

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS EXPERIMENTAL DO LITORAL PAULISTA
UNIDADE DE SÃO VICENTE**

**RESPOSTAS FENOTÍPICAS DE JUVENIS DO CARANGUEJO-VERDE
CARCINUS MAENAS (DECAPODA, BRACHYURA) À PISTAS QUÍMICAS
LIBERADAS POR CO-ESPECÍFICOS ADULTOS**

Rafael Campos Duarte

São Vicente – SP

2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS EXPERIMENTAL DO LITORAL PAULISTA
UNIDADE DE SÃO VICENTE**

**RESPOSTAS FENOTÍPICAS DE JUVENIS DO CARANGUEJO-VERDE
CARCINUS MAENAS (DECAPODA, BRACHYURA) À PISTAS QUÍMICAS
LIBERADAS POR CO-ESPECÍFICOS ADULTOS**

Rafael Campos Duarte

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Tânia Márcia Costa

Co-orientador: Prof. Dr. Henrique Queiroga

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Campus Experimental do Litoral Paulista - UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, modalidade Biologia Marinha.

São Vicente – SP

2008

Duarte, Rafael Campos

Resposta fenotípicas de juvenis do caranguejo-verde *Carcinus maenas* (Decapoda, Brachyura) a pistas químicas liberadas por co-específicos adultos. / Rafael Campos Duarte - São Vicente, 2008
53 p.

Trabalho de conclusão (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista.

Orientadora: Tânia Márcia Costa

Co-orientador: Henrique Queiroga

1. Ecologia de crustáceos 2. Caranguejo-verde - Morfologia

CDD 595.384

Palavras-chaves: *Carcinus maenas*, canibalismo, morfometria geométrica, plasticidade fenotípica.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente tenho que agradecer a Deus por ter me guiado nessa minha jornada, sempre me iluminando e me protegendo nos momentos mais difíceis. Agradeço imensamente à minha família pelo apoio em todos os momentos bons e ruins a que passei. Aos meus pais, Paulo e Lúcia, pelo amor e carinho sempre presentes e por sempre acreditarem no meu potencial. Vocês foram uns dos principais responsáveis pela realização dos meus sonhos. Sem vocês nada disso teria sido feito! Um agradecimento especial pros meus irmãos Vini e João, principalmente pela paciência quando ocupava o computador por horas e eles sempre entendiam que era para um bem maior! Valeu molecada! Agradeço também aos meus tios, tias, primos e primas que sempre me ajudaram quando preciso, sempre acreditando no meu potencial.

À minha orientadora, Prof^a Tânia, pela ajuda na redação do trabalho e na discussão dos resultados, além de sua enorme simpatia e compreensão. Parabéns por ser essa ótima profissional e excelente pessoa. Foi um prazer imenso ser seu orientado! Muito obrigado!

Ao professor Henrique Queiroga pela paciência e compreensão ao longo dos 8 meses em que estive na Universidade de Aveiro, auxiliando-me com questões burocráticas, acadêmicas, laboratoriais, metodológicas e muitas vezes culturais! Muito obrigado pelos ensinamentos e pelo apoio durante a realização de todo o trabalho. Um agradecimento mais que especial também a todas as pessoas do laboratório, principalmente a Ana Ré, que junto comigo aprendeu uma série de assuntos novos com todo esse trabalho. Muito obrigado pela ajuda na montagem das lâminas, nas fotografias e principalmente nas discussões metodológicas e estatísticas. Não posso esquecer de agradecer também a minha amiga “legal” Patrícia Pochelon, ao Ricardo Calado, João Serôdio, Sônia, Ana Siqueira, Helena, Sílvia e Maria João, tanto pela ajuda com o trabalho, quanto com os deliciosos jantares temáticos e partidas de “matrecos”.

Gostaria de agradecer também a melhor companhia que poderia ter tido em terras lusitanas. Karina, muito obrigado pela força lá em Aveiro e pela super revisão do meu “abstract”. Pode ter certeza que esse trabalho só saiu porque tive excelentes companhias em Aveiro, e você com certeza foi uma delas. Não posso esquecer também do meu grande amigo português Fábio, pelos inúmeros bate-papos descontraídos, auxílios com trabalhos, viagens, problemas pessoais e principalmente por sua excelente companhia. Gostaria de agradecer também a Aline, Issana, Guilherme, Arie, e muitas outras pessoas, pela excelente companhia e diversão em terras estrangeiras.

Aos funcionários e professores do Campus Experimental do Litoral Paulista da UNESP pelo constante auxílio e apoio em questões acadêmicas e muitas vezes burocráticas. Não posso esquecer jamais dos meus colegas de República, Madio e Daku, pelo apoio em todo meu trabalho e por todos os ótimos e descontraídos dias que passamos no Asilo! Brunão, valeu pela companhia em todos esses anos de faculdade e pelas madrugadas trocando idéia e fazendo aquele som! Não posso esquecer também dos meus parceiros Bai, Sayão e Diego e das minhas queridas amigas Camila, Cris, Valéria e Chung, que sempre me apoiaram e estiveram do meu lado em todos os momentos desse trabalho. Um agradecimento mais que especial às meninas que já têm um lugar especial no meu coração: Júlia, Mel, Laura, Chili e Tops, muito obrigado por terem me ajudado bastante nessa minha volta ao Brasil e por terem sido ótimas companhias nesse último semestre!

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1 COLETA DAS LARVAS.....	16
2.2 CONDIÇÕES LABORATORIAIS.....	16
2.3 TAXAS DE MORTALIDADE.....	17
2.4 PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS.....	17
2.5 AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS.....	18
3. RESULTADOS.....	23
3.1 TAXAS DE MORTALIDADE.....	23
3.2 ANÁLISES DE MORFOMETRIA GEOMÉTRICA.....	24
4. DISCUSSÃO.....	35
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

RESUMO

O caranguejo-verde *Carcinus maenas* é nativo da Europa, e tem invadido diversas regiões do mundo. É uma espécie-chave na comunidade em que se insere, apresentando uma extensa variedade alimentar, constituída principalmente por moluscos bivalves e gastrópodes, e, além disso, significativas taxas de canibalismo. Na sua presença, suas principais presas são capazes de modificar sua morfologia e comportamento como formas de defesa. O objetivo do presente trabalho é avaliar as variações na forma da carapaça e das quelas de juvenis de *C. maenas* e relacioná-las com possíveis influências de odores liberados por caranguejos co-específicos adultos. Larvas de *C. maenas* foram coletadas no Canal da Mira, Portugal, e cultivadas em laboratório sob diferentes condições: 1) sem estímulo de predadores; 2) com estímulo de predadores, onde os juvenis permaneceram sob influência de odores liberados por co-específicos adultos. Prepararam-se lâminas com a carapaça e as quelas direita e esquerda de 24 exoesqueletos de juvenis de estágio cinco, que foram fotografadas e analisadas por meio de técnicas de morfometria geométrica. Tais análises resultaram em componentes uniformes e relativas, capazes de explicar variações na forma da carapaça e das quelas dos juvenis. Animais com estímulo apresentaram carapaças com formas mais alongadas que os sem estímulo. Com relação às quelas, foram observadas diferenças significativas somente para a quela direita, a qual apresenta morfologia e função diferentes da esquerda. Os animais com estímulo, quando comparados àqueles sem estímulo, apresentaram quelas direita de maior altura e robustez, capazes de gerar maior força e massa muscular que quelas de forma normal. Os resultados obtidos foram discutidos como possíveis adaptações dos juvenis à predação por co-específicos adultos, refletindo processos de plasticidade fenotípica ou seleção natural de formas mais adaptadas em condições laboratoriais.

Palavras – chave: *Carcinus maenas*, canibalismo, morfometria geométrica, plasticidade fenotípica.

ABSTRACT

The green-crab *Carcinus maenas* is native from Europe and had invaded several regions around the world. It's a key-species in the community which is part of, showing a wide food range, which is composed mainly by bivalve and gastropod mollusks, beyond significant cannibalistic rates. In its presence, their preys can present morphological and behavioral changes as a defense strategy. The aim of the current work is to evaluate the variations on shape of juvenile green-crabs' carapace and claws and relate them with the releasing of effluents by conspecific adult crabs. The larvae of crabs were collected in Canal da Mira, Portugal, and cultivated in laboratory under different conditions: 1) without predator stimulus; 2) with predator stimulus, where juveniles were kept under influence of effluents released by conspecific adults. Microscope slides were prepared with 24 carapaces and chelas (right and left) ecdysis of juveniles on fifth stage of development, which were photographed and analyzed by geometric morphometrics techniques. Such analysis generated relative and uniform components that can explain shape variations in juveniles' carapace and chelas. Animals with stimulus showed more elongated carapaces than animals without stimulus. With regard to claws, significant differences were observed only for the right claw, which has different morphology and function when compared to the left claw. Animals with stimulus showed higher and more robust right claws than the ones without stimulus. These features can generate stronger claws and with higher muscular mass than normal claws. The achieved results were discussed as possible juveniles' adaptations to predation by conspecifics adults, which maybe reflect phenotypic plasticity processes or natural selection of more well-adapted shapes under laboratorial conditions.

Key-words: *Carcinus maenas*, cannibalism, geometric morphometry, phenotypic plasticity.

1. INTRODUÇÃO

O caranguejo-verde *Carcinus maenas*, pertencente à família Portunidae (Decapoda, Brachyura), apresenta como principais características morfológicas a presença de cinco espinhos em cada lado da carapaça, na região antero-lateral. Possui colorações que variam do verde-oliva ao amarelo, alaranjado ou vermelho. No seu hábitat nativo, *C. maenas* apresenta uma largura da carapaça máxima próxima a 70mm para as fêmeas, enquanto para os machos, 90mm (CROTHERS, 1968; YAMADA, 2001). É uma espécie que apresenta heteroquelia, ou seja, as duas quelas diferenciam-se tanto no tamanho, quanto na forma. No caso de *C. maenas*, a quela de maior tamanho desenvolve-se no lado direito do corpo, sendo esse o padrão mais comum entre os Brachyura (ABBY-KALIO, 1989; ABELLÓ, 1990; MARIAPPAN *et al.*, 2000; SMITH, 2004). Devido a essa diferença morfológica, as quelas direita e esquerda do caranguejo-verde especializaram-se em funções diferentes, sendo a primeira (*crusher chelae*) utilizada para quebrar o alimento, geralmente conchas de moluscos, e a segunda (*cutter chelae*) na manipulação do mesmo (ABBY-KALIO, 1989; SEED e HUGHES, 1995; PRESTON *et al.*, 1996). Com isso, a quela direita, maior, mais robusta e com dentes molariformes, apresenta uma vantagem mecânica ideal (relação entre a altura e largura do dátilo) maior que a respectiva quela esquerda, menor, com o dátilo relativamente mais longo e com dentes cortantes (WARNER *et al.*, 1982; MARIAPPAN e BALASUNDARAM, 1997; MARIAPPAN *et al.*, 2000). Essas mesmas características foram observadas no siri-azul (*Callinectes sapidus*) no estudo de Govind (1985).

A presença da quela de maior tamanho no lado direito do corpo dos braquiúros predadores, entre eles *C. maenas*, facilita o manuseio de presas protegidas por conchas, muitas vezes assimétricas e resistentes, principalmente gastrópodes com espirais destros (condição normal) (NG e TAN, 1985). Esse padrão de indivíduos destros pode ser alterado numa população através da perda da quela maior (*crusher*), onde, a quela menor (*cutter*), presente no lado esquerdo, torna-se, após sucessivas mudas, a quela de maior tamanho, apresentando características semelhantes à quela que foi perdida no lado direito. A regeneração da quela direita produz uma estrutura de menor tamanho, com características cortadoras, semelhante à antiga quela presente no lado esquerdo. Assim, o animal passa a

ser canhoto, apresentando uma reversão das características morfológicas e anatômicas das estruturas quelares (MARIAPPAN *et al.*, 2000; LADLE e TODD, 2004). Segundo Abby-Kalio (1989), a proporção de indivíduos canhotos em uma população de *C. maenas* na Escócia, foi de apenas 21%, e estava relacionada principalmente a indivíduos de maior tamanho, os quais haviam sofrido a perda da quela de maior tamanho e regeneração da quela complementar.

A espécie em questão é nativa da Europa, onde ocorre abundantemente da Noruega e Ilhas Britânicas até a costa atlântica do sul da Espanha (WILLIAMS, 1984), sendo encontrada também na região de Marrocos e Mauritânia (CROTHERS, 1968). Essa espécie invadiu numerosos locais ao redor do mundo, principalmente a Austrália, a costa Atlântica e Pacífica da América do Norte, e a África do Sul (GELLER, 1997; YAMADA, 2001). Ressalta-se a invasão da América do Norte, identificando-se dois diferentes períodos de invasão. No início do século XIX, essa espécie foi encontrada na Costa Leste do EUA, na área de Nova Iorque/Nova Jersey. A sua expansão foi significativa tanto para Norte quanto para Sul dessa região, sendo encontrados atualmente animais desde a Nova Escócia até Maryland. Outro período de invasão, mais recente, foi o que ocorreu na Costa Oeste dos EUA, primeiramente na Baía de São Francisco em 1989/90, ocorrendo uma rápida expansão dessa população, principalmente para Norte, para regiões como Bodega Bay (Califórnia) e Coos Bay (Oregon) (GROSHOLZ, 2002). O ritmo de expansão da espécie continua acelerado, prevendo-se como área potencial a região que vai desde o Golfo do Alasca até a Baixa Califórnia (COHEN, 1995). Um estudo de Hidalgo *et al.* (2005) evidenciou a presença de *C. maenas* na costa atlântica da Patagônia, na América do Sul, prevendo uma possível área de invasão desde o Estreito de Magalhães até a costa sudeste do Brasil.

O caranguejo-verde é uma espécie onívora e oportunista, alimentando-se de um grande número de espécies, aproximadamente 158 gêneros em 19 filos (COHEN, 1995). Suas principais presas são moluscos (bivalves e gastrópodos), crustáceos, anelídeos, peixes e algas. Podem se alimentar ainda de bactérias e foraminíferos, ingeridos juntamente com os sedimentos, além de materiais em decomposição, vermes, entre outros. A sua dieta diferencia-se durante o ciclo de vida e entre os locais onde vive. Alguns estudos têm

demonstrado a ocorrência de canibalismo para essa espécie (MOKSNES *et al.* 1998; MOKSNES, 2002; BAETA *et al.*, 2006), uma característica muito comum entre caranguejos costeiros (LUPPI *et al.*, 2001). O estudo de Moksnes *et al.* (1998) demonstrou que juvenis de *C. maenas* são capazes de causar taxas de predação sobre larvas recém-assentadas da mesma espécie, similares ou maiores que de outros predadores investigados, como outras espécies de caranguejos e camarões. A ingestão de indivíduos da mesma espécie foi realizada principalmente por caranguejos juvenis, sendo esses responsáveis por uma grande taxa de mortalidade sobre indivíduos dos primeiros instars, mesmo na presença de uma fonte de alimento alternativa. Animais adultos consomem indivíduos co-específicos apenas ocasionalmente, o que não é capaz de contribuir no controle da mortalidade durante o período de assentamento de novos recrutas. O canibalismo de indivíduos de menor tamanho permite a indivíduos de maior porte, juvenis ou adultos, aproveitarem indiretamente os recursos obtidos pelos primeiros (WOLCOTT e WOLCOTT, 1984).

Por ser uma espécie oportunista e invasora, *C. maenas* apresenta uma série de características específicas, principalmente aquelas referentes à grande variabilidade de condições ambientais a que é capaz de suportar, contribuindo ainda mais para o seu sucesso invasor (Tabela I).

Tabela I. Sumário dos intervalos de tolerância de *Carcinus maenas* (Adaptado de YAMADA, 2001)

Exposição ao ar atmosférico	Campo: 10 dias em tocas úmidas na zona supratidal. Laboratório: 60 dias se protegidos sob algas marinhas
Temperatura	
Intervalo de sobrevivência a curto prazo	0 a 33°C
Máximo	26°C
Mínimo para crescimento	10°C
Mínimo para alimentação	7°C
Máximo para incubação de ovos	18°C
Salinidade (água do mar = 35‰)	
Intervalo de sobrevivência a curto prazo	4 a 54‰
Mínimo para sobrevivência a longo prazo	11‰
Mínimo para desenvolvimento larval	17‰
Jejum (adultos)	3 meses

O caranguejo-verde apresenta também uma série de predadores, como outros caranguejos, cefalópodes, peixes, aves e mamíferos, os quais variam conforme o seu ciclo de vida e hábitat (CROTHERS, 1968). Esses animais são capazes de utilizar uma grande gama de hábitats, que variam desde a zona subtidal e intertidal para as fases pós-larvais, até substratos arenosos não-consolidados, fundos lamosos, regiões de marismas e prados marinhos, além de substratos lenhosos e rochosos (principalmente na costa oeste norte-americana e na Tasmânia), para os indivíduos adultos, providenciando diferentes graus de exposição, desde baías protegidas até costas bastante expostas.

Na sua região nativa, o caranguejo-verde pode ser considerado uma espécie-chave, capaz de controlar a distribuição, abundância, tamanho, morfologia e comportamento das suas diferentes presas e da composição específica de comunidades de substratos rochosos ou não-consolidados (YAMADA, 2001). Em locais onde *C. maenas* é abundante, moluscos, ouriços-do-mar, mariscos e cracas não conseguem se estabelecer devido à predação de seus recrutas por meio dos caranguejos (BEUKEMA, 1991). Alguns estudos foram realizados para tentar quantificar a influência desse predador em algumas populações de presas, principalmente aquelas com interesses comerciais, como *Mytilus edulis* (DARE e EDWARDS, 1976), *Mercenaria mercenaria* e *Crassostrea gigas*, na Grã-Bretanha (WALNE, 1970), *Ostrea edulis*, na França (MARIN *et al.*, 1973) e *Tapes decussatus*, em Portugal (VILELA, 1950). Todos esses trabalhos comprovam a importância da predação de *C. maenas* nas taxas de mortalidade dessas espécies. Entretanto, a maior parte dos estudos sobre o impacto ecológico e econômico dessa espécie sobre a comunidade nativa é realizada nas áreas invadidas, principalmente nas costas oeste e leste norte-americanas (MORGAN *et al.*, 1980; GROSHOLZ e RUIZ, 1996; GILLESPIE *et al.*, 2007; MC DONALD *et al.*, 2001; JENSEN *et al.*, 2002, 2007; SNYDER, 2004; MACDONALD *et al.*, 2007), na Austrália (WALTON *et al.*, 2002) e na África do Sul (GROSHOLZ e RUIZ, 1996).

A influência de *Carcinus maenas* não se relaciona somente à redução no número de organismos, ou modificações nas relações ecológicas numa comunidade, mas também em modificações morfológicas e anatômicas das suas presas, as quais sofrem mecanismos de variação fenotípica a fim de resistirem a predação voraz desse novo organismo. Estudos

realizados no Cabo de Cod e no Golfo de Maine por Vermeij (1982) e Trussel (2000a), respectivamente, mostraram que no caso do primeiro, indivíduos de *Nucella lapillus* apresentavam mudanças na altura da espiral e na espessura da concha, quando esses animais estavam sob influência de *C. maenas*. Já o segundo mostrou mudanças fenotípicas em *Littorina obtusata*, outra espécie de molusco nativa do Golfo de Maine, na presença do caranguejo-verde. Ressalta-se também o trabalho de Smith e Jennings (2000), que constatou um aumento na espessura da região labial do mexilhão *Mytilus edulis* na presença de estímulos de *C. maenas* em laboratório.

Muitas variações morfológicas observadas em uma espécie ocorrem devido à seleção de fenótipos já fixados e determinados geneticamente (VERMEIJ, 1983; SEELEY, 1986). Entretanto, evidências crescentes indicam que muitas defesas morfológicas de variadas espécies podem ser induzidas ao longo de sua história natural, através de processos de plasticidade fenotípica (TRUSSEL e SMITH, 2000; AGRAWAL, 2001; SMITH, 2004). A indução de defesas é uma forma de plasticidade fenotípica, descrita pela produção de morfologias, substâncias químicas, ou até mesmo de comportamentos, pela presa, em resposta a pistas químicas emitidas por predadores (TOLLRIAN e HARVELL, 1999), capazes de gerar importantes padrões de variação fenotípica em pequena e larga escala (TRUSSEL, 2000b; TRUSSELL e ETTER, 2001). Outras formas de plasticidade fenotípica podem ser geradas por diferenças na alimentação (SMITH e PALMER, 1994; KOPP e TOLLRIAN, 2003), exposição à força gerada pelas ondas e diferenças na temperatura da água do mar (TRUSSELL e ETTER, 2001; SMITH, 2004).

A liberação ou escoamento de substâncias químicas, como feromônios, excretas metabólicas e aminoácidos, tem sido constatada para várias espécies de caranguejos (MARKO e PALMER, 1991; HAYDEN, 2007), sendo sua presença facilmente detectada a alguma distância pela presa em potencial. O uso de odores de predadores, entre eles os de *C. maenas*, tem sido aplicado em numerosos trabalhos, mostrando efeitos drásticos tanto na morfologia (CÔTÉ, 1995; SMITH e JENNINGS, 2000; TRUSSELL, 2000a, b; TRUSSELL e SMITH, 2000), quanto no comportamento (WHITLOW, 2003; ROTJAN, 2004) das principais presas de caranguejos costeiros, confirmando o potencial do seu uso na simulação do risco da predação. Destacam-se os trabalhos realizados com o gastrópode

Littorina obtusata (TRUSSELL, 2000a, b; SMITH, 2004) no Golfo de Maine, que evidenciaram uma modificação na espessura das conchas desse animal, tanto devido à predação por parte do caranguejo-verde *C. maenas*, quanto às diferenças latitudinais de temperatura da água do mar, que são capazes de influenciar a solubilidade do carbonato de cálcio, composto fundamental na constituição dos exoesqueletos dos crustáceos. Além das modificações na presa, observaram-se também respostas morfológicas no próprio predador, com um aumento na espessura da quela de maior tamanho (*crusher chelae*) de *C. maenas*, quando esses estavam na presença de presas que apresentavam conchas de maior espessura, sugerindo a ocorrência de uma corrida armamentista (*Arms race*), um processo de co-evolução entre predador-presa, onde as mudanças fenotípicas ocorrem reciprocamente (AGRAWAL, 2001; EDGELL e ROCHETTE, 2005; SMITH e BALDRIDGE, 2005).

Diversos métodos podem ser utilizados para estudar as variações na forma de inúmeras estruturas biológicas. Entre esses, destacam-se os métodos de morfometria geométrica, que utilizam marcos anatômicos (*landmarks*) ou contornos (*outlines*) para o estudo da variação da forma (ROHLF e MARCUS, 1993). Essas novas técnicas, surgidas na década de 80 do século XX, diferenciam-se dos métodos de morfometria tradicionais, pois não requerem que o investigador conheça *a priori* as medidas que supostamente evidenciam diferenças entre organismos (GUILL *et al.*, 2003). Além disso, não coloca restrições à direção da variação, nem à localização das variações da forma, pois analisa covariâncias em configurações dos marcos anatômicos, em vez das distâncias arbitrárias, geradas por medidas lineares (ADAMS *et al.*, 2004), utilizando assim, informação adicional presente na posição relativa de cada marco anatômico (PARSONS *et al.*, 2003). Entretanto, a seleção do número e local dos marcos anatômicos é bastante arbitrária e, além disso, não podem ser considerados nas análises indivíduos danificados ou mal-preservedos, nos quais seja impossível a identificação de todos os *landmarks*.

As principais etapas de uma análise morfométrica, utilizando esses novos métodos é, segundo Adams *et al.* (2004): 1) coleta das coordenadas bi ou tri-dimensionais de marcos anatômicos, com significado biológico pré-estabelecido; 2) remoção das variações não relacionadas a forma do espécime estudado, utilizando-se métodos de superimposição, que removem, por meio de processos de rotação, orientação e escalonamento, todo o tipo de

variação proveniente do tamanho e posição do indivíduo analisado; 3) observação das variações na forma do objeto analisado por meio de grelhas de deformação (BOOKSTEIN, 1991) e obtenção de eixos parciais e componentes uniformes, referentes às deformações presentes nessas grelhas; 4) realização de análises multivariadas sobre esse conjunto de variáveis obtidas, permitindo a comparação entre formas diferentes por meio de métodos estatísticos convencionais, como análises de variância ou análises de regressão.

O uso desses métodos em trabalhos científicos tem sofrido uma expansão desde os anos 70, com um aumento considerável na década de 90 (ADAMS *et al.*, 2004), sendo considerados importantes aliados na pesquisa entre as diferentes áreas da biologia. Destacam-se os ramos da aqüicultura (SARÁ *et al.*, 1999; LOY, 2000), ecomorfologia (QUERINO *et al.*, 2002; PONTON, 2006; AYTEKIN *et al.*, 2007) e sistemática (AUFRAY, 1996; NEUSTUPA e ŠŤASTNÝ, 2006). Dentre as aplicações em crustáceos, poucos são os estudos realizados, destacando-se os de Rosemberg (1997, 2002), que avaliaram as diferenças na forma da quelas de caranguejos do gênero *Uca*, e as relacionou com tendências evolutivas dentro do gênero e adaptações quanto ao hábitat; e os trabalhos de Cadrin e Friedland (1999) e Cadrin (2000), que utilizaram tais métodos na discriminação de sexos e estoques pesqueiros para a lagosta *Homarus americanus*.

O presente trabalho tem como principais objetivos avaliar as variações na forma da carapaça e das quelas de juvenis do caranguejo-verde *C. maenas* e observar possíveis influências de odores liberados por caranguejos co-específicos adultos sobre a forma e o tamanho desses juvenis, através de métodos de morfometria geométrica. A influência dessa espécie de caranguejo sobre suas principais presas é bastante conhecida e estudada, destacando-se os estudos com gastrópodes e bivalves. Entretanto, comprovada a incidência de canibalismo para a espécie, faltam estudos que abordem as possíveis modificações morfológicas de juvenis sob a influência de caranguejos adultos. Tal estudo auxilia na compreensão da biologia e ecologia dessa espécie, que atualmente é uma das mais estudadas no mundo, devido a sua importância na regulação das comunidades onde se encontra e o seu elevado potencial invasor, relacionado principalmente à sua tolerância a variadas condições ambientais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 COLETA DAS LARVAS

Larvas em estágio de megalopa de *Carcinus maenas* foram colhidas com uma rede de plâncton de 500µm no Canal da Mira, Ria de Aveiro, Portugal (40° 37' 17" N 08° 44' 54" W) (Figura 1) durante os meses de Maio e Junho de 2007. Um total de 160 larvas foi utilizado no experimento laboratorial.



Figura 1. Região de coleta das larvas de *Carcinus maenas*. A) Aveiro, Portugal. B) Canal da Mira, Aveiro, Portugal.

2.2 CONDIÇÕES LABORATORIAIS

As larvas foram mantidas individualmente em laboratório em copos de 200mL, os quais continham 50mL de água do mar filtrada, de salinidade constante, e uma fina camada de sedimento lavado no fundo. O experimento baseou-se na separação das larvas em dois grupos de maneira aleatória: o primeiro, denominado „sem estímulo“, era composto por 80 larvas mantidas de acordo com as condições citadas anteriormente; e o segundo, denominado „com estímulo“, era composto pelas 80 larvas restantes, condicionadas também em copos individuais, porém mantidas em água do mar proveniente de aquários contendo indivíduos adultos de *C. maenas*. Foram utilizados dois aquários, cada um contendo quatro

litros de água do mar filtrada, trocadas a cada dois dias, sempre com dois indivíduos adultos de *C. maenas* por aquário (um macho e uma fêmea), que não eram alimentados. O experimento foi realizado com temperatura constante de 18°C e fotoperíodo de 14h luz: 10h escuro. A água dos copos era trocada a cada dois dias, independente das condições submetidas.

As megalopas e o primeiro estágio de juvenil foram alimentados com juvenis de *Artemia* (10-15 náuplios/mL). Os estágios seguintes foram alimentados com mexilhões ou lulas, além de artêmias, numa frequência de dois dias, sendo que a partir do quinto estágio, estes foram substituídos por alimento seco e moído para crustáceos.

Diariamente os copos eram inspecionados para verificar a existência de mudas ou indivíduos mortos, que se presentes, eram retirados e conservados em álcool etílico 70%. Anotações referentes às datas de ocorrência das mudas ou da morte dos indivíduos também foram realizadas, e utilizadas para posteriores análises comparativas entre os tratamentos adotados no decorrer do experimento.

2.3 TAXAS DE MORTALIDADE

Calculou-se a taxa de mortalidade em cada estágio, desde o estágio larval, até o último estágio juvenil obtido, para cada tratamento utilizado. Como forma de comparar os valores obtidos, analisou-se a taxa de sobrevivência média dos indivíduos até o estágio cinco (C5) para cada tratamento, por meio de uma ANOVA, a fim de entender se a presença do estímulo seria capaz de afetá-la.

2.4 PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS

Para a realização da análise de morfometria geométrica foram selecionadas mudas de juvenis de estágio cinco (C5), provenientes de indivíduos que passaram este estágio com sucesso, isto é, que não morreram antes da muda para o estágio seis. Esse estágio foi escolhido por apresentar um número razoável de ecdises em bom estado de conservação, facilitando a sua manipulação e observação. Assim, um total de 24 ecdises foi utilizado nas análises de morfometria geométrica, sendo 11 dessas provenientes do grupo „com estímulo“

e 13 do grupo „sem estímulo“. Nos indivíduos „com estímulo“, os odores provenientes dos caranguejos adultos atuaram em um tempo médio de $52,8 \pm 4,5$ dias.

Primeiramente, o primeiro par de pereópodos foi separado da carapaça, com posterior retirada das quelas (região constituída pelo carpo, própodo e dáctilo), utilizando pinças e estiletes. Retirou-se também os pereópodos restantes a fim de deixar a carapaça isolada, facilitando análises posteriores. As carapaças e quelas direita e esquerda das mudas de *C. maenas* foram limpas com água sanitária 20% para a remoção de partículas sólidas, capazes de prejudicar os procedimentos posteriores.

As quelas direita e esquerda foram montadas em lâminas escavadas (diâmetro: 15-18mm; profundidade: 0,6-0,8mm), imersas em glicerina. Para evitar o movimento das estruturas, as lamínulas foram fixadas com esmalte de unha. As lâminas foram devidamente marcadas com o lado da quela (direita ou esquerda), número do espécime e tratamento utilizado (com ou sem estímulo). As carapaças foram fixadas diretamente em lâminas simples com esmalte de unha, após estarem secas e limpas, sendo identificadas da mesma forma que as quelas.

2.5 AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS

Utilizando-se as lâminas preparadas, foram registradas imagens digitais da parte dorsal dos exoesqueletos das carapaças e da porção interna das quelas direita e esquerda dos juvenis de *C. maenas*, através de uma câmera digital (Olympus Color View) acoplada a um estereomicroscópio (Olimpus SZH10), com aumento de duas vezes. A captação das imagens foi conseguida através do *software* Cell[^]A Five - Analysis Image Processing (Editor - Olympus Europe, versão 5.0.1163). Antes de serem fotografadas, as lâminas eram inclinadas a fim de manterem-se na posição horizontal, obtida quando pontos de interesse da estrutura apresentavam-se focados.

Uma descrição detalhada dos métodos de morfometria geométrica utilizados no presente trabalho, bem como a sua descrição matemática, podem ser encontrados em inúmeros trabalhos, destacando-se os de Rohlf (1990), Marcus *et al.* (1996) e no livro de Zelditch *et al.* (2004). Uma série de programas de morfometria geométrica foi utilizada nas

análises descritas abaixo (ROHLF, 2004a, b, c), sendo a utilização de cada um, específica para o objetivo proposto.

A marcação dos *landmarks*, ou marcos anatômicos, nas imagens obtidas, foi conseguida através do programa *tpsDig* 1.40 (ROHLF, 2004a). Os marcos anatômicos utilizados foram selecionados baseando-se em regiões capazes de explicar uma possível variação de forma tanto na carapaça, quanto nas quelas. Foram seguidos alguns critérios na seleção dos mesmos, tais como homologia, consistência na posição entre os diferentes exemplares, possibilidade de ser marcada ou remarcada sem erros nos diferentes indivíduos, cobertura adequada da morfologia do espécime analisado e encontrarem-se no mesmo plano (ZELDITCH *et al.*, 2004). Para a carapaça, foram selecionados oito marcos anatômicos a partir da região anterior, em sentido horário, no lado direito de cada espécime. O ponto 1 localizou-se na região mediana da porção anterior da carapaça; o ponto 2, no início da órbita ocular; os pontos 3 a 7, nos espinhos laterais; e o ponto 8, na região mediana da porção posterior da carapaça (Figura 2A). Com relação às quelas, foram marcados cinco *landmarks*, o primeiro na porção terminal do polegar (porção terminal do própodo); o segundo na junção superior entre o polegar e a mão (região central do própodo), o terceiro na porção superior da mão, e por fim, o quarto e quinto, nas porções terminais do própodo, já na intersecção com o carpo (Figura 2B). A marcação dos pontos ocorreu da mesma forma em ambas as quelas, seguindo-se sempre a mesma seqüência de pontos tanto na quela direita, quanto na esquerda. Seguiu-se dessa forma a marcação dos pontos em todos os espécimes utilizados, sempre obedecendo ao mesmo critério e seqüência, obtendo-se por fim, as coordenadas específicas de cada *landmark*.

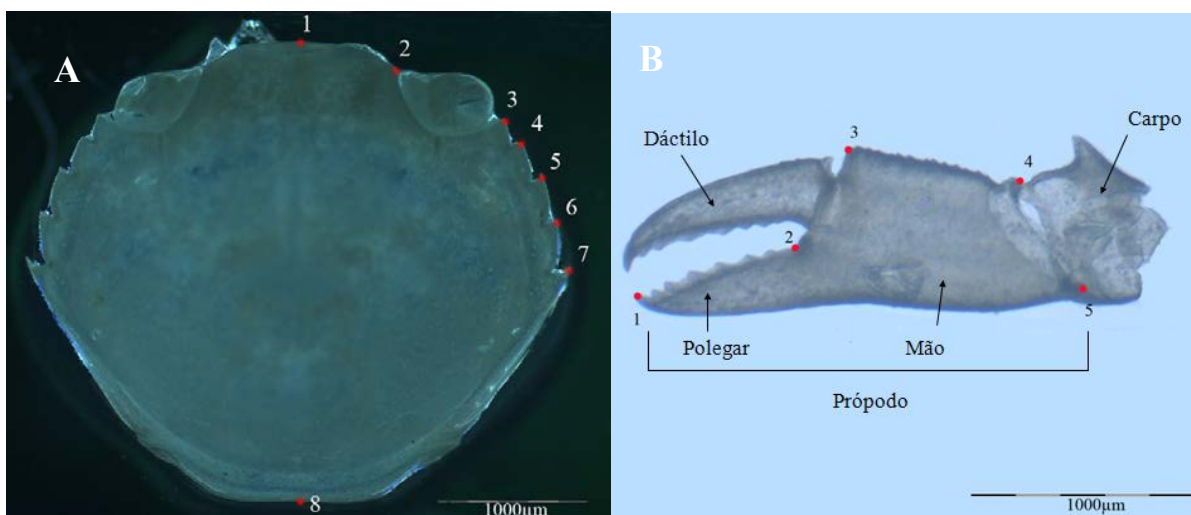


Figura 2. *Carcinus maenas*. A) Localização dos oito marcos anatômicos (landmarks) em exoesqueleto da carapaça de juvenil de estágio 5 do caranguejo-verde. B) Localização dos cinco marcos anatômicos (landmarks) em exoesqueleto da quela direita de juvenil de estágio 5 de *C. maenas* e diagramação dos principais componentes morfológicos da estrutura. Notar a presença das escalas nos cantos inferiores direito de cada representação.

Toda a informação referente às coordenadas dos pontos foi reunida em um único arquivo, utilizando o programa *tpsUtil* 1.29 (ROHLF, 2004b). Ainda através desse programa, foram feitos *links* entre os diferentes pontos, tanto os da carapaça, quanto os das quelas, para facilitar posteriores visualizações na variação das formas.

Os dados referentes às coordenadas dos marcos anatômicos foram transformados em variáveis relacionados à forma através do programa *tpsRelw* 1.39 (ROHLF, 2004c). Primeiramente, os *landmarks* de cada espécime foram otimizados e alinhados utilizando o método da Análise de Distâncias de Procrustes (GPA – *Generalised Procrustes Analysis*), removendo os efeitos de translação, rotação e escalonamento, os quais não estão relacionados à variação da forma (ROHLF e SLICE, 1990; ROHLF, 1999). Essas medidas foram realizadas a fim de se diminuir a distância de procrustes (somatório das diferenças ao quadrado) entre duas formas alinhadas e escalonadas, sendo uma dessas formas a configuração consenso. Após essa superposição, cada configuração, ou seja, cada forma específica, passou a ser representada por apenas um ponto em um espaço multidimensional, conhecido como Espaço de Kendall (KENDALL, 1981, 1984). Esse espaço possui o número de dimensões variando com o número de *landmarks*, sendo esse valor sempre igual

a $2p - 4$, onde p representa o número de *landmarks*, descritos por duas coordenadas (x,y). Sendo o Espaço de Kendall um espaço não-euclidiano, a realização de testes estatísticos nessas condições torna-se difícil. Com isso, cada ponto representando uma configuração de *landmarks*, foi projetado a um espaço euclidiano, com o mesmo número de dimensões, e tangente a um ponto de referência (geralmente a média de todos os pontos) do espaço das formas (Espaço de Kendall) (ZELDITCH *et al.*, 2004). Os dados no espaço tangente são quase que uma aproximação perfeita daqueles no Espaço das Formas (Kendall), visto a pequena variação dos mesmos nesse espaço multidimensional.

O uso de descrições multivariadas para estudar os dados no espaço tangente pode se basear em vários métodos, sendo o método TPS (*Thin Plate Spline*), o utilizado no presente trabalho. Esse método de análise de deformações decompõe os dados obtidos na Análise de Distâncias de Procrustes em duas componentes de deformação: uma componente de deformação uniforme, que descreve as variações na forma em escala global, e uma componente de deformação não-uniforme, representada por eixos parciais (*partial warps*), que descreve variações locais, em regiões específicas do objeto. Uma das vantagens desse método é a possibilidade de visualização do tipo e variação da forma de cada indivíduo através de grelhas de deformação (CAVALCANTI *et al.*, 1999), as quais diferem quando se analisam as componentes uniformes ou os eixos parciais (RIVA *et al.*, 2001; ZELDITCH *et al.* 2004). Valores obtidos por essas componentes podem ser tratados como dados multivariados, representando formas específicas, podendo ser utilizados em análises multivariadas convencionais (CALDECUTT e ADAMS, 1998; RÜBER e ADAMS, 2001; ADAMS *et al.*, 2004). Entretanto, com relação às componentes de variação parciais (*partial warps*), pelo fato de derivarem de transformações geométricas de um espaço não-euclidiano para um euclidiano, acabam por definir apenas variações na forma total de um objeto e não em pedaços particulares do mesmo. Assim, as análises estatísticas a serem utilizadas devem ser simultâneas, e somente técnicas multivariadas, considerando o conjunto de variáveis como um todo, são aplicáveis. Com isso, utilizando-se o programa *tpsRelw* 1.39 (ROHLF, 2004c), realizou-se uma Análise de Componentes Principais dos *partial warps*, produzindo os eixos relativos (*relative warps*), os quais puderam ser utilizados para inferir sobre variações locais e relativas na forma das estruturas analisadas.

As análises demonstradas acima foram realizadas separadamente para a carapaça, quela direita e quela esquerda. Os valores das componentes uniformes e dos *relative warps* dos mesmos foram comparados por meio de análises de variância multivariadas (MANOVA – Teste de Wilks) e univariadas (*one-way* ANOVA) entre os grupos „com estímulo“ e „sem estímulo“, para a possível observação de diferenças significativas na forma dessas estruturas entre os dois tipos de tratamentos. As análises foram realizadas com a ajuda do *software* Statistica (v.6 Statsoft) e sempre foram sucedidas por testes de homogeneidade de variância, para verificar a existência de diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$).

Para a observação das possíveis diferenças do tamanho da carapaça e das quelas entre os diferentes tratamentos, utilizou-se como variável o tamanho do centróide dos mesmos, definido como a raiz quadrada da somatória do quadrado das distâncias entre todas as *landmarks* e o centro de gravidade (centróide) da respectiva configuração (SNEATH, 1967). Análises de variância de uma via (*one-way* ANOVA) foram utilizadas para testar possíveis diferenças significativas nessa variável entre os dois tratamentos realizados, tanto na carapaça, quanto nas quelas. Além disso, medidas da largura e altura das respectivas estruturas foram efetuadas utilizando as coordenadas dos marcos anatômicos, obtidas pelo programa *tpsDig*. Para a carapaça, a largura ficou definida como a diferença entre os valores da abscissa (x) do marco 7 e a média dos valores das abscissas dos marcos 1 e 8, multiplicados por dois, por se tratarem de coordenadas referentes somente ao lado direito dos indivíduos. A altura foi determinada pela diferença entre as ordenadas (y) dos marcos 1 e 8. A relação entre altura/largura da carapaça foi analisada através de uma ANOVA de uma via, sendo o fator utilizado, os diferentes tratamentos. O mesmo processo foi utilizado somente para a quela direita, sendo nesse caso, a largura determinada pela diferença entre os valores das abscissas dos marcos 5 e 1, e a altura pela diferença entre os valores das ordenadas dos marcos 4 e 1. As análises de variância foram sucedidas por testes de homogeneidade de variâncias e testes *post-hoc*, como as que foram realizadas para os *relative warps*.

3. RESULTADOS

3.1 TAXAS DE MORTALIDADE

Através da análise dos tempos de muda, e da mortalidade das larvas e dos subsequentes estádios juvenis de *C. maenas*, observou-se a existência de dois períodos de maior mortalidade para ambos os tratamentos, restritos aos estádios um (C1) e seis (C6) (Figura 3a). Entretanto, nos indivíduos „com estímulo“ a taxa de mortalidade nos dois estádios foi visualmente superior a dos indivíduos „sem estímulo“. Além disso, ao se analisar a sobrevivência média dos mesmos, em dias, até o estágio cinco (C5), no qual foram realizadas as análises de morfometria geométrica, não se observaram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos ($p = 0,776$), mostrando uma sobrevivência média em torno de 55 dias, independente do tratamento utilizado (Figura 3b).

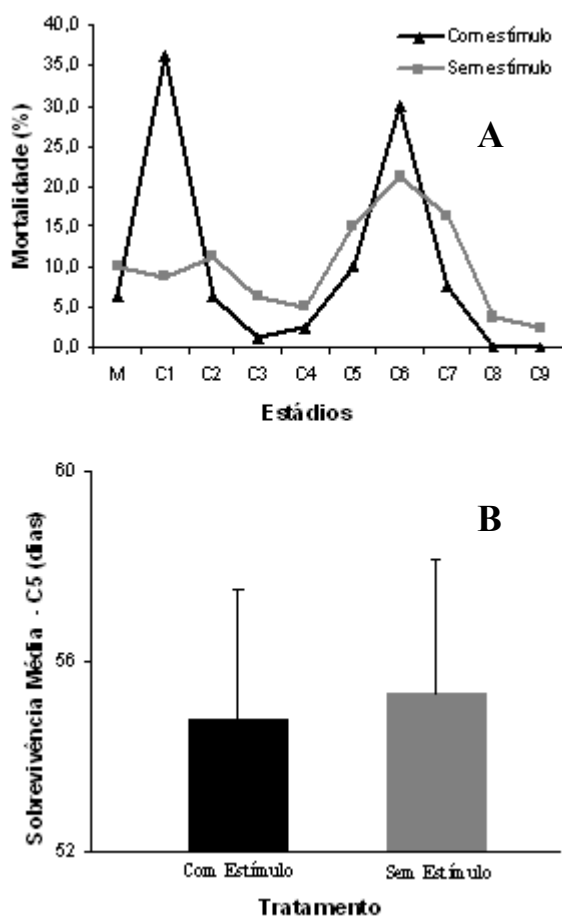


Figura 3. *Carcinus maenas*. A) Representação gráfica das taxas de mortalidade obtidas para os diversos estádios juvenis (C1 a C9) e de megalopa (M) de *C. maenas* durante o experimento laboratorial, diferenciando os tratamentos utilizados. B) Sobrevivência média em dias de juvenis de *C. maenas* de estágio 5, para indivíduos cultivados sem e com estímulo (ANOVA, $p > 0,05$). As barras verticais representam o erro padrão associado.

3.2 ANÁLISES DE MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

a) Carapaça

A análise de morfometria geométrica realizada nos 24 exoesqueletos de juvenis de *C. maenas* de estágio cinco (C5), gerou dois principais componentes de deformação: os eixos relativos (*relative warps*) e os componentes uniformes. Com relação às análises efetuadas nas carapaças, foram obtidos 12 *relative warps* (RW), sendo os quatro primeiros representando 79,97% da variação total. A inspeção visual das grelhas de deformação geradas pela análise de TPS capacitou a realização de generalizações a respeito das tendências de variação da forma da estrutura analisada. No caso da carapaça, partindo do lado negativo de cada eixo e seguindo para o lado positivo, o primeiro eixo (RW1) (29,68% da variação total) descreve a variação relativa da região anterior, com a expansão da mesma, principalmente na zona da órbita ocular (*landmark 2*) (Figura 4b). O segundo eixo (RW2) (22,72%) descreve uma variação relativa na região lateral, com uma expansão relacionada principalmente às *landmarks* correspondentes aos espinhos laterais (Figura 4b). O terceiro eixo (RW3) (15,88%) descreve uma ligeira variação da região lateral, com o achatamento relativo da mesma e deslocamento do quarto espinho lateral mais posteriormente (Figura 5b). Por fim, o quarto eixo (RW4) (11,69%) descreve uma variação antero-lateral, com expansão relativa da região orbital e dos espinhos laterais (Figura 6b). Os dois componentes uniformes obtidos representam deformações globais na forma da carapaça, sendo o primeiro componente uniforme (U1) o que descreve uma expansão lateral uniforme da carapaça, e o segundo componente (U2), o que descreve um alongamento uniforme da carapaça, com uma conseqüente contração lateral da mesma (Figura 7b).

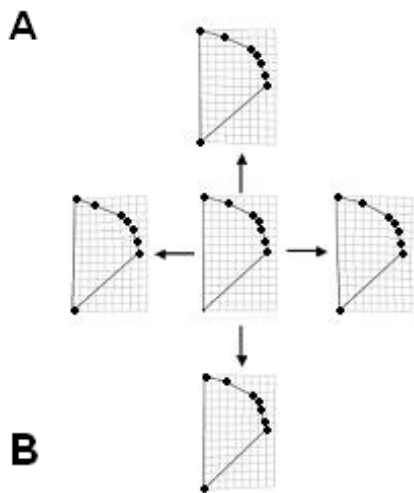
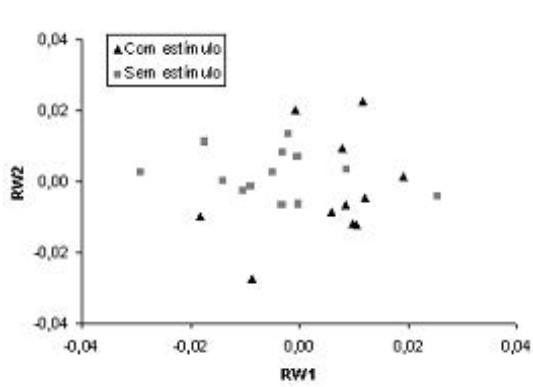


Figura 4. *Relative warps* (RW) 1 e 2 referentes à variação da forma da carapaça de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do RW1xRW2. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da carapaça; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.

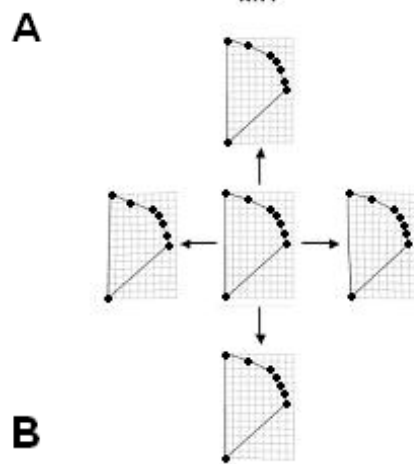
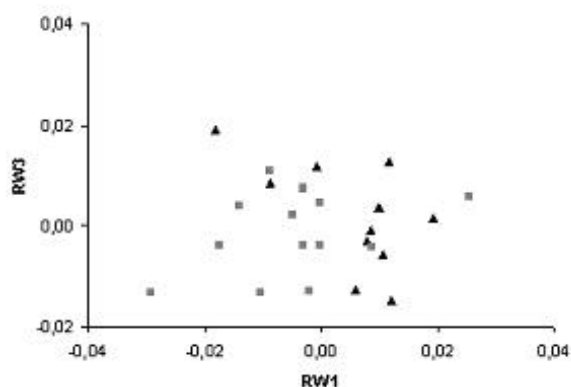
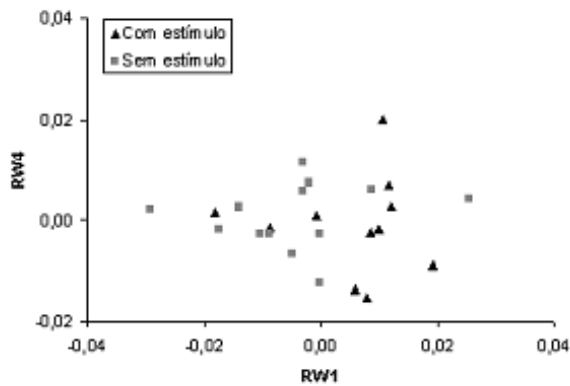
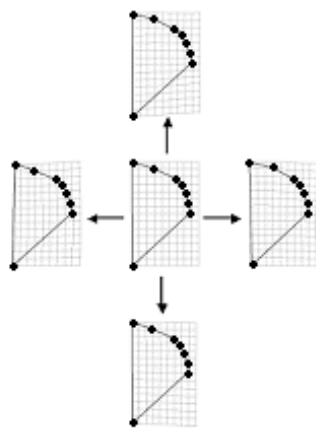


Figura 5. *Relative warps* (RW) 1 e 3 referentes à variação da forma da carapaça de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do RW1xRW3. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da carapaça; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.

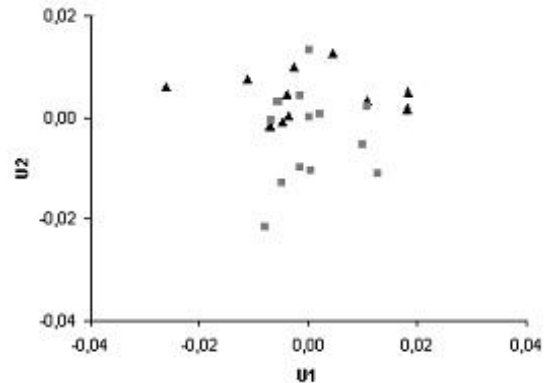


A

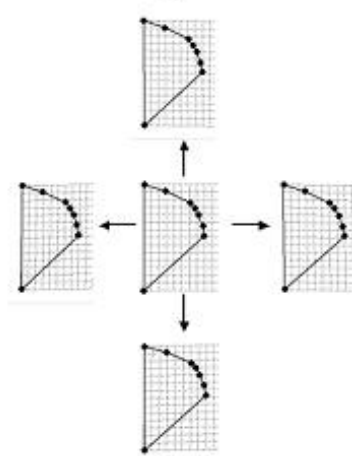


B

Figura 6. *Relative warps* (RW) 1 e 4 referentes à variação da forma da carapaça de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do RW1xRW4. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da carapaça; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.



A



B

Figura 7. Componentes Uniformes (U) 1 e 2 referentes à variação da forma da carapaça de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do U1xU2. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da carapaça; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.

A análise de variância multivariada realizada para os quatro primeiros *relative warps* não mostrou resultados significativos quanto ao tratamento utilizado ($p = 0,225$). Além disso, as análises de variância univariadas para cada um dos quatro *relative warps* também não obtiveram resultados significativos, porém para o RW1, o valor atingido, foi muito próximo da significância estatística ($p = 0,057$). Essa proximidade pode ser comprovada pela análise das figuras 4a, 5a e 6a, que mostram uma tendência na

distribuição dos pontos ao longo do RW1, estando aqueles do grupo „com estímulo“, distribuídos majoritariamente no lado positivo desse eixo, enquanto que os pontos do grupo „sem estímulo“, distribuídos em sua grande maioria, no lado negativo do mesmo.

Com relação às componentes uniformes, uma análise de variância mostrou existirem diferenças significativas entre os dois tratamentos utilizados quando se comparou a componente uniforme 2 (U2) ($p = 0,014$) (Tabela II). Esse fato é comprovado visualmente pela figura 7a, onde os pontos referentes ao grupo „com estímulo“ distribuem-se majoritariamente na região superior, positiva, do eixo 2 (U2), enquanto aqueles referentes ao grupo „sem estímulo“ ficaram restritos, em sua grande maioria, à parte negativa desse eixo.

Tabela II. ANOVAs univariadas para as duas componentes uniformes (U1 e U2) obtidas na análise de morfometria geométrica da carapaça de juvenis de estágio 5 de *C. maenas*. O fator utilizado foi „tratamento“, referente às duas condições abordadas no experimento, „com estímulo“ e „sem estímulo“. O nível de significância estatística utilizado foi o de $p < 0,05$.

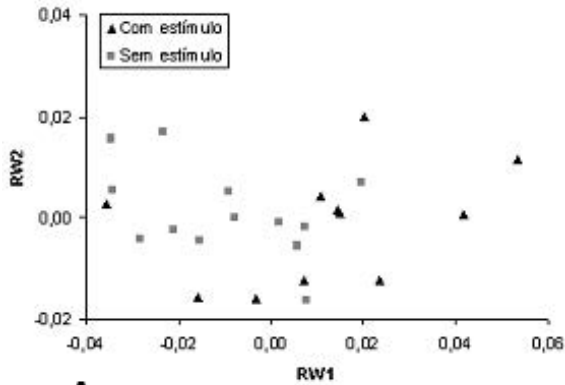
U1					
Tratamento	1	1.01E-05	1.01E-05	0.099647	0.755228
Erro	22	0.002236	0.000102		
Total	23	0.002246			
U2					
Tratamento	1	0.000396	0.000396	7.20844	0,01353*
Erro	22	0.001209	5.49E-05		
Total	23	0.001605			

* diferenças significativas ($p < 0,05$) da variável entre os dois tratamentos utilizados.

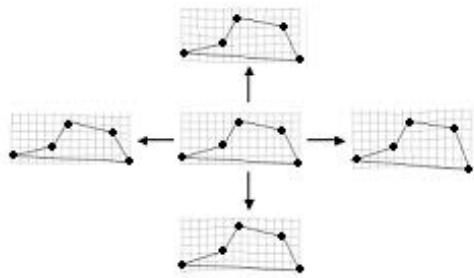
As relações de tamanho da carapaça (altura/largura) e o tamanho do centróide, também foram analisados por análises de variância univariadas. Não foram observadas diferenças significativas no tamanho do centróide entre os indivíduos „com estímulo“ e „sem estímulo“ ($p = 0,078$). A análise de variância realizada para a razão altura/largura mostrou um valor próximo da significância estatística ($p = 0,057$). Esse quociente apresentou maiores valores relacionados aos animais „com estímulo“, quando comparado com os „sem estímulo“.

b) Quela direita

As análises de morfometria geométrica realizadas nas queelas direita dos exoesqueletos de juvenis de *C. maenas*, possibilitaram a obtenção de seis *relative warps* (RW), sendo os três primeiros representando 86,65% da variação total. Da mesma forma que com a carapaça, a inspeção visual das grelhas de deformação geradas pela análise de TPS capacitou a realização de generalizações a respeito das tendências de variação da forma da quela direita. Partindo do lado negativo de cada eixo e seguindo para o lado positivo, o primeiro eixo (RW1) (65,64% da variação total) descreve um distanciamento relativo entre os marcos anatômicos 4 e 5, que gera um aumento da altura da quela na região de intersecção entre o própodo e o carpo (Figura 8b). O segundo eixo (RW2) (12,07%) descreve uma diminuição relativa na altura do polegar com relação à região da mão (Figura 8b). Por fim, o terceiro eixo (RW3) (8,94%) descreve uma maior abertura do ângulo definido pelos marcos anatômicos 1, 4 e 5, com deslocamento relativo da região superior e terminal do própodo (Figura 9b). Os dois componentes uniformes obtidos representam deformações globais na forma da quela direita, sendo o primeiro componente uniforme (U1) o que descreve, seguindo da região negativa para a positiva do eixo, um achatamento dorso-ventral uniforme de toda a quela, e o segundo componente (U2) o que descreve um alongamento horizontal uniforme e ligeiro da mesma (Figura 10b).

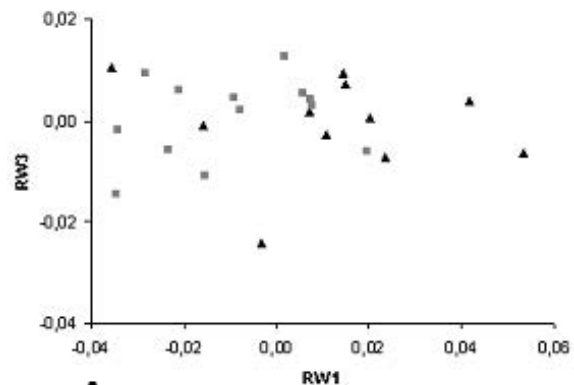


A

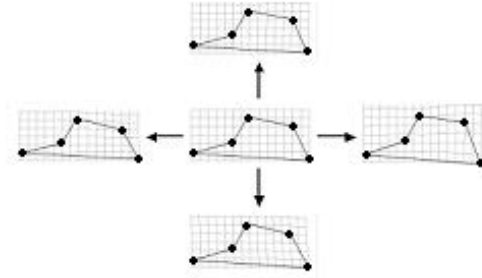


B

Figura 8. *Relative warps* (RW) 1 e 2 referentes à variação da forma da pata direita de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do RW1xRW2. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da pata direita; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.



A



B

Figura 9. *Relative warps* (RW) 1 e 3 referentes à variação da forma da pata direita de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do RW1xRW3. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da pata direita; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.

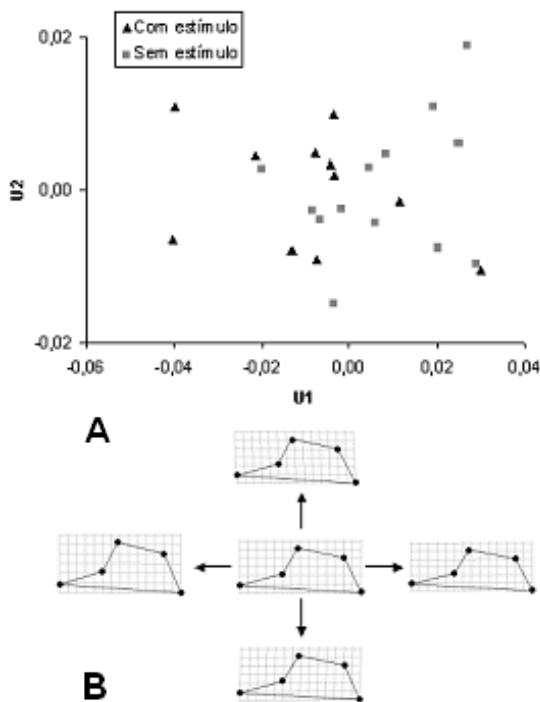


Figura 10. Componentes Uniformes (U) 1 e 2 referentes à variação da forma da pata direita de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do U1xU2. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da pata direita; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.

A análise de variância multivariada realizada para os três primeiros *relative warps* não mostrou resultados significativos quanto ao tratamento utilizado ($p = 0,117$). Entretanto, as análises de variância univariadas realizadas para cada um dos três *relative warps*, mostrou diferenças significativas entre os diferentes tratamentos no que diz respeito ao *relative warp* 1 (RW1) ($p = 0,018$) (Tabela III). A distribuição dos pontos ao longo desse eixo ilustra essa diferença significativa, estando os indivíduos „sem estímulo“ restritos, em sua grande maioria, à porção negativa do eixo, enquanto que os indivíduos „com estímulo“, restritos majoritariamente à região positiva do mesmo (Figura 8a, 9a).

Tabela III. ANOVAs univariadas para cada um dos três primeiros *relative warps* (RW) e para o tamanho do centróide (CS) obtidos na análise de morfometria geométrica da pata direita de juvenis de estágio 5 de *C. maenas*. O fator utilizado foi „tratamento“, referente às duas condições abordadas no experimento, „com estímulo“ e „sem estímulo“. O nível de significância estatística utilizado foi o de $p < 0,05$.

Variável	GL	SQ	QM	F	p
RW1					
Tratamento	1	0.002893	0.002893	6.504902	0,018234*
Erro	22	0.009786	0.000445		
Total	23	0.012679			
RW2					
Tratamento	1	0.000035	0.000035	0.339125	0.566256
Erro	22	0.002295	0.000104		
Total	23	0.00233			
RW3					
Tratamento	1	0.000011	0.000011	0.145323	0.706702
Erro	22	0.001716	0.000078		
Total	23	0.001727			
CS					
Tratamento	1	0.00455	0.00455	0.248	0.623324
Erro	22	0.40331	0.01833		
Total	23	0			

* diferenças significativas ($p < 0,05$) da variável entre os dois tratamentos utilizados

Com relação às componentes uniformes, uma análise de variância mostrou existirem diferenças significativas entre os dois tratamentos utilizados quando se comparou a componente uniforme 1 (U1) ($p = 0,032$). Esse fato é comprovado visualmente pela figura 10a, onde os pontos referentes ao grupo „com estímulo“ distribuem-se majoritariamente na região esquerda, negativa, do eixo 1 (U1), enquanto aqueles referentes ao grupo „sem estímulo“ restringem-se em sua grande maioria, à parte positiva desse eixo. Para o componente uniforme 2 (U2), não foram encontradas diferenças significativas com relação ao tratamento utilizado ($p = 0,990$) (Tabela IV).

Não foram observadas diferenças significativas no tamanho do centróide entre os indivíduos „com estímulo“ e „sem estímulo“ ($p = 0,623$) (Tabela III), e nem na razão altura/largura ($p = 0,073$).

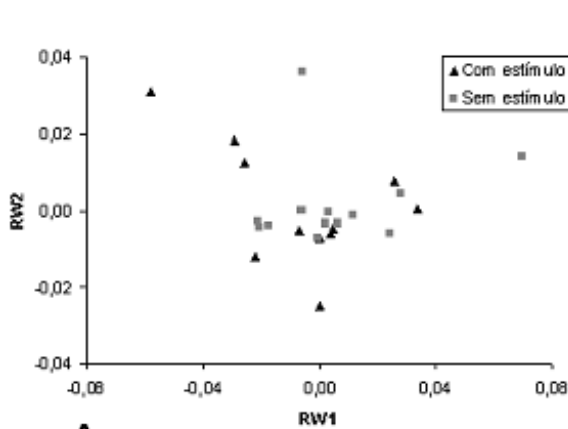
Tabela IV. ANOVAs univariadas para as duas componentes uniformes (U1 e U2) obtidas na análise de morfometria geométrica da pata direita de juvenis de estágio 5 de *C. maenas*. O fator utilizado foi „tratamento“, referente às duas condições abordadas no experimento, „com estímulo“ e „sem estímulo“. O nível de significância estatística utilizado foi o de $p < 0,05$.

Variável	GL	SQ	QM	F	p
U1					
Tratamento	1	0.001667	0.001667	5.274772	0,031529*
Erro	22	0.006953	0.000316		
Total	23	0.00862			
U2					
Tratamento	1	1.14E-08	1.14E-08	0.000162	0.989955
Erro	22	0.001548	7.03E-05		
Total	23	0.001548			

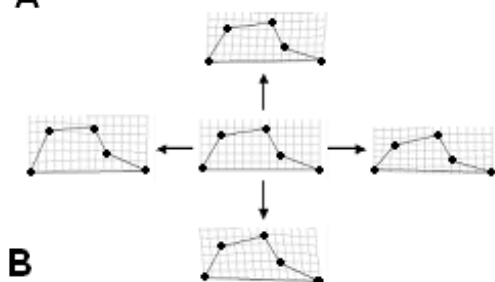
* diferenças significativas ($p < 0,05$) da variável entre os dois tratamentos utilizados

c) Quela esquerda

As análises de morfometria geométrica realizadas nas queelas esquerdas dos exoesqueletos de juvenis de *C. maenas* possibilitaram a obtenção de seis *relative warps* (RW), sendo os três primeiros representando 91,98% da variação total. Partindo do lado negativo de cada eixo e seguindo para o lado positivo, o primeiro eixo (RW1) (57,41% da variação total) descreve um achatamento relativo da região posterior, relacionada com a variação do ângulo entre os marcos anatômicos 4 e 5 (Figura 11b). O segundo eixo (RW2) (22,74%) descreve uma contração relativa da região anterior da mão, através do movimento do marco anatômico 3, com ligeira modificação na posição relativa do polegar (Figura 11b). Por fim, o terceiro eixo (RW3) (11,82%) descreve um achatamento relativo da região lateral da quela, com a aproximação dos marcos anatômicos 3 e 4 e conseqüente aumento do polegar (Figura 12b). Os dois componentes uniformes obtidos representam deformações globais na forma da quela esquerda, sendo o primeiro componente uniforme (U1) o que descreve um achatamento dorso-ventral uniforme de toda a quela, e o segundo componente (U2) o que descreve uma expansão uniforme no comprimento da mesma.

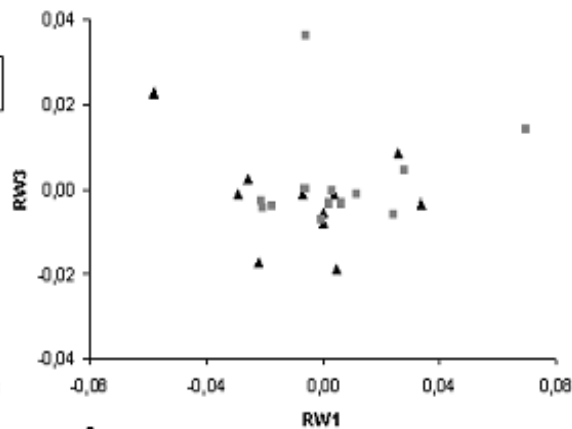


A

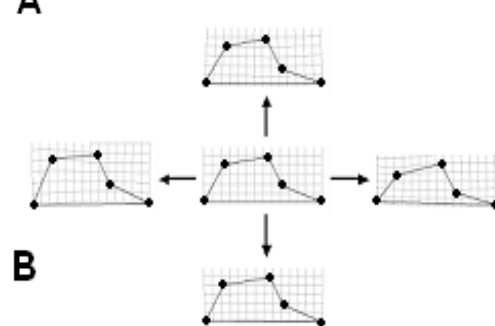


B

Figura 11. *Relative warps* (RW) 1 e 2 referentes à variação da forma da pata esquerda de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do RW1xRW2. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da pata esquerda; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.



A



B

Figura 12. *Relative warps* (RW) 1 e 3 referentes à variação da forma da pata esquerda de *C. maenas*, evidenciando os dois tratamentos utilizados no estudo. (A) Representação gráfica do RW1xRW3. Cada ponto representa uma única forma. (B) A configuração central ilustra a forma média da pata esquerda; as outras configurações ilustram as mudanças na forma representadas pelo movimento ao longo de cada eixo, na direção indicada pelas setas.

A análise de variância multivariada realizada para os três primeiros *relative warps* não mostrou resultados significativos quanto ao tratamento utilizado ($p = 0,568$). As análises de variância univariadas realizadas para cada um dos três *relative warps* também não mostraram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos. A distribuição dos pontos ao longo dos eixos não mostra uma divisão clara entre os dois tratamentos utilizados em qualquer das componentes analisadas (Figuras 11b, 12b). O mesmo ocorre com as componentes uniformes, onde não se observaram diferenças significativas entre os indivíduos „com estímulo“ e „sem estímulo“ para ambos os eixos.

Não foram observadas diferenças significativas no tamanho do centróide da quela esquerda entre os indivíduos „com estímulo“ e „sem estímulo“ ($p = 0,800$). Não se analisou a razão altura/largura para a quela esquerda, pelo fato dessa estrutura não apresentar diferenças significativas em nenhuma das outras variáveis utilizadas, como os *relative warps*, as componentes uniformes e o tamanho do centróide.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou existirem diferenças significativas entre a forma da carapaça e da quela direita de juvenis do caranguejo-verde *Carcinus maenas*, cultivados na presença de um estímulo proveniente de odores liberados por co-específicos adultos, e indivíduos juvenis cultivados sem esse estímulo. Não foram observadas diferenças relativas ao tamanho dos espécimes quando se compararam os dois tipos de tratamentos.

As taxas de mortalidade observadas para os animais „com estímulo“, diferenciaram-se dos „sem estímulo“ pelo fato de apresentarem um elevado pico de mortalidade inicial, restrito ao estágio de juvenil 1 (C1). Além disso, a análise da sobrevivência média dos mesmos indivíduos até o estágio 5 (C5), no qual foram realizadas as análises de morfometria geométrica, mostrou não existirem diferenças dessa variável entre os dois grupos de indivíduos. Esse comportamento observado para as taxas de mortalidade pode ser explicado pela diferença na qualidade da água utilizada nos diferentes cultivos. O efluente liberado pelos adultos é composto, em sua grande maioria, por produtos provenientes da excreção dos mesmos. Esses produtos atuam sobre os caranguejos juvenis, que em estágios iniciais de desenvolvimento, são muito mais sensíveis à toxicidade dessas substâncias, sendo capazes de provocar a elevada mortalidade observada no experimento. Após esse pico de mortalidade, as taxas comportam-se semelhantemente entre os dois tratamentos, pelo fato dos caranguejos já apresentarem certa resistência a esses produtos de excreção. Com isso, a sobrevivência média até o estágio 5 não foi afetada, mostrando valores semelhantes para os dois tratamentos.

A utilização dos métodos de morfometria geométrica nesse trabalho mostrou-se bastante convincente no que diz respeito à análise e interpretação dos dados. Segundo Adams *et al.* (2004), a maioria dos estudos que utilizam técnicas desse tipo, analisa a forma de estruturas através de procedimentos baseados no espaço das formas de Kendal, na distância de Procrustes e nas aproximações a um espaço tangente, como o que se utilizou no presente estudo. A utilização desses procedimentos acaba apresentando um elevado poder estatístico, com um baixo erro associado, impondo constrangimentos mínimos, dificilmente detectados, às tendências de variação da forma (ROHLF, 1999).

A análise da segunda componente uniforme (U2) obtida para a carapaça, demonstrou existirem diferenças significativas entre a forma de indivíduos „com estímulo“ e „sem estímulo“. Essa componente explica variações globais, que acontecem ao longo de toda a estrutura, mostrando que os animais que tiveram contato com odores de co-específicos adultos, os quais se localizavam principalmente na parte positiva do eixo U2, apresentavam a tendência de possuírem uma carapaça mais alongada e contraída lateralmente, quando comparados com espécimes „sem estímulo“. Além disso, não se observaram diferenças no tamanho do centróide entre os diferentes tratamentos. O valor dessa variável manteve-se constante nos dois tratamentos pelo fato do alongamento da carapaça ser uniforme, e conseqüentemente gerar uma contração lateral da mesma, ou seja, o aumento na dimensão vertical foi compensado por uma regressão na dimensão horizontal, mantendo assim o mesmo tamanho do centróide em ambos os tratamentos.

Analisando-se o *relative warp* 1 (RW1), que apresentou diferenças quase significativas entre os dois tratamentos ($p = 0,057$), observou-se a variação na forma da região anterior nos indivíduos „com estímulo“, localizados majoritariamente na parte positiva do RW1. Nesses indivíduos, a região anterior, principalmente aquela correspondente ao marco anatômico 2, na órbita ocular, sofre uma expansão relativa. Essa expansão modifica a forma do segmento formado pelos *landmarks* 1 a 3, de linear, no lado negativo do RW1, para uma forma mais triangular, com a formação de um ângulo entre o marco anatômico 2 e os que estão ao seu redor. Assim, os animais „com estímulo“, numa visão global, apresentam carapaças mais alongadas e contraídas que aqueles „sem estímulo“, apresentando ainda uma tendência de variação local da região da órbita ocular. Essa quase significância estatística obtida para o *relative warp* 1 da carapaça de *C. maenas*, pode ser explicada pelo pequeno número de amostras utilizadas nas análises de morfometria geométrica, no caso 24 exoesqueletos de juvenis de estágio cinco.

Essas adaptações na carapaça observadas nos indivíduos „com estímulo“ podem ser explicadas como defesas morfológicas induzidas através do efeito de predação, o qual foi gerado pelo contato com o efluente de indivíduos adultos. Modificações na forma externa da carapaça, certamente serão acompanhadas por modificações internas da mesma, acarretando alterações nos espaços para a distribuição de órgãos vitais, como as brânquias,

coração ou gônadas. No caso observado nesse estudo, a modificação uniforme na forma da carapaça, com um alongamento da mesma, propiciaria um espaço adicional para o desenvolvimento de uma maior massa branquial, inserida em toda a região lateral da carapaça, desde a região anterior, até a posterior. Uma maior oxigenação, gerada pela maior massa branquial, acarretaria numa maior potência cardíaca e muscular, facilitando, por exemplo, num momento de fuga de predadores.

Além disso, tal modificação em indivíduos „com estímulo“, mudaria a posição relativa dos olhos do caranguejo, com uma expansão do local de inserção dos mesmos. Essa modificação poderia funcionar como uma adaptação para evitar ou reduzir a predação, visto esses animais enxergarem principalmente em duas dimensões, por apresentarem achatamento dorso-ventral, o que geraria uma ampliação no seu campo visual.

O presente trabalho também demonstrou que caranguejos „com estímulo“ apresentam modificações na forma somente da quela direita, quando comparados com os espécimes „sem estímulo“. Tanto a componente uniforme 1 (U1), quanto o *relative warp* 1 (RW1), foram significativamente diferentes entre os dois grupos de organismos analisados. Os animais sob influência de pistas químicas, liberadas por adultos co-específicos, apresentaram um aumento uniforme na altura da quela direita como um todo, como pode ser observado variando-se a posição no eixo da componente uniforme 1. Os animais „com estímulo“ estão restritos, na sua grande maioria, à parte negativa do eixo U1, a qual representa uma forma mais robusta, obtida por uma alongação vertical da estrutura como um todo.

Analisando-se o RW1, que também se mostrou significativamente diferente entre os dois tratamentos, observa-se a mesma tendência demonstrada pela componente uniforme. Entretanto, diferente da componente anterior, que explica variações globais, esse eixo demonstra haver variações locais na forma da quela direita de juvenis sob estímulo de predadores, quando comparado com aqueles que não sofreram tal estímulo. Os caranguejos „com estímulo“, distribuídos principalmente na porção positiva do RW1, apresentaram um aumento na espessura da quela na região de intersecção entre o própodo e o carpo, através do distanciamento relativo entre os marcos anatômicos 4, localizado na região terminal superior do própodo, e o marco 5, localizado na região terminal inferior do mesmo,

tornando-a mais robusta. De acordo com Smith (2004), um aumento no tamanho da quela, principalmente na altura da região da mão, resulta em uma quela com uma vantagem mecânica ideal maior, maior massa muscular e um maior espaço entre o dactilo e o polegar, auxiliando na captura de alimentos de diferentes tamanhos.

Em seu estudo realizado no Golfo de Maine (EUA), Smith (2004) comparou duas populações de *C. maenas*, uma bem estabelecida, ao Sul, cuja principal presa, o gastrópode *Littorina obtusata*, apresentava conchas mais robustas, adaptadas a elevada predação exercida pela grande população de caranguejos-verdes; e outra a Norte, com menor abundância de caranguejos e distribuição mais esparsa, cujas presas, apresentavam conchas com as paredes mais finas, comparadas às da região Sul. Comprovou-se que os caranguejos da região Sul, apresentavam um aumento significativo de 6,5% na altura da região da mão, somente na quela de maior tamanho, quando comparados aos indivíduos da região Norte. Não foram observadas variações na forma da quela de menor tamanho, utilizada para a manipulação do alimento, que no caso de *C. maenas*, localiza-se no lado esquerdo do corpo. O aumento na altura da quela de maior tamanho, localizada no lado direito do corpo, é explicada por ser essa a estrutura utilizada para quebrar as conchas de suas presas, que sendo mais robustas, necessitam de mais força e potência para serem quebradas. Assim, caranguejos com quelas mais largas e fortes apresentam uma vantagem seletiva para com os que não as possuem, não somente por esses indivíduos terem acesso a uma faixa mais ampla de tipos e tamanho de presa, mas também pelo fato de haver um menor risco de danos às quelas no momento da alimentação ou defesa (JUANES e HARTWICK, 1990, TAYLOR *et al.*, 2000).

No caso do presente trabalho, também não se observaram variações na forma da quela de menor tamanho (esquerda) entre os animais com e sem estímulo. Entretanto, semelhante ao exemplo acima, a quela direita apresentou modificações importantes para se tornar mais robusta e protegida, principalmente no que se refere ao aumento relativo da região de intersecção própodo-carpo, pois é nesse local que se inserem a maior parte dos músculos responsáveis pelo movimento da quela como um todo. Com o aumento dessa área específica, há um maior espaço para o desenvolvimento da musculatura, permitindo uma maior força e potência para a quela. Assim, o fato de existirem diferenças na morfologia e

na função das quelas de *C. maenas*, torna-se uma questão muito importante para estudos futuros sobre a morfologia, comportamento e morfometria dessa espécie de caranguejo (JUANES *et al.*, 2008).

Esse trabalho demonstrou que defesas morfológicas em juvenis de *Carcinus maenas* podem ser induzidas por indivíduos adultos co-específicos. Entretanto, esse estudo somente utilizou dados obtidos laboratorialmente, com condições diferentes das que ocorrem no campo. No ambiente natural, o surgimento de defesas induzidas pode ser esperado, principalmente, quando o impacto dos predadores é bastante variável ou imprevisível, enquanto que o aparecimento de defesas constitutivas, ou seja, fixadas no genótipo, deve ocorrer somente quando os impactos causados pelos predadores forem mais uniformes e previsíveis (TOLLRIAN e HARVEL, 1999; TRUSSELL, 2000b). Além da influência do predador sob a constituição dessas defesas, mais três tópicos devem ser levados em conta no favorecimento das defesas induzidas em detrimento das constitutivas. Segundo Trussell (2000b), as defesas induzidas somente serão favorecidas se a produção de uma característica defensiva conferir algum benefício ao organismo, como um aumento na sobrevivência, crescimento ou reprodução; haver a presença de um estímulo real, capaz de induzir a defesa; ou o custo de produzir uma defesa constitutiva for maior, frente às condições ambientais locais.

O fato de esse trabalho ter utilizado somente experimentos laboratoriais para tentar explicar diferenças morfológicas entre indivíduos com e sem estímulo, sem utilizar pesquisas no ambiente natural, traz à tona duas hipóteses capazes de explicar tais variações. A primeira hipótese é a de que as modificações morfológicas observadas nos juvenis ocorreram por meio de plasticidade fenotípica, ou seja, através da habilidade de um organismo expressar diferentes fenótipos, dependendo de condições ambientais bióticas ou abióticas (AGRAWAL, 2001). A outra hipótese é a de que os indivíduos analisados foram selecionados naturalmente, pois já apresentavam características adaptativas à predação por parte dos adultos co-específicos. Somente uma análise complementar dos indivíduos mortos durante o experimento, comprovaria uma dessas hipóteses. Se compararmos, por exemplo, ecdises de juvenis de estágio 4, que sobreviveram até estádios sucessivos, e que foram expostos a estímulos de co-específicos adultos, com indivíduos mortos de mesmo

estádio, também expostos a esses estímulos, poderemos comprovar uma dessas hipóteses. Se não forem encontradas diferenças significativas entre a forma média das ecdises e dos indivíduos mortos, comprova-se a hipótese de plasticidade fenotípica, onde o estímulo atuou na indução de defesas morfológicas, tanto nos animais mortos, quanto naqueles que sobreviveram a estádios posteriores. A plasticidade fenotípica acaba por funcionar como um mecanismo de manutenção da variação genética (GILLESPIE e TURELLI, 1989), pois reduz a probabilidade de um único genótipo ser considerado ótimo em todos os ambientes. A plasticidade pode, por essa razão, influenciar as seguintes características: o favorecimento de genótipos específicos em ambientes particulares, a resposta de diferentes populações à seleção, a taxa de fixação desses genótipos e a manutenção da variação genética. No entanto, se forem encontradas diferenças significativas entre a forma média desses dois grupos de organismos, pode-se aceitar a hipótese de que a seleção natural selecionou somente os espécimes que apresentavam características adaptativas para evitar ou reduzir a predação por parte dos caranguejos adultos. Assim, os indivíduos que morreram foram selecionados negativamente por não apresentarem tais características.

Por fim, por se tratar de uma espécie invasora conhecida mundialmente, o caranguejo-verde *Carcinus maenas*, é foco de inúmeros trabalhos de investigação científica. Contudo, como em qualquer estudo de invasões biológicas marinhas, o foco principal desses trabalhos é analisar os impactos diretos da invasão da espécie, como a alteração do hábitat e modificação nos padrões de competição e predação da comunidade nativa. Pouco se sabe sobre como essas espécies introduzidas respondem ecologicamente e evolutivamente ao novo ambiente, e também pouco se sabe sobre os efeitos indiretos provocados pela presença dessa nova espécie sobre espécies de presa, predadores e até mesmo de indivíduos co-específicos. No caso de *Carcinus maenas*, esse foi o primeiro estudo a abordar a questão do canibalismo influenciando a morfologia de juvenis dessa espécie. Sabe-se que o canibalismo é uma das principais formas de controle da mortalidade em eventos de assentamento para muitas espécies de caranguejos, entre eles o próprio caranguejo-verde, variando bastante conforme o ambiente analisado (LUPPI *et al.*, 2001; BAETA *et al.*, 2006). Entretanto, influências indiretas do mesmo sobre a morfologia da própria espécie não haviam ainda sido reportadas na literatura. Para um melhor

entendimento de todo esse processo, pesquisas deverão ser realizadas para determinar qual a natureza das pistas químicas liberadas pelos indivíduos adultos, e qual a relação funcional entre as respostas morfológicas de defesa com o tipo, concentração e duração dessas pistas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBY-KALIO, N. J.; WARNER, G. F. Heterochely and handedness in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) (Crustacea: Brachyura). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 96, p. 19–26, 1989.

ABELLÓ, P.; PERTIERRA, J. R.; REID, D. G. Sexual dimorphism, relative growth and handedness in *Liocarcinus depurator* and *Macropipus tuberculatus* (Brachyura: Portunidae). **Scientia Marina**, v. 54, p. 195–202, 1990.

ADAMS, D. C., ROHLF, F. J.; SLICE, D. E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the „revolution“. **Italian Journal of Zoology**, v. 71, p. 5-16, 2004.

AGRAWAL, A. A. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. **Science**, v. 294, p. 321-326, 2001.

AUFFRAY, J. C.; ALIBERT, P.; LATIEULE, C. Relative warp analysis of skull shape across the hybrid zone of the house mouse (*Mus musculus*) in Denmark. **Journal of Zoology**, v. 240, p. 441-455, 1996.

AYTEKIN, A. M.; TERZO, M.; RASMONT, P.; ÇAĞATAY, N. Landmark based geometric morphometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille). **Annales de la Société Entomologique de France**, v. 43, n. 1, p. 95-102, 2007.

BAETA, A.; CABRAL, H. N.; MARQUES, J. C.; PARDAL, M. A. Feeding ecology of the green crab, *Carcinus maenas* (L., 1758) in a temperate estuary, Portugal. **Crustaceana**, v. 79, n. 10, p. 1181-1193, 2006.

BEUKEMA, J. J. The abundance of shore crabs *Carcinus maenas* (L.) on a tidal flat in the Wadden Sea after cold and mild winters. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 153, p. 97-113, 1991

BOOKSTEIN, F. L. **Morphometric tools for landmark data: geometry and biology**. New York: Cambridge University Press, 1991. 435p.

CADRIN, S. X.; FRIEDLAND, K. D. The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification. **Fisheries Research**, v. 43, 129-139, 1999.

CADRIN, S. X. Advances in morphometric identification of fishery stocks. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 10, p. 91-112, 2000.

CALDECUTT, W. C.; ADAMS D. C. Morphometrics of trophic osteology in the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. **Copeia**, v. 4, p. 827-838, 1998.

CAVALCANTI, M. J.; MONTEIRO, L. R.; LOPES, P. R. D. Landmarks-based morphometric analysis in selected species of serranid fishes (Perciformes: Teleostei). **Zoological Studies**, v. 38, p. 287-294, 1999.

COHEN, A. N.; CARLTON, J. T.; FOUNTAIN, M. C. Introduction, dispersal, and potential impacts of the green crab *Carcinus maenas* in San Francisco Bay, California. **Marine Biology**, v. 122, p. 225-237, 1995.

CÔTÉ, I. M. Effects of predatory crab effluent on byssus production in mussels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.188, p. 233-241, 1995.

CROTHERS, J.H. The life of the adult crab. In: The biology of the shore crab, *Carcinus maenas* (L.). **Field Studies**, v. 2, p. 579-614. 1968

DARE, P.J.; EDWARDS, D.B. 1976. Experiments on the survival, growth, and yield of relaid seed mussels (*Mytilus edulis* L.) in the Menai Strait, North Wales. **J. Cons. Int. Explor. Mer.**, v. 37, p. 16-28, 1976.

EDGEELL, T.; ROCHETTE, R. Variable weapon strength of the invasive crab, *Carcinus maenas*, correlates to architectural defences of its gastropod prey in the Northwest Atlantic. In: **Sixth International Crustacean Congress**, 2005, Glasgow, Scotland, UK.

GELLER, J. B.; WALTON, E. D.; GROSHOLZ, E. D.; RUIZ, G. M. Cryptic invasions of the crab *Carcinus* detected by molecular phylogeography. **Molecular Ecology**, v. 6, p. 901-906, 1997.

GILLESPIE, J. H.; TURELLI, M. Genotype-environment interactions and the maintenance of polygenic variation. **Genetics**, v. 121, p. 129-138, 1989.

GILLESPIE, G. E.; PHILLIPS, A. C.; PALTZAT, D. L.; THERRIAULT, T.W. Status of the European green crab, *Carcinus maenas*, in British Columbia - 2006. **Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2700**, p. 46, 2007.

GOVIND, C. K.; BLUNDON, J. A. Form and function of the asymmetric chelae in blue crabs with normal and reversed handedness. **The Biological Bulletin**, v. 168, p. 321-331, 1985.

GROSHOLZ, E. D.; RUIZ, G. M. Predicting the impact of introduced marine species: Lessons from the multiple invasions of the European Green Crab *Carcinus maenas*. **Biological Conservation**, v. 78, p. 59-66, 1996.

GROSHOLZ, E.; RUIZ, G. **Management Plan for the European Green Crab**. Submitted to the Aquatic Nuisance Species Task Force. Green Crab Control Committee. Frederick Kern, Chair, 2002.

GULL, J. M.; HOOD, C. S.; HEINS, D. C. Body shape variation within and among three species of darters (Perciformes: Percidae). **Ecology of Freshwater Fish**, v. 12, p. 134-140, 2003.

HAYDEN, D.; JENNINGS, A.; MÜLLER, C.; PASCOE, D.; BUBLITZ, R.; WEBB, H.; BREITHAUPT, T.; WATKINS, L.; HARDEGE, J. Sex-specific mediation of foraging in the shore crab, *Carcinus maenas*. **Hormones and Behavior**, v. 52, p. 162–168, 2007.

HIDALGO, F. J.; BARON, P. J.; ORENSANZ, J. M. A prediction come true: the green crab invades the Patagonian coast. **Biological Invasions**, v. 7, n. 3, p. 547–552, 2005.

JENSEN, G. C.; McDONALD, P. S.; ARMSTRONG, D. A. 2002. East meets west: competitive interactions between green crab *Carcinus maenas*, and native and introduced shore crab *Hemigrapsus* spp. **Marine Ecology and Progress Series**, v. 225, p. 251–262.

JENSEN, G. C.; MCDONALD, P. S.; ARMSTRONG, D. A. Biotic resistance to green crab, *Carcinus maenas*, in California bays. **Marine Biology**, v. 151, p. 2231–2243, 2007..

JUANES, F.; HARTWICK, E. B. Prey size selection in Dungeness crabs: the effect of claw damage. **Ecology**, v. 71, p. 744–758, 1990.

JUANES, F.; LEE, K. T.; MCKNIGHT, A.; KELLOGG, K. Claw allometry in green crabs, *Carcinus maenas*: heterochely, handedness, and sex. **Marine Biology**, v. 153, p. 523–528, 2008.

KENDALL, D. G.. The statistics of shape. In: BARNETT, V. (ed.). **Interpreting Multivariate Data**. New York: Wiley, 1981. 75-80p.

KENDALL, D. G. Shape-manifolds, procrustean metrics and complex projective spaces. **Bulletin of the London Mathematical Society**, v. 16, p. 81-121, 1984.

KOPP, M.; TOLLRIAN, R. Reciprocal phenotypic plasticity in a predator–prey system: inducible offences against inducible defenses? **Ecology Letters**, v. 6, p. 742–748, 2003.

LADLE, R. J.; TODD, P. A. A developmental model for predicting handedness frequencies in crabs. **Acta Oecologica**, v. 30, p. 283–287, 2006.

LOY, A.; BUSILACCHI, S.; COSTA, C.; FERKIN, L.; CATAUDELLA, S. Comparing geometric morphometrics and outline fitting methods to monitor fish shape variability of *Diplodus puntazzo* (Teleostea: Sparidae). **Aquacultural Engineering**, v. 21, n. 4, p. 271–283, 2000.

LUPPI, T. A., SPIVAK, E. D., ANGER, K. Experimental studies on predation and cannibalism of the settlers of *Chasmagnathus granulata* and *Cyrtograpsus angulatus* (Brachyura: Grapsidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 265, p. 29–48, 2001.

MacDONALD, J. A.; ROUDEZ, R.; GLOVER, T.; WEIS, J. S. The invasive green crab and Japanese shore crab: behavioral interactions with a native crab species, the blue crab. **Biological Invasions**, v. 9, p. 837–848, 2007.

MARIAPPAN, P.; BALASUNDARAM, C. Cheliped laterality in the freshwater prawn *Macrobrachium nobilii* (Henderson and Matthai 1910). **Current Science**, v. 73, p. 875–877, 1997.

MARIAPPAN, P.; BALASUNDARAM, C.; SCHMITZ, B. Decapod crustacean chelipeds: an overview. **Journal of Biosciences**, v. 25, p. 301–313, 2000.

MARIN, J.; BELLAIL, R.; LATROUITE, D. Predation de l'huitre plate, *Ostrea edulis*, par le crab enrage, *Carcinus maenas*. **ICES**, C.M., K:11, 5, 1973.

MARKO, P. B.; PALMER, A. R. Responses of a rocky shore gastropod to the effluents of predatory and non-predatory crabs: avoidance and attraction. **The Biological Bulletin**, v. 181, p. 363-370, 1991.

McDONALD, P. S.; JENSEN, G. C.; ARMSTRONG, D. A. The competitive and predatory impacts of the nonindigenous crab *Carcinus maenas* (L.) on early benthic phase Dungeness crab *Cancer magister* Dana. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 258, p. 39–54, 2001.

MOKSNES, P. O.; PIHLL, L., VAN MONTFRANS, J. Predation on postlarvae and juveniles of the shore crab *Carcinus maenas*: importance of shelter, size and cannibalism. **Marine Ecology and Progress Series**, v. 166, p. 211-225, 1998.

MOKSNES, P. O. The relative importance of habitat-specific settlement, predation and juvenile dispersal for distribution and abundance of young juvenile shore crabs *Carcinus maenas* L. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 271, p. 41–73, 2002.

MORGAN, D.E.; GOODSSELL, J.; MATHIESSEN, G. C.; GAREY, J.; JACOBSON, P. Release of hatchery-reared bay scallops (*Argopecten irradians*) onto a shallow coastal bottom in Waterfor, Connecticut. **Proceedings of the Annual Meeting of the World Mariculture Society**, v. 11, p. 247-261, 1980.

NEUSTUPA, J.; ŠŤASTNÝ, J. The geometric morphometric study of Central European species of the genus *Micrasterias* (Zygnematophyceae, Viridiplantae). **Preslia**, v. 78, p. 253–263, 2006.

NG, P. K. L.; TAN, L. W. H. „Right handedness“ in the heterochelous calappoid and xanthoid crabs – suggestion for functional advantage. **Crustaceana**, v. 49, p. 98 – 100, 1985.

PARSONS, K. J.; ROBINSON, B. W.; HRBEK, T. Getting into Shape: An Empirical Comparison of Traditional Truss-Based Morphometric Methods with a Newer Geometric Method Applied to New World Cichlids. **Environmental Biology of Fishes**, v. 67, n. 4, p. 417-431, 2003.

PONTON, D. Is Geometric Morphometrics Efficient for Comparing Otolith Shape of Different Fish Species? **Journal of Morphology**, v. 267, p. 750-757, 2006.

PRESTON, S. J.; REVIE, I. C.; ORR, J. F.; ROBERTS, D. A comparison of strengths of gastropod shells with forces generated by potential crab predators. **Journal of Zoology**, v. 238, p. 181-193, 1996.

QUERINO, R. B.; MORAES, R. C. B. Relative warp analysis to study morphological variations in the genital capsule of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2, p. 217-224, 2002.

RIVA, J.; PONT, F.; MATIAS, A.; MOLLINEDO, S.; DUJARDIN, J. P. Wing geometry as a tool for studying the *Luzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) complex. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 1089-1094, 2001.

ROHLF, F. J.; MARCUS, L. F. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 8, p.129-132, 1993.

ROHLF, F. J.; SLICE, D. Extension of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. **Systematic Zoology**, v. 39, p. 40-59, 1990.

ROHLF, F. J. On the use of shape spaces to compare morphometric methods. **Hystrix**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 1999.

ROHLF, F. J. **TpsDig, version 1.40**. Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. 2004a.

ROHLF, F. J. **TpsUtil, version 1.29**. Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. 2004b.

ROHLF, F. J. **TpsRelw: relative warps analysis, version 1.39**. Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. 2004c.

ROSENBERG, M. S. Evolution of shape differences between the major and minor chelipeds of *Uca pugnax* (Decapoda: Ocypodidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 17, p. 52-59, 1997.

ROSENBERG, M. S. Fiddler crab claw shape variation: a geometric morphometric analysis across the genus *Uca* (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 75, n. 2, p. 147-162, 2002.

ROTJAN, R. D.; BLUM, J.; LEWIS, S. M. Shell choice in *Pagurus longicarpus* hermit crabs: does predation threat influence shell selection behavior? **Behaviour Ecology and Sociobiology**, v. 56, p. 171–176, 2004.

RÜBER, L.; ADAMS, D. C. Evolutionary convergence of body shape and trophic morphology in cichlids from Lake Tanganyika. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 14, p. 325-332, 2001.

SARÁ, M.; FAVALORO, E.; MAZZOLA, A. Comparative morphometrics of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo* Cetti 1777), reared in different conditions. **Aquacultural Engineering**, v. 19, n. 3, p. 195 – 209, 1999.

SEED, R.; HUGHES, R. N. Criteria for prey size-selection in molluscivorous crabs with contrasting claw morphologies. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 193, p. 177–195, 1995.

SEELEY, R. H. Intense natural selection caused a rapid morphological transition in a living marine snail. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, p. 6897-6901, 1986.

SMITH, L. D.; PALMER, A. R. Effects of manipulated diet on size and performance of brachyuran crab claws. **Science**, v. 264, p. 710-712, 1994.

SMITH, L. D.; JENNINGS, J. A. Induced defensive responses by the bivalve *Mytilus edulis* to predators with different attack modes. **Marine Biology**, v. 136, p. 461-469, 2000.

SMITH, L. D. Biogeographic differences in claw size and performance in an introduced crab predator *Carcinus maenas*. **Marine Ecology and Progress Series**, v. 276, p. 209–222, 2004.

SMITH, L. D.; BALDRIDGE, A. K. Are introduced crabs and native snails engaged in an ecological arms race? In: **Sixth International Crustacean Congress**, 2005, Glasgow, Scotland, UK.

SNEATH, P. H. A. Trend-surface analysis of transformation grids. **Journal of Zoology**, v. 151, p. 65-122, 1967.

SNYDER, C. **The impact of the European Green Crab (*Carcinus maenas*) on the restoration of the Olympia Oyster (*Ostrea lurida*) in Tomales Bay, California.** Master of Environmental Management - Nicholas School of the Environment and Earth Sciences, Duke University, 2004.

TAYLOR, G. M. Maximum force production: why are crabs so strong? **Proceedings of the Royal Society London B**, v. 267, p. 1475–1480, 2000.

TOLLRIAN, R.; HARVELL, C. D. **The evolution of inducible defenses: current ideas.** In: TOLLRIAN, R.; HARVELL, C. D. (eds.). *The Ecology and Evolution of Inducible Defenses*. New Jersey: Princeton University Press, 306 – 321, 1999.

TRUSSEL, G. C. Phenotypic clines, plasticity, and morphological trade-offs in an intertidal snail. **Evolution**, v. 54, p. 151-166, 2000a.

TRUSSELL, G. C. Predator-induced plasticity and morphological trade-offs in latitudinally separated populations of *Littorina obtusata*. **Evolutionary Ecology Research**, v. 2, p. 803-822, 2000b.

TRUSSELL, G. C.; SMITH, L. D. Induced defenses in response to an invading crab predator: An explanation of historical and geographic phenotypic change. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 5, p. 2123-2127, 2000.

TRUSSELL, G. C.; ETTER, R. J. Integrating genetic and environmental forces that shape the evolution of geographic variation in a marine snail. **Genetica**, v. 112–113, p. 321–337, 2001.

VERMEIJ, G.J. Phenotypic evolution in a poorly dispersing snail after arrival of a predator. **Nature**, v. 299, p. 349-50, 1982.

VERMEIJ, G. J. **Shell-breaking predation through time.** In: TEVESZ, M. J. S; MCCALL, P. L. (eds). Biotic interactions in recent and fossil benthic communities. New York: Plenum Publishing Corp, 649-669, 1983.

VILELA, H. 1950. **Vida bentônica de *Tapes decussatus* (L.).** Travaux de la Station de Biologie Maritime de Lisbonne, 120pp.

WALNE, P.R. **The growth of relaid American hard clams (quahogs) in England and Wales.** Shellfish Inf. Leafl., Fisheries Research Technical Report #16. Ministry of Agriculture, Fisheries, and Food, U.K, 1970. 8pp

WALTON, W. C.; MACKINNON, C.; RODRIGUEZ, L. F.; PROCTOR, C.; RUIZ, G. M. Effect of an invasive crab upon a marine fishery: green crab, *Carcinus maenas*, predation upon a venerid clam, *Katelysia scalarina*, in Tasmania (Australia). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 272, p. 171-189, 2002

WARNER, G. F.; CHAPMAN, D.; HAWKEY, N.; WARING, D. G. Structure and function of the chela and closer muscles of the shore crab *Carcinus maenas* (Crustacea: Brachyura). **Journal of Zoology London**, v. 196, p. 431 – 438, 1982.

WHITLOW, W. L.; RICE, N. A.; SWEENEY, C. Native species vulnerability to introduced predators: testing an inducible defense and a refuge from predation. **Biological Invasions**, v. 5, p. 23–31, 2003.

WILLIAMS, A.B. **Shrimps, lobsters, and crabs of the Atlantic coast of the Eastern United States, Maine to Florida.** Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 1984. 550p.

WOLCOTT, D. L.; WOLCOTT, T. G. Food quality and cannibalism in the red land crab, *Gecarcinus lateralis*. **Physiological Zoology**, v. 57, p. 318–324, 1984.

YAMADA, S.B. **Global Invader: The European Green Crab**. Oregon State University: Oregon Sea Grant, 2001. 140 p.

ZELDITCH, M.; SWIDERSKI, D.; SHEETS, D. H.; FINK, W. **Geometric Morphometrics for Biologists: A primer**. New York: Elsevier Academic Press, 2004. 443 p.