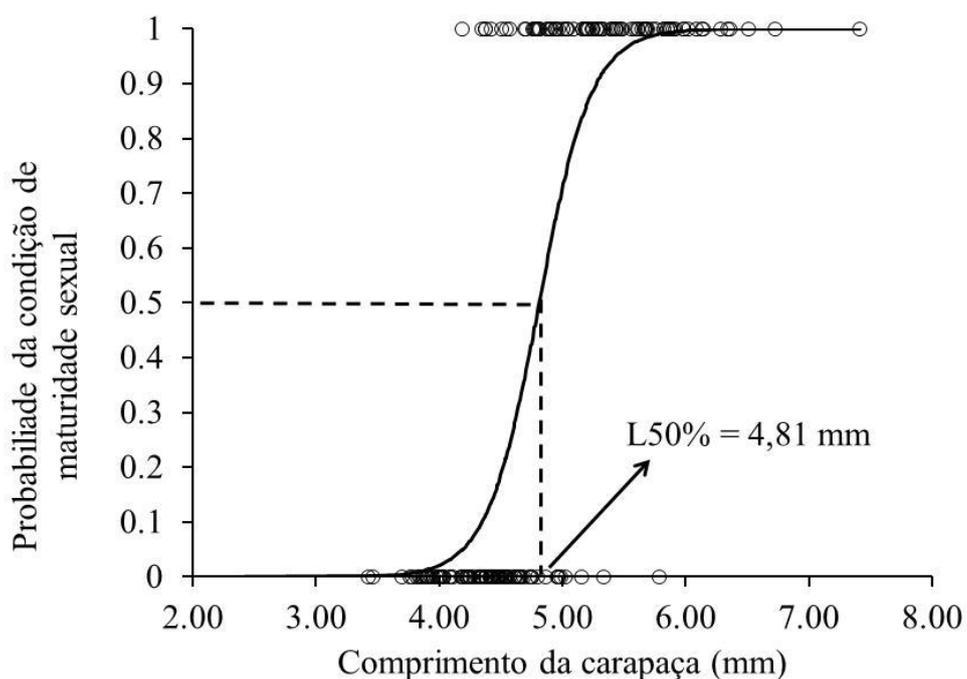


Gráfico 4: Estimativa do tamanho da primeira maturação morfológica em *Macrobrachium jelskii*, estimado por regressão logística baseado na condição imatura (0) ou madura (1) do apêndice masculino, considerando a relação biométrica comprimento do apêndice masculino vs. comprimento do apêndice interno.



## DISCUSSÃO

A partir das análises de microscopia feitas no presente estudo constatou-se que o apêndice masculino se apresentou somente no segundo par de pleópodo e sua aparição se deu entre o endopódito e o apêndice interno de *M. jelskii* (Miers, 1877). Estas observações vão de acordo com as encontradas por Tombes e Foster (1979) e Williams (1984), em relação à posição de aparecimento do apêndice masculino e do apêndice interno de alguns crustáceos decápodes machos. As estruturas nos endópodos do primeiro e segundo pleópodos dos machos, como o apêndice interno e o apêndice masculino podem se adaptar para evitar a adesão do espermatóforo em locais inapropriados (BAUER, 2004).

No presente trabalho foi observado que o apêndice masculino de *M. jelskii* inicia seu desenvolvimento como um broto, sem estruturas diferenciadas em sua superfície e, com a realização de sucessivas mudas, o apêndice aumenta de comprimento se aproximando do comprimento do apêndice interno. Tombes e Foster (1979) observaram desenvolvimento semelhante em machos de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). Portanto, pode-se considerar que o apêndice masculino de *M. jelskii* é um importante caractere sexual secundário e que apenas quando totalmente desenvolvido os machos poderiam ser considerados funcionalmente aptos à reprodução (maduros). Somente com o apêndice totalmente desenvolvido os machos poderiam transferir com sucesso seus espermatóforos para as fêmeas. Desta forma, as três condições anteriores (em início de desenvolvimento, em desenvolvimento 1 e em desenvolvimento 2) à condição “totalmente desenvolvido” podem ser consideradas como estágios sexualmente não funcionais (imaturos).

De maneira semelhante ao encontrado no presente estudo, machos maduros de *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758) também possuem o apêndice masculino totalmente desenvolvido, com papel significativo na cópula, acomodando e transferindo o espermatóforo para fêmeas (LAMPRI, 2015). Segundo Grilli *et al.* (2014) o comprimento da carapaça e o estágio de desenvolvimento do apêndice masculino possuem relação diretamente proporcional e é um traço típico de camarões gonocóricos. Tal afirmação está embasada em estudos desenvolvidos com espécimes de *Potimirim potimirim* (Müller, 1881) e *Potimirim brasiliiana* (Villalobos, 1959) em que machos maiores têm um apêndice masculino proporcionalmente maior.

A relação biométrica entre o comprimento do apêndice masculino em relação ao apêndice interno observada para *M. jelskii* no presente trabalho foi duas vezes o comprimento do apêndice interno quando atinge a condição de “totalmente desenvolvido”. A mesma proporção foi obtida por Tombes e Foster (1979) com exemplares *M. rosenbergii* quando alcançaram cerca de 70mm e por Thessalou-Legaki (1989) com *Parapandalus narval* (Fabricius, 1787), no qual o comprimento do apêndice masculino variou uma vez e meia do comprimento apêndice interno. Já Jensen (2004) observou que o apêndice masculino de *Eualus pusiolus* (Krøyer, 1841) apresentou um comprimento superior cerca de dois terços do comprimento do apêndice interno. Lampri *et al.* (2015) relataram que o apêndice masculino de *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758) foi maior em comprimento em relação ao apêndice interno. Hayashi (1995) considerou o apêndice masculino de *Leptochela (Leptochela) chacei* (Hayashi, 1995) maior que o apêndice interno, enquanto a mesma estrutura em *Leptochela (Leptochela) crosnieri* (Hayashi, 1995) foi considerada ligeiramente maior que o apêndice interno.

Em relação a presença ou ausência de cerdas, foi verificado uma fileira de cerdas ligeiramente mais longas na borda distal do apêndice masculino de *M. jelskii*. Resultados similares foram descritos no apêndice masculino de *M. rosenbergii* por Tombes e Foster (1979), possivelmente proporcionando uma extensão funcional à estrutura. Thessalou-Legaki (1989) observou que o apêndice masculino de *Parapandalus narval* (Fabricius, 1787) apresentava uma grande quantidade de cerdas na face interna. Jensen (2004) contabilizou cerca de 17 cerdas na região posterior medial do apêndice masculino de *Eualus pusiolus* (Krøyer, 1841). Jayachandran (2004) verificou que o apêndice masculino de *Macrobrachium gurudeve* (Jayachandran; Raji, 2005) continha 5 cerdas distais rígidas alongadas, sendo uma mais longa, e duas fileiras de cerdas rígidas (13 e 4, respectivamente) na borda lateral. Em *Macrobrachium jayasreei* (Jayachandran; Raji, 2005) o apêndice masculino apresentou 6 cerdas distais e 9 rígidas laterais, enquanto em *Macrobrachium kunjuramani* (Jayachandran; Raji, 2005) apresentou 3 cerdas distais e 6 laterais nesta mesma estrutura. Por fim, Hayashi (1995) não observou cerdas no apêndice masculino de *Leptochela (Leptochela) chacei* (Hayashi, 1995), enquanto *Leptochela (Leptochela) crosnieri* (Hayashi, 1995) apresentou cerdas alongadas.

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram uma diminuição na taxa de crescimento com avanço do desenvolvimento do apêndice masculino em relação ao apêndice interno e comprimento da carapaça (ver Tabela 2 para revisão). Esta

diminuição pode ser constatada pela diferença entre os coeficientes angulares das retas (“b”), particularmente do estágio “em desenvolvimento 1” ( $b = 2,15$ ) para “em desenvolvimento 2” ( $b = 1,15$ ) na relação CAI vs. CAM. Já para a relação CC vs. CAM a diminuição é ainda mais evidente, dada a diferença entre os coeficientes angulares das retas (“b”) do estágio “em desenvolvimento 1” ( $b = 3,77$ ) para “em desenvolvimento 2” ( $b = 1,18$ ). Este padrão de crescimento também foi constatado por Tombes e Foster (1979) para *M. rosenbergii*. Segundo estes mesmos autores, o desenvolvimento do apêndice masculino segue o padrão de qualquer outro apêndice de artrópode, no qual, de início, há um incremento rápido em tamanho e complexidade ao longo de sucessivas mudas, para posteriormente continuar crescendo em uma taxa menor e proporcional ao restante do corpo.

A alometria positiva observada nos estágios “em desenvolvimento 1” e “totalmente desenvolvidos” significa que o comprimento do apêndice masculino cresce proporcionalmente mais do que os comprimentos da carapaça e do apêndice interno. Entretanto, no estágio “em desenvolvimento 2” foi observado isometria, ou seja, o comprimento do apêndice masculino e os comprimentos da carapaça e do apêndice interno aumentam na mesma proporção. Os padrões de crescimento alométrico observados estão relacionados a um maior direcionamento energético para o crescimento deste caráter sexual secundário, principalmente no início do seu desenvolvimento (ED1), quando foram observados os maiores coeficientes angulares em ambas as relações biométricas estudadas. Este maior direcionamento energético permite que machos de *M. jelskii* possam se tornar reprodutivamente capazes, mesmo com tamanho corporal reduzido (PASCHOAL, 2016; SILVA *et al.*, 2018). Tal fato pode estar relacionado à estratégia reprodutiva na qual os machos são pequenos, ágeis e menos visíveis a predadores, podendo acasalar com um grande número de fêmeas (ROCHA; BARBOSA, 2017).

A alometria positiva se tornou menor nos machos “totalmente desenvolvidos”, quando comparados aos “em desenvolvimento 1”. No estudo realizado por Silva *et al.* (2018), quando machos de *M. jelskii* atingem a maturidade sexual a intensidade de crescimento do apêndice masculino tende a atenuar. A razão exata para esta diminuição na taxa de crescimento nas fases tardias é desconhecida. Entretanto, é hipotetizada por Heino e Kaitala (1999) que argumentam que tal fato pode ser resultado do remanejamento energético para o subsídio do crescimento somático, uma vez que os animais aquáticos

devem otimizar o uso de recursos (energia) para crescer, reproduzir ou realizar combinações dessas demandas.

No presente trabalho, o padrão de crescimento do apêndice masculino em relação ao comprimento da carapaça apresentado nos estágios “em desenvolvimento 1” e “totalmente desenvolvidos” foi diferente dos resultados obtidos por Silva et al. (2018), onde este obteve a presença de isometria nos machos em fase jovem ( $b = 1,07$ ;  $t = 0,72$ ) e alometria negativa nos machos adultos ( $b = 0,71$ ;  $t = 4,81$ ). Bauer (2004) argumentou que machos de palemonídeos já maturos direcionam a energia para a produção de uma maior quantidade de espermatozoides, fazendo com que o crescimento corporal e de outras estruturas sejam menores, corroborando assim com a hipótese de Silva et al. (2018) e diferindo com os resultados obtidos no presente trabalho. Esta alometria positiva observada no presente trabalho para os indivíduos “totalmente desenvolvidos” pode ser caracterizada pelo redirecionamento energético para o crescimento do caráter sexual secundário, mesmo após o completo desenvolvimento do mesmo. Pantaleão et al. (2012) também registrou este padrão em uma população de *M. amazonicum* (Heller, 1862) do Reservatório Ibitinga, no rio Tietê, estado de São Paulo.

A maturidade morfológica dos machos estimada no presente estudo (4,8 mm de CC) foi semelhante àquela calculada por Silva et al. (2018), que estimaram em 5,4 mm de CC a maturidade morfológica de machos coletados no rio Grande, região sudeste do Brasil. Por outro lado, Taddei (2006) estimaram valor superior ( $L50\% = 7,2$  mm CC) em uma população de *M. jelskii* do estado de São Paulo. Entretanto, as variáveis utilizadas por este último autor foram o comprimento do carpo do segundo par de pereópodos vs. comprimento da carapaça, enquanto o presente estudo utilizou caracteres biométricos do apêndice masculino.

Comparando-se a estimativa da primeira maturação em machos e fêmeas de *M. jelskii* nota-se que os machos atingiram a maturidade sexual com tamanho menor que as fêmeas. Silva (2010) atribuiu a maturidade sexual ao tamanho da menor fêmea ovígera (CC = 6,5 mm). Padrão semelhante foi utilizado por Soares et al. (2015) que estimou a maturidade sexual das fêmeas em 7,93 mm na montante e 8,45mm na jusante da barragem da usina hidroelétrica de Três Marias região localizada na região central de Minas Gerais. Rocha e Barbosa (2017) estimaram o tamanho da primeira maturação funcional das fêmeas em 6,67 mm de comprimento de carapaça. De maneira semelhante, Silva et al.

(2018) estimaram a maturidade sexual morfológica de fêmeas em 6,7 mm de comprimento da carapaça.

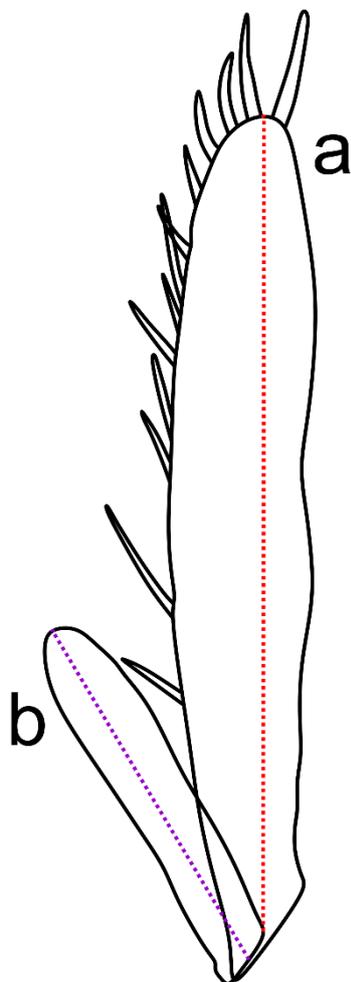
Fêmeas com tamanhos maiores é uma condição comum a várias populações de *M. jelskii* (GAMBA, 1997; BARROS-ALVES *et al.*, 2012; MOSSOLIN *et al.*, 2013; ROCHA; BARBOSA, 2017). Tal característica é vantajosa à maioria das espécies de carídeos que carregam seus ovos aderidos aos apêndices abdominais restringindo-os em tamanho e número de acordo com o espaço disponível para fixação dos ovos (SHAKUNTALA, 1977). Em *M. jelskii* o maior tamanho corporal das fêmeas está relacionado à necessidade de maximizar o potencial reprodutivo da espécie, através de uma maior fecundidade (ROCHA; BARBOSA, 2017).

## CONCLUSÃO

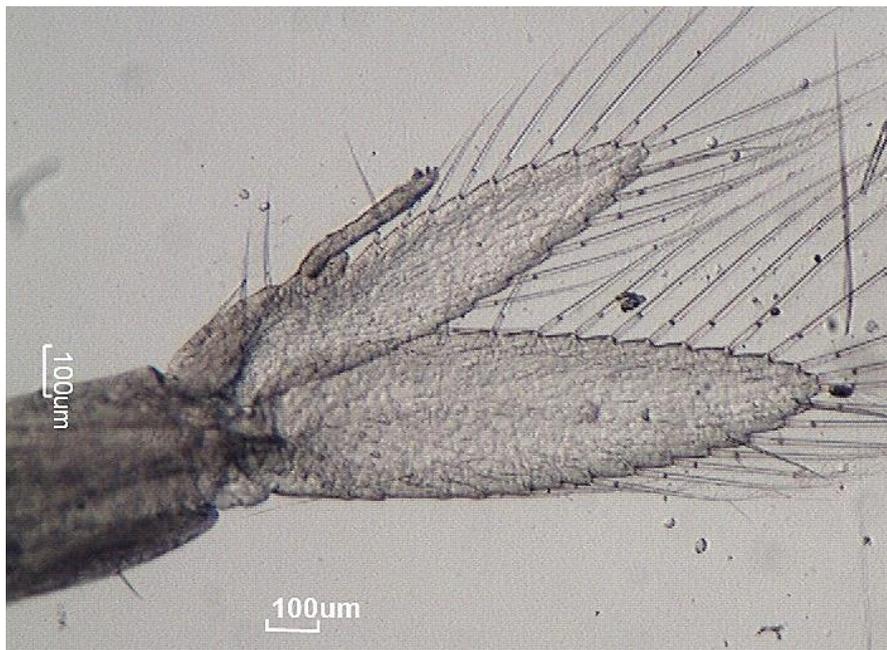
O presente estudo contribuiu para o conhecimento da maturidade sexual e morfologia do apêndice masculino de *M. jelskii*. Foi possível determinar diferentes estágios de desenvolvimento do apêndice masculino com base em caracteres de tamanho e desenvolvimento de cerdas. No presente estudo também foi possível determinar que o apêndice masculino possui comprimento maior que o apêndice interno já a partir do estágio “em desenvolvimento 1”. A morfologia e o desenvolvimento do apêndice masculino de *M. jelskii* mostraram-se compatíveis com o observado em outros carídeos e houve uma diminuição na taxa de crescimento com avanço do seu desenvolvimento. Por fim, comprovou-se que o estudo do crescimento relativo do apêndice masculino de *M. jelskii* permite estimar a maturidade sexual dos machos da espécie.

**PRANCHAS DE IMAGENS**

Ilustração 1. Ilustração de estruturas sexuais de *M. jelskii*. Apêndice masculino (a) e apêndice interno (b) – Linha vermelha (indicação do local da realização da mensuração do comprimento do apêndice masculino); Linha roxa (indicação do local da realização da mensuração do comprimento do apêndice interno).



Fotografia 1A. Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Início do desenvolvimento”.



Fonte: Acervo próprio

Fotografia 1B. Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Início do desenvolvimento”. EN = Endópodo; Cabeça de seta = Apêndice interno; Seta = Apêndice masculino.



Fonte: Acervo próprio

Fotografia 2A. Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Em desenvolvimento 1”.



Fonte: Acervo próprio

Fotografia 2B. Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Em desenvolvimento 1”. EN = Endópodo; Cabeça de seta = Apêndice interno; Seta = Apêndice masculino; Setas pontilhadas = Cerdas do apêndice



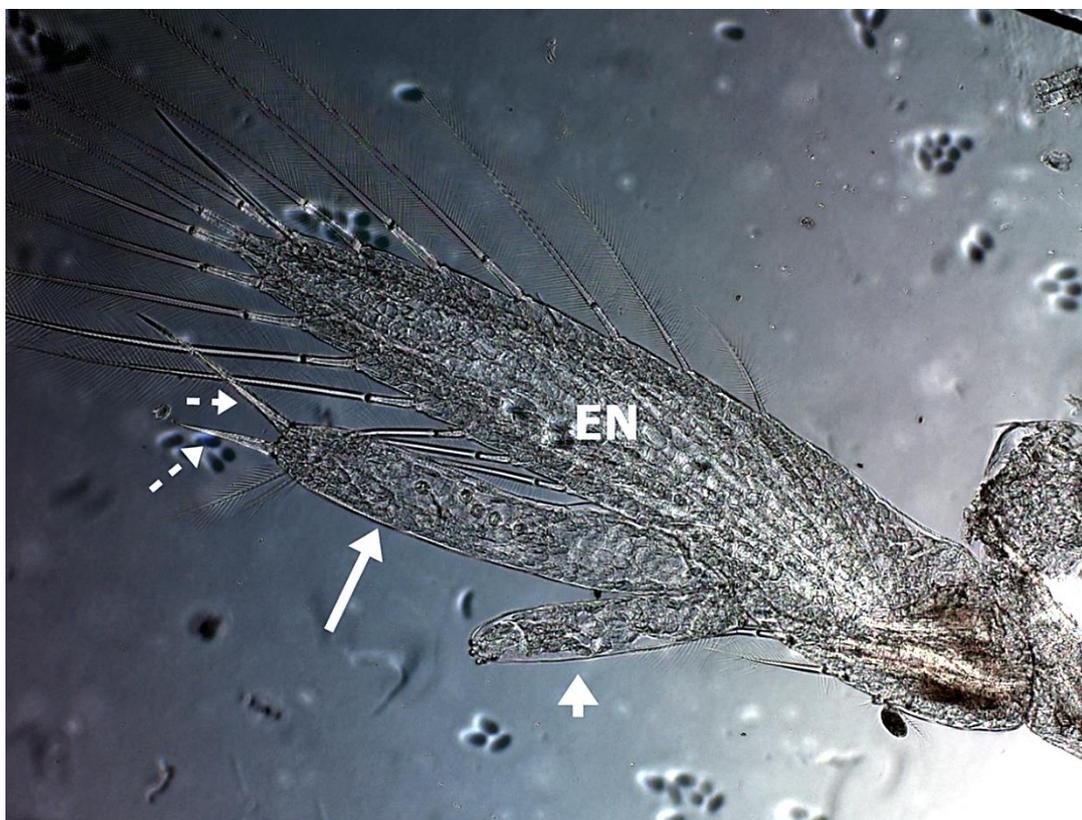
Fonte: Acervo próprio

Fotografia 3A. Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Em desenvolvimento 2”



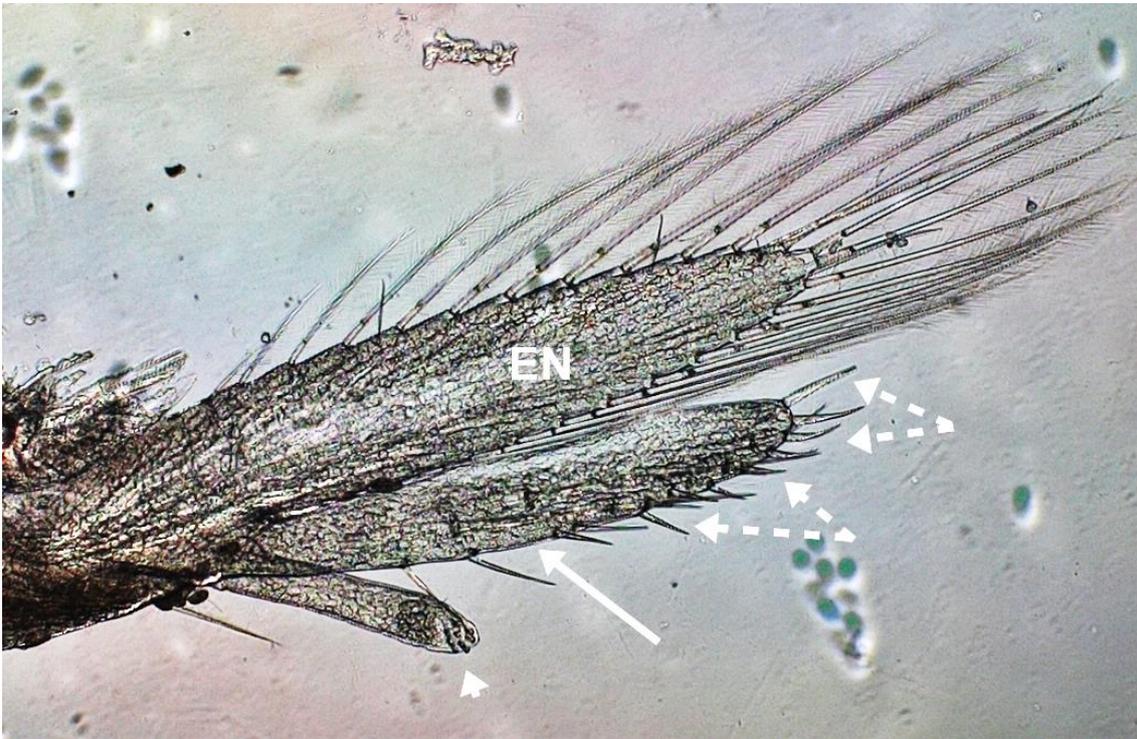
Fonte: Acervo próprio

Fotografia 3B. Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Em Desenvolvimento 2”. EN = Endópodo; Cabeça de seta = Apêndice interno; Seta = Apêndice masculino; Setas pontilhadas = Cerdas do apêndice masculino.



Fonte: Acervo próprio

Fotografia 4A. Microscopia óptica do apêndice masculino de *Macrobrachium jelskii* no estágio “Totalmente desenvolvido”. EN = Endópodo; Cabeça de seta = Apêndice interno; Seta = Apêndice masculino; Setas pontilhadas = Cerdas do apêndice masculino.



Fonte: Acervo próprio

## REFERÊNCIAS

- AHAMED, F.; OHTOMI, J. Relative growth and sexual maturity of the pandalid shrimp *Plesionika izumiae* (Decapoda, Caridea) in Kagoshima Bay, Southern Japan. **Crustaceana**, v. 87, n. 13, p. 1567–1577, 2014.
- BARROS-ALVES, S. D. P.; ALMEIDA, A. C.; FRANSOZO, V.; ALVES, D. F. R.; SILVA, J. C. D.; COBO, V. J. Population biology of shrimp *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1778) (Decapoda, Palaemonoidea) at the Grande River at northwest of the state of Minas Gerais, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 24, n. 3, p. 266–275, 2012.
- BASTOS, J. A. M.; PAIVA, M. P. Notas sobre o consumo de oxigênio do camarão “sossego”, *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) Chace e Holthuis, 1948. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 19, n. 4, p. 413-419, 1959.
- BAUER, R. T. **Remarkable Shrimps: Adaptations and Natural History of the Carideans**. University of Oklahoma. Norman: Oklahoma, USA. 2004. 282p.
- BERKELEY, A. A. The post-embryonic development of the common pandalids of British Columbia. **Contributions to Canadian Biology and Fisheries**, v. 6, n. 1, p. 79-163, 1930.
- CIRILO, A.T.O.; SANTOS, M. C.; NUNES, M. L. Caracterização física e nutricional do camarão “saborica” (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877) e de produtos derivados. **Scientia Plena**, v. 7, n. 7, p. 1–6, 2011.
- COBO, V. J.; FRANSOZO, A. Relative growth of *Goniopsis cruentata* (Crustacea, Brachyura, Grapsidae), on the Ubatuba region, São Paulo, Brazil. **Iheringia, Série Zoológica**, Porto Alegre, v. 84, n. 1, p. 21-28. 1998.
- CONAN, G.Y.; COMEAU, M. Functional maturity and terminal molt of male snow crab, *Chionoecetes opilio*. **The Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 43, n. 9, p. 1710–1719, 1986.
- CORREA, C.; THIEL, M. Mating systems in caridean shrimp (Decapoda: Caridea) and their evolutionary consequences for sexual dimorphism and reproductive biology. **Revista Chilena de História Natural**. v. 76, p.187-203, 2003.
- DARIM, M. F. et al. Maturidade morfológica do caranguejo de água doce *Dilocarcinus pagei* (stimpson, 1861) (Decapoda: Brachyura: Trichodactylidae) encontrado na represa de Furnas, marimbondó, Icém - SP. In: **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, Caxambu, MG. 2017, p. 4.
- De GRAVE, S.; FRANSEN, C. H. J. M. Carideorum catalogus: the recent species of the Dendrobranchiate, Stenopodidean, Procarididean and Caridean shrimps. **Zoologische Mededelingen**, v. 85, n. 9, p. 195–589, 2011.

- De GRAVE, S.; ASHELBY, C. W. A re-appraisal of the systematic status of selected genera in Palaemonidae (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). **Zootaxa**, v. 3734, n. 3, p. 331–344, 2013.
- DESCOUTURELLE, G. Reles des appendices sexuels males dans la copulation et d'un receptacle seminal femelle dans la ponte chez *Atyaephyra desmaresti* Millet (Crustacea: Decapoda: Caridea). **Bulletin de l'Academie et Societe Lorraines des Sciences**. Nancy, v. 10, n. 1, p. 10-14, 1971.
- FONTELES FILHO, A. A. **Recursos Pesqueiros: Biologia e Dinâmica Populacional**. Ed. Imprensa Oficial do Ceará. 296p. 1989.
- GAMBA, A. L. Different egg-associated and larval development characteristics of *Macrobrachium jelskii* and *Macrobrachium amazonicum* (Arthropoda: Crustacea) in a Venezuelan continental lagoon. **International Journal of Invertebrate Reproduction and Development**, v. 7, n. 3, p. 135-142, 1984.
- GAMBA, A. L. Biología reproductiva de *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) y *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) en Venezuela (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). **Acta Científica Venezolana**, v. 48, n. 1, p. 19–26, 1997.
- GERHART, S. D.; BERT, T. M. Life-history aspects of stone crabs (genus *Menippe*): size at maturity, growth, and age. **Journal of Crustacean Biology**. v. 28, n. 2, p. 252–261, 2008.
- GRILLI, N. De M.; TEROSI, M.; MANTELATTO, F. L. Sexual system of the freshwater shrimps of the genus *Potimirim Holthuis* (Decapoda: Caridea: Atyidae): is there a pattern in this genus?. **Marine and Freshwater Research**. v. 65, n. 9, p. 759-765, 2014.
- HAEFNER JR., P. A. Morphometry and size at maturity of *Callinectes ornatus* (Brachyura, Portunidae) in Bermuda. **Bulletin of marine science**, Miami, v. 46, n. 2, p. 274-286, 1990.
- HAMMER, Ø., HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, 9 p. 2001.
- HARTNOLL, R. A. Mating in the *Brachyura*. **Crustaceana**. n. 16 p. 161-181. 1969.
- HARTNOLL, R. G. The determination of relative growth in Crustacea. **Crustaceana**, v. 34, n. 3, p. 282-292, 1978.
- HARTNOLL, R. G. Growth. In: D.E. Bliss (ed.). *The Biology of Crustacea: Embryology, Morphology and Genetics*. New York, **Academic Press**. p. 11-196. 1982.
- HARTNOLL, R. G. Growth, sexual maturity and reproductive output. In: WERNER, A.M. (ed.), **Factors in adult growth**. A. A. Balkema Publishers, Rotterdam, v. 3, p. 101-128, 1985.

- HAYASHI, K. I. Brief revision of the genus *Leptochela* with description of two new species (Crustacea, Decapoda, Pasiphaeidae). In: B. Richerd de Forges (ed.), **Les fonds meubles des lagons de Nouvelle Calédonie (Sédimentologie, Benthos)**. Etudes & Thèses, Paris, v. 2, p. 83-99, 1995.
- HAYD, L.; ANGER, K. Reproductive and morphometric traits of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) from the Pantanal, Brazil, suggests initial speciation. **Revista de Biologia Tropical**, v. 61, n. 1, p. 39–57, 2013.
- HEINO, M.; KAITALA V. Evolution of resource allocation between growth and reproduction in animals with indeterminate growth. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 12, n. 3, p. 423–429, 1999.
- HERRERA, D. R; DAVANSO, T. M; Da COSTA, R. C. Relative growth and morphological sexual maturity of the caridean shrimp *Nematopalaemon schmitti* (Decapoda: Caridea: Palaemonidae) in an upwelling region in the Western Atlantic. **Invertebrate Reproduction and Development**, v. 62, n. 1, p. 56-62, 2017.
- JAYACHANDRAN, K. V.; RAJI, A. V. Three new species of *Macrobrachium* (Bate, 1868) (Decapoda, Palaemonidae) from the western ghats of Kerala state, India. **Crustaceana**, v. 77, n. 10, p. 1179-1192, 2004.
- JENSEN, G. C. Status of *Eualus pusiolus* in the northeastern pacific, with a description of a new species of *Eualus* (Decapoda: Hippolytidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 24, n. 3, p. 463-469, 2004.
- KAPIRIS, K.; MORAITOU-APOSTOLOPOULOU, M.; PAPACONSTANTINOU, C. The growth of male secondary sexual characters in *Aristaeomorpha foliacea* and *Aristeus antennatus* (Decapoda, Aristeidae) in the greekionian sea (eastern mediterranean). **Journal of Crustacean Biology**, v. 22, n. 4, p. 784-789, 2002.
- LAMPRI, P.; CHATZISPYROU, A.; KAPIRIS., K. The growth of appendix masculina of the norway lobster (*Nephrops norvegicus*) in the central aegean sea (e. mediterranean). **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 15, n.11, p. 745-750, 2015.
- LIMA, G. V.; OSHIRO, L. M. Y. Maturidade sexual do caranguejo *Armases* (Rathbun, 1902) (Crustacea, Brachyura, Sesarmidae) na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 23, n. 4, p. 1078-1086, 2006.
- LIMA, D. P.; SILVA, L. M. A.; LIRA, A. C. S. Biologia populacional de *Macrobrachium jelskii* (MIERS, 1778) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em uma planície inundável na Amazônia Oriental, Brasil. **Biota Amazônia**, v. 3, n. 2, p. 11-22, 2013.
- MACIEL, C.R.; QUADROS, M.L.A.; ABRUNHOSA, F.A.; PEIXOTO, S.N.B.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, M.I.C. Occurrence of the Indo-Pacific freshwater prawn *Macrobrachium equidens* Dana 1852 (Decapoda, Palaemonidae) on the coast of Brazilian Amazonia, with notes on its reproductive biology. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, p. 533–544, 2011.

- MAGALHÃES, C. Abbreviated development of *Macrobrachium jelskii* (Miers 1977) Crustacea: Decapoda: Palaemonidae from de Rio Solimões food plain, Brasil rears in the laboratory. **Nauplius**, Rio Grande, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2000.
- MAGALHÃES, C. et al. Exotic species of freshwater decapod crustaceans in the state of São Paulo, Brazil: records and possible causes of their introduction. **Biodiversity and Conservation**, São Paulo, v. 14, n. 8, p. 1929-1945, 2004.
- MAGALHÃES, C.; CAMPOS, M.R.; COLLINS, P.A.; MANTELATTO, F.L. Diversity, distribution and conservation of freshwater crabs and shrimps in South America. In: **A global overview of the conservation of freshwater decapod crustaceans**. Springer, Cham. p. 303-322. 2016
- MELO, G. A. S. **Manual de Identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**. São Paulo: Edições Loyola. Centro Universitário São Camilo, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 430 p., 2003.
- MONTOYA, J. V. Freshwater shrimps of the genus *Macrobrachium* associated with roots of *Eichhornia crassipes* (water hyacinth) in the Orinoco delta (Venezuela). **Caribbean Journal of Science**, v. 39, n. 1, p. 155-159, 2003.
- MOSSOLIN, E. C.; PEIRÓ, D. F.; ROSSINGNOLI, M. O.; RAJAB, L. P.; MANTELATTO, F. L. Population and reproductive features of the freshwater shrimp *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) from São Paulo state, Brazil. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**. v. 35, n. 3, p. 429-436, 2013.
- MOURA, N. F. O.; COELHO, P. A. Maturidade sexual fisiológica em *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) no Estuário do Paripe, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 21, n. 4, p. 1011-1115, 2004.
- NOGUEIRA, C. S et al. Relative growth and population dynamics of *Macrobrachium iheringi* (Decapoda, Palaemonidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 59, 2019.
- PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. 1 ed.: Cengage learning, p. 522, 2003.
- PANTALEÃO, J. A. F.; HIROSE, G. L.; COSTA, R. C. Relative growth, morphological sexual maturity, and size of *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) in a population with and entirely freshwater life cycle. **Invertebrate Reproduction and Development**, v. 56, n. 3, p. 1-11, 2012.
- PASCHOAL L. R. P; GUIMARÃES, F. J.; COUTO, E. C. G. Relative growth and sexual maturity of the freshwater shrimp *Palaemon pandaliformis* (Crustacea, Palaemonidae) in northeastern of Brazil (Canavieiras, Bahia). **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 103, n. 1, p. 31-36, 2013.
- PASCHOAL L. R. P; GUIMARÃES, F. J.; COUTO, E. C. G. Growth and reproductive biology of the amphidromous shrimp *Palaemon pandaliformis* (Decapoda, Caridea) in a Neotropical river from northeastern Brazil. **Zoologia**, v. 33, n. 6, p. 1-14, 2016.

- PILEGGI, L. G.; MANTELATTO, F. L. Taxonomic revision of doubtful Brazilian freshwater shrimp species of genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae). **Iheringia, Série Zoologia**, v. 102, n. 4, p. 426–437, 2012.
- ROCHA, S. S.; BARBOSA, R. de J. Population biology of *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Decapoda, Palaemonidae) from an artificial pond in Bahia, Brazil. **Nauplius**, v. 25, 2017.
- RODRIGUES, S. A. Sobre o crescimento relativo de *Callichirus major* (Say, 1818) (Crustacea, Decapoda, Thalassinidea). **Boletim Zoologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 9, n. 9, p. 195-211, 1985.
- ROSSI, N.; MAGALHÃES, C.; MESQUITA, E. R.; MANTELATTO, F. L. Uncovering a hidden diversity: a new species of freshwater shrimp *Macrobrachium* (Decapoda: Caridea: Palaemonidae) from Neotropical region (Brazil) revealed by morphological review and mitochondrial genes analyses. **Zootaxa**, v. 4732, n. 1, p. 177-195, 2020.
- SANTOS, A.; HAYD, L.; ANGER, K. A new species of *Macrobrachium* Spence Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae), *M. pantanalense*, from the Pantanal, Brazil. **Zootaxa**, v. 3700, n. 4, p. 534-546, 2013.
- SAENGPAN, N.; PANIJPAN, B.; SENAPIN, S.; LAOSINCHAI, P.; RUENWONGSA, P.; SUKSOMNIT, A.; PHIWSAIYA, K. Morphology and molecular phylogeny of *Macrobrachium suphanense* sp. nov. (Decapoda: Palaemonidae) from Thailand. **Zootaxa**, v. 4482, n. 1, p. 151-163, 2018.
- SASTRY, A. N. Ecological aspects of reproduction. In: T. H. Waterman (ed). **The Biology of Crustacea: Environmental adaptations**. New York: Academic Press, New York, v. 7, p. 179- 270, 1983.
- SHAKUNTALA, K. The relation between body size and number of egg in the freshwater prawn, *Macrobrachium lamarrei* (H. Milne Edwards) (Decapoda, Caridea). **Crustaceana**, v. 33, n. 1, p. 14-17, 1977.
- SILVA, J. C. Da. **Biologia e ecologia dos camarões de água doce *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862) e *Macrobrachium jelskii* (Miers 1778) (Crustacea: Caridea: Palaemonoidea) no rio grande, região de planura, MG**. Tese de Doutorado. Curso de Pós-Graduação em Zoologia. (Doutorado). Universidade Estadual Paulista – São Paulo, 101. p, 2010.
- SILVA, J. N.; OLIVEIRA, G.; ROCHA, S. S. Microhabitat preferences of the freshwater prawn *Macrobrachium jelskii* (Decapoda: Palaemonidae). **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 109, e2019027, 2019. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0073-47212019000100227&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-47212019000100227&lng=en&nrm=iso). acesso em: 16 Set. 2020. Epub Julho 15, 2019. <https://doi.org/10.1590/1678-4766e2019027>.
- SILVA, T. E.; ALVES, D. F. R.; BARROS-ALVES S. P.; ALMEIDA A. C.; TADDEI F. G.; FRANSOZO A. Morphometric differences between two exotic invasive

- freshwater caridean species (genus *Macrobrachium*). **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 62, n. 4, p. 221-228, 2018.
- SOARES, M. R. S. et al. Estrutura populacional de *Macrobrachium jelskii* (Crustacea; Decapoda; Palaemonidae) na represa de Três Marias e no rio São Francisco, MG, Brasil. **Anais do 9º congresso de ecologia do Brasil**, v. 1, 4 p., 2008.
- SOARES, M. R. S.; OSHIRO, L. M. Y.; TOLEDO, J. C. Biologia reprodutiva de *Macrobrachium jelskii* (Crustacea; Decapoda; Palaemonidae) no rio São Francisco, Minas gerais, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 105, n. 11, p. 307-315, 2015.
- SOUZA, L. P. **Maturidade sexual e relações morfométricas do caranguejo *Goniopsis cruentata* (Latreille 1803) (Crustacea: Brachyura: Grapsidae) do estuário do rio Jaguaribe (Aracati – Ceará)**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.
- TADDEI, F. G. **Biologia populacional, reprodutiva e crescimento dos camarões Palemonideos *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) e *Macrobrachium brasiliense* (Heller, 1868) (Crustacea: Caridea) na região noroeste do estado de São Paulo**. 2006. Tese de doutorado. (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2006.
- THESSALOU-LEGAKI, M. Allometric growth of male growth of male secondary sexual characters and dioecy in *Parapandalus narval* (Decapoda: Pandalidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 9, n. 9, p. 595-600, 1989.
- TOMBES, A. S.; FOSTER, M. W. Growth of appendix masculina and appendix interna in juvenile *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Decapoda, Caridea). **Crustaceana**, n. 5, p. 179-184, 1979.
- TORATI, L. S.; MANTELATTO, F. L. Ontogenetic and evolutionary change of external morphology of the neotropical shrimp *Potimirim* (Holthuis, 1954) explained by a molecular phylogeny of the genus. **Journal of Crustacean Biology**, v. 32, n. 4, p. 625-640, 2012.
- VALENTI, W. C. Fecundidade em *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) do Rio Ribeira do Iguape (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 6, n. 1, p. 9-15, 1989.
- VERA-SILVA, A.L.; CARVALHO, F.L.; MANTELATTO, F. Distribution and genetic differentiation of *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Natantia: Palaemonidae) in Brazil reveal evidence of non-natural introduction and cryptic allopatric speciation. **Journal of Crustacean Biology**, v. 36, n. 1, p. 1–11, 2016.
- VIAU V. E.; LÓPEZ-GRECO L. S.; BOND-BUCKUP G.; RODRÍGUEZ E. M. Size at the onset of sexual maturity in the anomuran crab, *Aegla uruguayana* (Aegliidae). **Acta Zoologica**, v. 87, n. 4, p. 253-264, 2006.

WENNER, A. M.; PAGE, H. M.; SIEGEL, P. R. Variation in size at onset of egg production, In: WENNER, A. M. **Factors in adult growth**. Rotterdam: A.A. Balkema. p. 149-163, 1985.

WILLIAMS, A. B. **Shrimps, Lobsters and Crabs of the Atlantic Coast of the Eastern United States, Maine to Florida**: Smithsonian Institution, 1984.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1996.