

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" INSTITUTO

DE BIOCÊNCIAS – CAMPUS DE BOTUCATU

Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia)

**O controle térmico nos caranguejos chama-maré: as estruturas
sedimentares e a coloração podem auxiliar na termorregulação?**

Bruno Rafael Fogo

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” INSTITUTO
DE BIOCÊNCIAS – CAMPUS DE BOTUCATU
Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia)

**O controle térmico nos caranguejos chama-maré: as estruturas
sedimentares e a coloração podem auxiliar na termorregulação?**

Bruno Rafael Fogo

Orientador: Prof. Dra. Tânia Márcia Costa

Co-Orientador: Dr. Fábio Henrique Carretero Sanches

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – Área de concentração *Zoologia*.

**BOTUCATU – SP
2019**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Fogo, Bruno Rafael.

O controle térmico nos caranguejos chama-maré : as estruturas sedimentares e a coloração podem auxiliar na termorregulação? / Bruno Rafael Fogo. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Tânia Márcia Costa

Coorientador: Fábio Henrique Carretero Sanches

Capes: 20400004

1. Braquiúros. 2. Caranguejo. 3. Temperatura corporal - Regulação. 4. Ciências da vida.

Palavras-chave: Cúpulas; Limitações térmicas; Mudança de cor; Organismos ectotérmicos; Temperatura corporal.

Dedico este trabalho a minha mãe Maria Bernadete T.P. Fogo, ao meu pai Erédio D. Fogo e a minha irmã Erica M. Fogo. Razões da minha vida e luta diária.

Agradecimentos

Minha dissertação é o resultado de uma idealização em conjunto. Gostaria de deixar os meus mais sinceros agradecimentos aos meus colegas de profissão que me ajudaram a moldar a ideia e desenvolver este trabalho. Obrigado Fábio H. C. Sanches, Pedro J. Jimenez e Juan C. F. Pardo.

Agradeço aos meus pais, por todo amor, incentivo e suporte financeiro durante minha trajetória na graduação e no mestrado. Maria Bernadete e Erédio obrigado por acreditarem em mim. Amo vocês.

Agradeço a minha mentora, Profa. Dra. Tânia M. Costa. Obrigado pelos ensinamentos, pelas saídas de campo, e principalmente pela paciência, dedicação e amor aos crustáceos. A senhora lhe devo minha gratidão eterna.

O meu Co-Orientador Fábio H.C. Sanches por todo apoio científico, e compartilhar do amor ao “Comportamento Animal”. Obrigado por acompanhar minha trajetória na graduação e no mestrado. Obrigado pelo carinho, pela amizade e conselhos.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Biociências de São Vicente, pelo suporte e estrutura para a elaboração da dissertação. Além disso, quero agradecer o Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) de Botucatu e ao Davi por toda ajuda fornecida.

Aos meus queridos amigos do “Laboratório de Ecologia e Comportamento Animal” – LABECOM, Unesp, São Vicente, gostaria de agradecer por toda ajuda em campo. De vocês levarei comigo as lembranças na Barra do Una, Rio Verde, Itaguaré e Portinho. Obrigado por toda bagagem científica, pelas risadas e cervejas. Obrigado pela amizade.

A minha companheira Caroline F. B. Rodrigues, uma das melhores coisas que a universidade me trouxe. Agradeço pela ajuda nas coletas, pela motivação no dia a dia e cumplicidade. O seu amor e sua amizade foram cruciais para a finalização deste trabalho.

Agradeço a minha família vicentina, especialmente a república PQP e ao Azilo. Obrigado a cada um pela singularidade pessoal, pela vivência, pelos conselhos e pelo amor. Levo de vocês (do Café e do Manolo) um pedacinho para a eternidade.

Aos meus queridos amigos de infância, do colegial e da universidade (em especial da Turma XI). Obrigado pelo carinho e pelo imenso apoio. É um prazer compartilhar minha vida com vocês.

Aos membros da banca, Doutores Glauco Barreto de Oliveira Machado e Rafael Campos Duarte, por aceitarem o convite de avaliar minha dissertação.

Agradeço a todos os cientistas pela luta diária. Apesar dos dias sombrios que inflamam nossa Pátria não desistiremos da educação e do conhecimento científico. A vocês todos eu desejo força e resistência neste atual governo.

Sumário

Resumo	7
Introdução	8
2. Material e métodos.....	12
2.1 Local de estudo	12
2.2 Contagem de tocas com cúpulas e do número de novas tocas escavadas	13
2.3 Mensuração da temperatura das camadas internas das tocas e temperatura corporal dos machos de <i>L. leptodactyla</i>	13
2.4 Método para a análise digital de imagens	14
2.5 Taxa de aquecimento sob a radiação solar	15
2.6 Filmagem do comportamento dos machos de <i>L. leptodactyla</i>	17
2.6.1 Comportamentos observados	17
3. Análise de dados	18
3.1 Análise da contagem de tocas com cúpulas e do número de novas tocas escavadas	18
3.2 Análise da mensuração da temperatura das camadas internas das tocas e temperatura corporal dos machos de <i>L. leptodactyla</i>	18
3.3 Análises das métricas dos componentes RGB	19
3.4 Análise da taxa de aquecimento sob a radiação solar	22
3.4.1 Análise da temperatura corporal dos machos de <i>L. leptodactyla</i> na taxa de aquecimento.....	22
3.4.2 Análise das métricas de imagem dos machos de <i>L. leptodactyla</i> na taxa de aquecimento	22
3.5 Filmagens.....	22
3.5.1 Análise do comportamento dos machos de <i>L. leptodactyla</i>	22
3.5.2 Análise das métricas de imagem das filmagens	23
3.5.3 Análise da temperatura corporal dos machos das filmagens.....	23
4. Resultados.....	23
4.1 Contagem de tocas com cúpulas e do número de novas tocas escavadas	23
4.2 Mensuração da temperatura das camadas internas das tocas e temperatura corporal dos machos de <i>L. leptodactyla</i>	25
4.3 Métricas dos componentes RGB.....	27
4.4 Taxa de aquecimento sob a radiação solar	30
4.4.1 Temperatura corporal dos machos de <i>L. leptodactyla</i> na taxa de aquecimento	30
4.4.2 Métricas de imagem dos machos de <i>L. leptodactyla</i> na taxa de aquecimento	31
4.5 Filmagens.....	32
4.5.1 Comportamento dos machos de <i>L. leptodactyla</i>	32
4.5.2 Métricas de imagem das filmagens	35
4.5.3 Temperatura corporal dos machos das filmagens	36
5. Discussão	36
5.1 Construção de cúpulas, temperatura interna das tocas, termorregulação corporal e comportamento dos machos de <i>L. leptodactyla</i>	36
5.2 Mudanças de cor de machos com e sem cúpulas e a relação com a temperatura.....	39
5.3 Conclusão.....	41
6.Referências	43

Resumo

Os caranguejos chama-maré fazem parte de uma complexa rede de interações comportamentais. Os machos utilizam de múltiplos sinais para corte e atração de fêmeas ou para interações agonísticas com outros machos. Entre estes, estão a construção de estruturas sedimentares e mudanças na coloração corporal. Embora estudos tenham mostrado as funções comportamentais destes sinais, pouco se sabe de seus efeitos em resposta aos fatores ambientais, como por exemplo, a temperatura. Nós investigamos se a coloração, ou as estruturas sedimentares, as “cúpulas”, construídas pelos machos de *Leptuca leptodactyla* podem auxiliar na termorregulação. Em campo, a contagem de cúpulas, a temperatura das camadas internas das tocas, a temperatura corporal e o comportamento dos machos construtores e não construtores de cúpulas foram avaliados, assim como a taxa de aquecimento dos machos de diferentes padrões de cor sob a radiação incidente. Através da análise digital de imagens, diferentes métricas de cor foram utilizadas para quantificar como a coloração dos caranguejos altera de acordo com a temperatura corporal, ou entre construtores e não construtores de cúpulas. As cúpulas foram diretamente relacionadas com o aumento da temperatura do solo. As tocas com cúpulas apresentaram temperaturas mais amenas nas camadas superficiais (até 20 mm) do que as tocas sem cúpulas. Em relação a coloração, machos construtores tiveram menos tons de verde e maior brilho (%) em suas carapaças, enquanto apresentaram quelípodos mais ricos em cor (mais saturados), se comparado aos machos não construtores. A saturação da carapaça e do quelípodo variaram de acordo com a temperatura do corpo. Os comportamentos sob a superfície e abaixo dela também diferiram entre construtores e não construtores. Os machos com cúpulas de nossas filmagens apresentaram uma maior redução percentual da temperatura corporal do que os machos sem cúpula. Tais machos tiveram maior brilho e menor saturação em suas carapaças, indicando uma relação da coloração com a termorregulação. Além disso, no experimento de aquecimento sob a radiação incidente, os machos com carapaças mais saturadas (mais escuros) aqueceram mais rápido e tiveram maior temperatura corporal do que os machos carapaças menos saturadas (mais claros). Novamente, a saturação se mostrou um importante preditor da temperatura corporal entre machos de diferentes padrões de cor. Nosso conjunto de resultados evidenciam um efeito integrativo da cúpula e da coloração na diminuição da temperatura corporal dos machos construtores. As cúpulas e a coloração dos machos de *L. leptodactyla* podem ter evoluído para elucidar importantes funções comportamentais e fisiológicas sob a superfície. O efeito sinérgico destes dois atributos expressados pelos machos de *L. leptodactyla*, podem propiciar proteção contra o superaquecimento, maior tempo de atividade sob o solo e garantir a sobrevivência desses organismos ectotérmicos em ambientes de pouca vegetação e alta incidência solar.

Palavras chaves: *Leptuca leptodactyla*, cúpulas, mudança de cor, temperatura corporal, limitações térmicas, organismos ectotérmicos.

Introdução

Animais possuem atributos muitas vezes expressados na forma de traços exagerados, armamentos ou ornamentos (Johnstone 1995; Berglund et al. 1996; McGraw et al. 2005; Bortolotti et al. 2009). Estes atributos podem ser ornamentos corpóreos, que são atributos intrínsecos ao organismo, como coloração, traços morfológicos extravagantes, sendo muitas vezes dispendiosos de mantê-los (McGraw et al. 2005; Bortolotti et al. 2009), ou não corpóreos, considerados qualquer característica resultante da manipulação ou comportamento de construção de um organismo (Dawkins 1982; Schaedelin & Taborsky 2009). Por outro lado, o investimento em tais características deve ser compensado pelo aumento do sucesso reprodutivo, ou garantir benefícios fisiológicos que permitem a sobrevivência do indivíduo (Laland et al. 2014). A forma e o grau que esses atributos serão modelados dependem tanto da seleção natural como sexual.

Diversos animais constroem estruturas, as quais podemos chamar de ornamentos não corporais. Estas estruturas físicas, quando manifestadas, podem alterar de maneira direta e indireta o ambiente ao entorno (Bailey 2012; Turner 2000). Como exemplo, as barragens construídas por castores, galhas nas folhas causadas pela deposição de ovos de insetos, teias de aranhas, colmeias de abelhas e ninhos decorados de pássaros, são consideradas “fenótipos estendidos” (Dawkins 1982; Stone & Cook 1998; Turner 2000). No nível espacial, estruturas construídas diferem em princípio de sinais comportamentais ou ornamentos corporais, uma vez que elas podem ser desacopladas do seu portador (Schaedelin & Taborsky 2009). Elas podem proporcionar o aumento da eficácia dos sinais transmitidos, aumentando a aptidão (“*fitness*”) do seu portador, além de fornecer informações importantes a um receptor por um longo período de tempo, e mesmo na ausência de seu construtor (Dawkins 1982; Schaedelin & Taborsky 2009; Bailey 2012).

A arquitetura destas estruturas também pode efetivamente funcionar como uma extensão da fisiologia animal, criando microclimas adequados para a sobrevivência dos organismos, através da regulação de fatores abióticos do ambiente (Laland et al. 2014; Turner 2000). Como exemplo, acima das galerias subterrâneas, os cupins constroem massivos montes de terra, os quais possuem elaboradas redes de galerias e que culminam em poros microscópicos na superfície do monte (Laland et al. 2014). Estas estruturas dinâmicas fornecem demandas de água, controle de temperatura e trocas gasosas com o ambiente externo, agindo como um “pulmão” para a colônia (Laland et al. 2014; Noirot & Darlington 2000). Os pavimentos de esterco que cercam os ninhos construídos por fêmeas de cotovia negra (*Melanocorypha yeltoniensis*) atuam como um amortecedor termal (“*buffer*”), abaixando a temperatura do ninho durante os períodos de calor extremo e aumentando a temperatura durante as noites frias (Pulikova et al. 2015). Como resultado, as fêmeas são capazes de forragear por um longo período de tempo sem que seus filhotes fiquem muito quentes ou muito frios na ausência de proteção (Pulikova et al. 2015). Portanto, as diferentes

estruturas construídas pelos animais podem funcionar como uma interface homeostática entre o organismo e seu habitat, e desencadear respostas adaptativas subsequentes (Laland et al. 2014).

Outro atributo muito utilizado para sinalização, principalmente nos sistemas visuais, é a coloração dos animais. Existe uma grande variação em padrões de coloração nos organismos, sendo estas variações notavelmente vistas nas plumagens de aves (Simpson & McGraw 2018), no abdômen dos lagartos (Marshall & Stevens 2014; Smith et al. 2016), no dorso dos anfíbios (Kang et al. 2016; Polo-Cavia & Gomez-Mestre 2017), asas de insetos (Cook et al. 1994) e carapaça dos crustáceos (Stevens et al. 2014a; Caro 2018). A seleção, expressão e investimento em tais características polimórficas podem estar relacionadas com traços fisiológicos ou estratégias de vida como consequência a diferentes pressões seletivas impostas ao organismo (McDiarmid et al. 2017).

A cor pode variar entre indivíduos de uma mesma população, e ser alterada estrategicamente em diferentes escalas de tempo para servir a propostas específicas (Cuthill et al. 2017; Caro 2018). Além disso, indivíduos podem utilizar variadas colorações em diferentes partes do corpo para sinalizar múltiplas informações, particularmente camuflagem, comunicação e/ou termorregulação (Smith et al. 2016). Por exemplo, lagartos de Erhard (*Podarcis erhardii*) possuem uma coloração dorsal críptica que reduz a predação sob a visão de aves, enquanto apresentam uma coloração ventral conspícua (no canal UV), utilizada para transmissão de sinais sexuais para fêmeas (Marshall & Stevens 2014). Por outro lado, um único padrão de coloração pode experienciar múltiplas respostas, e às vezes funções opostas, dadas às pressões seletivas (Cuthill et al. 2017). Neste caso, muitos ovos de aves apresentam uma coloração que varia de verde a azul, adquirida predominantemente pela deposição do pigmento biliverdina, que bloqueia a luz UV, prejudicial aos embriões. Porém, tal coloração pode aumentar o superaquecimento causado pela absorção térmica (Lahti & Ardia 2016). Deste modo, torna-se essencial testar a relativa importância destas funções de modo integrativo, e de que maneira a mudança de cor nas espécies acomodam estas diferentes funções, levando em conta os processos bióticos e abióticos da natureza (Smith et al. 2016).

Os caranguejos chama-maré – subfamília Gelasiminae (Shih et al. 2016) são exemplos de organismos que podem usar um ou múltiplos atributos para fornecer informações. Estudos têm mostrado que os atributos utilizados por esses caranguejos fornecem valiosas informações sobre a qualidade do transmissor, principalmente na seleção sexual (Christy et al. 2001; Christy 2002; Detto 2007). A escolha sexual faz parte de uma complexa rede de interações entre macho-macho e macho-fêmea. Durante os picos reprodutivos, as fêmeas receptivas andam através da população e visitam vários machos antes de escolher um parceiro para reproduzir (DeRivera 2005; Reaney & Backwell 2007). Os machos, por sua vez, utilizam múltiplos sinais para corte e atração de

fêmeas, ou para interações agonísticas com outros machos (Mowles et al. 2017; Takeshita et al. 2018). Entre eles estão a construção de estruturas sedimentares (Christy 2002; Christy & Backwell 2006; Kim et al. 2017) e a grande variação entre os padrões de cor dos indivíduos (Detto et al. 2008; Silbiger & Munguia 2008) dentro de cada espécie. Neste contexto, foi mostrado que o comportamento de construção de estruturas sedimentares acima da superfície podem estar associados com: defesa da toca (Crane, 1975; Slatyer et al. 2008; Wada & Murata, 2000), atração de fêmeas (Christy et al. 2001; Christy 2002), proteção contra predadores (Christy 1988; Kim et al. 2007; Zhu et al. 2012), entre outras funções. Já as mudanças de cor dos caranguejos possuem valor na seleção sexual (Detto 2007; Detto & Backwell 2009), camuflagem (Hemmi et al. 2006) e termorregulação (Silbiger & Munguia 2008; Kronstadt et al. 2013).

Os machos da espécie *Leptuca leptodactyla* são um exemplo de organismos que são capazes de construir estruturas sedimentares e mudar de cor. Durante os meses quentes (Setembro – Março), eles constroem estruturas sedimentares chamadas de “cúpulas”, acima da entrada de suas tocas. Tal comportamento é associado ao período reprodutivo, devido a sincronização com a ocorrência de fêmeas ovígeras (Masunari 2012), e apresenta efeitos comportamentais, como atração de fêmeas e competição entre machos – sendo um sinal multissensorial (De O. Rodrigues et al. 2016). Além disso, os machos podem alterar sua coloração. Durante o período reprodutivo, os machos de *L. leptodactyla* são capazes de esbranquiçar suas carapaças, frequentemente estendendo o branqueamento até os pereópodos (Crane 1975). Os machos construtores de cúpulas possuem coloração da carapaça mais clara, muitas vezes ficando totalmente branca (Figura 1A e B), enquanto em machos não construtores, a cor precede escurecendo em tons de verde pálido/vermelho e marrom (Figura 1C e D – observação pessoal).

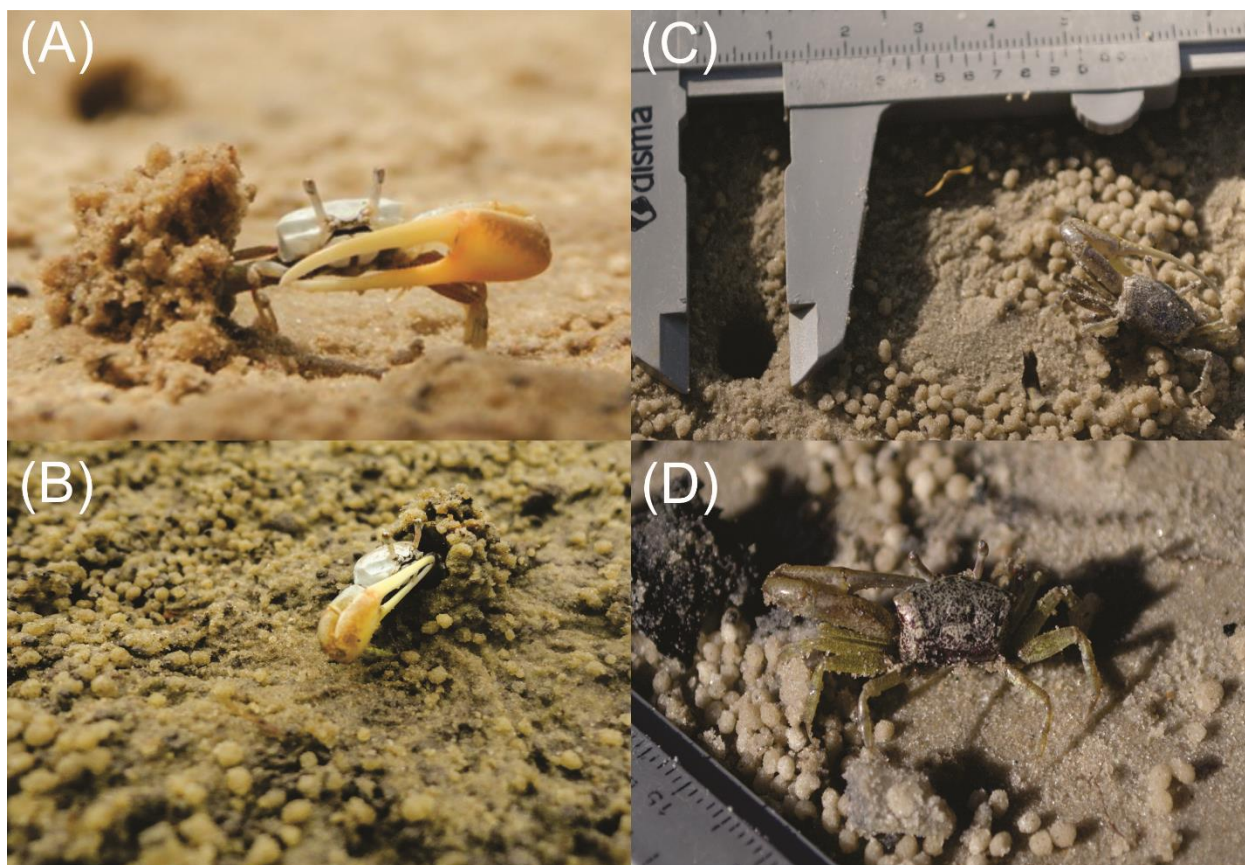


Figura 1 – Machos de *Leptuca leptodactyla* com cúpus (A e B) e sem cúpus (C e D). Foto (A) gentilmente cedida por Renan R. de Carvalho.

Esta espécie vive em bancos arenosos expostos e sem vegetação, onde os caranguejos são limitados pelas condições térmicas do ambiente em que vivem e lidam com o risco de desidratação e superaquecimento (Allen et al. 2012; Munguia et al. 2017). No verão, a temperatura do sedimento pode chegar a 49 °C (Observação pessoal). Cada macho residente defende uma toca central, e regularmente entra na toca para diminuir a temperatura corporal e acessar/absorver água para hidratação corpórea (Munguia et al. 2017). A limitação do período de atividade devido ao uso do refúgio normalmente impõe custos a aptidão do macho (Reaney & Backwell 2007), uma vez que as atividades mais importantes ocorrem na superfície (ex: corte para atração de fêmeas e alimentação). Além disso, a construção das cúpus e a mudança de cor dos machos de *L. leptodactyla* envolve tempo e energia, e pode implicar em custos metabólicos e fisiológicos, como: diminuição nos níveis de glicose, ou consumo de oxigênio, como visto em outros organismos (Matsumasa et al. 2013; Polo-Cavia & Gomez-Mestre 2017). Apesar de tais limitações, a maioria dos machos constroem as estruturas sedimentares e ficam mais brancos no período reprodutivo. Embora as questões sociais das estruturas sedimentares e o papel termorregulatório da cor já serem bem explorados, neste último caso, principalmente em experimentos laboratoriais, abordagens de como esses traços são modulados pela temperatura natural do ambiente ainda são escassos. De fato, é muito provável que a temperatura possa impactar na produção de tais sinalizações e

consequentemente desempenho fisiológico de seus portadores (ex: redução do stress termal), tornando-se crítico o entendimento da relação entre comportamento e temperatura. Talvez o efeito integrativo, e/ou convergência destes dois sinais comportamentais (cúpula *plus* coloração branca) poderiam aumentar o efeito da termorregulação nos machos de *L. leptodactyla* construtores de cúpulas, em relação aos machos sem cúpulas.

Neste cenário de múltiplos sinais utilizados pelos caranguejos chama-maré, o objetivo deste trabalho foi investigar se as estruturas sedimentares “cúpulas” e/ou se as métricas de cor (matiz, brilho e saturação) desempenham papel na termorregulação dos machos de *L. leptodactyla*. Nossas hipóteses são; (i) que o aparecimento de novas cúpulas possa ser positivamente correlacionado com o aumento da temperatura do ambiente; (ii) as tocas com cúpulas apresentam temperaturas mais amenas em suas camadas internas, e que estas possam ter vínculo com a diminuição da temperatura corporal de seus construtores; (iii) os machos construtores de cúpulas apresentam padrões de cor mais claros que os machos não construtores, e os machos em geral, devem tornar-se mais brancos com a elevação da temperatura do habitat. Além disso, (iv) os machos com carapaças mais brancas devem possuir menor temperatura corporal que os machos de carapaças mais escuras; (v) e os machos construtores de cúpulas e brancos (cúpula *plus* coloração branca) devem ficar mais tempo em atividades comportamentais sob a superfície (maior tempo de exposição e cortejo) e menos tempo abaixo da superfície (ex: menos tempo dentro da toca) se comparado aos machos não construtores.

2. Material e métodos

2.1 Local de estudo

O estudo foi conduzido no litoral sul de São Paulo, estuário do Portinho, município de Praia Grande, entre os dias: 19, 21 e 22 de Dezembro/2018 e 19, 20, 21 e 22 Janeiro/2019. Este estuário é cercado por florestas de mangue, e regido por um sistema de marés semi-diurnas, que podem alcançar até 1,5 metros de altura (De Grande et al. 2018). Nestes manguezais, associados ao sedimento, vivem comumente várias espécies de caranguejos chama-maré, tais como: *Uca maracoani*, *Minuca rapax*, *Leptuca thayeri*, *L. uruguayensis*, *L. cumulanta* e o *L. leptodactyla*, sendo esta última utilizada como espécie modelo neste estudo. As populações de *L. leptodactyla* são predominantes em áreas sem cobertura vegetal e de substrato arenoso (Melo, 1996). Deste modo, o local escolhido foi um banco arenoso ($\pm 150 \text{ m}^2$; 23°59'16.92"S, 46°24'29.85"O) semi-vegetado, área onde espécies de caranguejos chama-maré parcialmente se sobrepõem, porém com a predominância de *L. leptodactyla*. Nesta área, a densidade de machos e fêmeas de *L. leptodactyla* foi amostrada através do lançamento aleatório de quadrados de 70 cm x 70 cm (N = 10). Dentro de cada quadrado, as tocas foram escavadas e os indivíduos identificados quanto a espécie e sexo.

A densidade média de machos amostrada foi de 23 ± 12 indivíduos por m^2 e fêmeas de 15 ± 5 indivíduos por m^2 .

2.2 Contagem de tocas com cúpulas e do número de novas tocas escavadas

A proposta deste experimento foi avaliar se existe uma relação da construção das estruturas sedimentares com a oscilação da temperatura da superfície. Para tal, nós contabilizamos o número de cúpulas durante os sete dias de coleta. Se existir uma relação entre o aumento da temperatura da superfície com o aumento do número de cúpulas, a construção das estruturas sedimentares poderia estar associada como um possível mecanismos de termorregulação para os machos de *L. leptodactyla* – hipótese (i).

No início das coletas ($\pm 9:00h$), três quadrados de 30 cm x 30 cm foram lançados aleatoriamente no banco arenoso, ± 10 metros distante da área de amostragem da mensuração da temperatura das camadas internas das tocas (especificado no item 2.3). Dentro de cada quadrado, o número “total de tocas” ($NT_{inicial}$) e o número de “tocas com cúpulas” ($CC_{inicial}$) foi registrado. Ao final das coletas ($\pm 12:00h$), o mesmo procedimento de contagem de tocas (NT_{final} e CC_{final}) foi repetido dentro dos mesmos quadrados. A temperatura da superfície e o índice de luminosidade inicial e final também foram amostradas na região central de cada quadrado.

2.3 Mensuração da temperatura das camadas internas das tocas e temperatura corporal dos machos de *L. leptodactyla*

O objetivo deste experimento foi avaliar se as cúpulas podem diminuir as temperaturas das camadas internas das tocas. Se as cúpulas possuem função de termorregulação, então as temperaturas das camadas internas das tocas devem ser menores do que as tocas sem cúpulas, e consequentemente, os machos construtores também devem apresentar menores temperaturas corporais – hipótese (ii).

Durante as marés baixas de sizígia, tocas com ($N = 75$) e sem cúpulas ($N = 81$) de machos de *L. leptodactyla* ativos na superfície foram aleatoriamente identificadas e mensuradas quanto a sua temperatura interna. As tocas foram amostradas das 9:00h às 12:00h, horários considerados os mais quentes durante o período da coleta. Nós tentamos amostrar tocas somente de machos adultos, padronizando uma faixa de tamanho entre 8 – 10 mm de largura de carapaça. Após a seleção da toca, o índice de luminosidade do ambiente foi medido com um luxímetro (marca/modelo: testo - 540), o qual foi posicionado no chão, paralelo a toca. Esta medida de luminosidade nos permitiu caracterizar o índice de luz visível que incidia diretamente em cada toca. Posteriormente,

utilizando um termômetro digital (marca/modelo: Lutron TM - 946 ± 0.1 °C de precisão) acoplado a um termosensor flexível, as temperaturas internas das tocas foram mensuradas em 4 camadas distintas. A temperatura da entrada da toca (0 mm) foi mensurada simultaneamente com a temperatura da superfície do solo próximo a toca (± 5 cm), que é diretamente exposta às condições ambientais. Então, as temperaturas internas foram medidas, seguindo as marcações das profundidades (20 mm, 40 mm e 80 mm) indicadas no termosensor. As profundidades escolhidas foram baseadas na profundidade média das tocas (74.26 ± 18.93 mm; média $\pm$ desvio padrão) para esta espécie (Machado et al. 2013). Ao final deste processo, o diâmetro das tocas foi medido. Em seguida, as tocas foram escavadas, os machos capturados, e a temperatura corporal foi mensurada pelo termosensor, que foi inserido entre a região que limita a carapaça e o abdômen, logo após o último par de pereópodes. As mensurações das temperaturas internas ocorreram com os machos dentro das tocas. Todo processo de mensuração ocorreu em menos de 15 segundos. Qualquer erro substancial nas medições de temperatura corporal ocasionados pelo tempo de permanência dos machos dentro das tocas ou pela manipulação dos indivíduos foram considerados os mesmos entre os grupos. Posteriormente, a largura da carapaça e o comprimento do quelípodo hipertrofiado foram medidos (em mm) com um paquímetro, e os machos condicionados em recipientes plásticos brancos individualizados por ± 60 segundos antes da seção de fotos das métricas de análise de imagem.

2.4 Método para a análise digital de imagens

O objetivo deste método foi avaliar se a coloração dos machos com cúpulas difere dos machos sem cúpulas, e se os padrões de cor dos machos em geral são alterados de acordo com a temperatura do habitat. Se os machos com cúpulas são mais claros que os machos sem cúpulas, e os machos em geral, ficam mais claros com a elevação da temperatura do habitat, então, os padrões de cor podem exercer efeito substancial na temperatura corporal – hipótese (iii). Para tal, as métricas de cor de cada espécime foram mensuradas através de uma análise digital de imagens, um método não invasivo e com um vasto potencial para diferentes abordagens de análise de padrão de cores (Troschianko & Stevens 2015). Desse modo, os machos tiveram a carapaça seca, a fim de evitar qualquer reflexão especular da carapaça, e foram colocados em um copo de pvc, com fundo artificial de cor cinza. Em seguida, os caranguejos foram fotografados quanto a coloração da carapaça e do quelípodo. As fotos foram feitas através de uma câmera Nikon D5100, utilizando a lente Nikon DX AF-S NIKKOR 18-55mm 1:3.5-5.6G. Todas as fotografias foram tiradas sob mesma configuração da câmera, previamente ajustadas (velocidade do obturador 1/25, f 8.0, ISO 400, e formato RAW). A luz natural do ambiente foi controlada através de uma sombra difusora,

permitindo que todas as fotos fossem tiradas em uma mesma condição de luz em campo. Um cartão de refletância conhecida (cinza 18%) foi utilizado como padrão, para corrigir as respostas dos canais RGB em conformidade com a adaptação cromática do sistema visual do ambiente (Troschianko & Stevens 2015). Todas as amostragens foram feitas entre as 9:00h – 12:00h, a fim de padronizar variações de cor devido ao ritmo circadiano (Darnell 2012). Após as fotografias, os indivíduos foram devolvidos ao habitat.

2.5 Taxa de aquecimento sob a radiação solar

Este experimento teve como propósito investigar o efeito da coloração da carapaça dos machos de *L. leptodactyla* de diferentes padrões de cor na taxa de aquecimento corporal sob a radiação solar incidente. Se cores mais claras podem garantir menor absorção de radiação solar, então nós esperamos que os machos brancos tenham menor temperatura corporal dos que os machos escuros – hipótese (iv).

A temperatura corporal dos machos de *L. leptodactyla* com diferentes padrões de cor foi medida empiricamente sob a luz solar natural. As amostragens foram conduzidas entre os dias 14 e 15 de Junho de 2019, entre as 9:00h – 12:00h. Neste experimento foram utilizados somente machos sem cúpulas, uma vez que o objetivo foi caracterizar o efeito da cor independente da construção ou não de estruturas sedimentares. Em campo, nós selecionamos dois padrões de cor (condizentes no espectro de luz visível); um grupo de caranguejos possuindo um tipo cromático mais **claro** (N = 12) – variando em tons de branco, bege e creme (Figura 2A), e outro grupo tipo cromático mais **escuro** (N = 12) – variando em tons de marrom e preto (Figura 2B). Devido às variações de temperatura do ambiente e radiação solar, mesmo sob condições climáticas sem nuvens nos dias amostrados, o experimento foi conduzido através de um design pareado, onde apenas dois caranguejos por vez tiveram suas temperaturas medidas simultaneamente. Os machos acima da superfície foram visualmente identificados quanto a espécie e capturados. Após a coleta, o par de indivíduos foi colocado lado a lado ± 4 cm de distância, sob uma placa de acrílico (medidas: 85.4 mm x 127.6 mm x 20 mm) preenchida com sedimento até a borda, e contidos sob a placa através de pequenas bandas elásticas (Figura 2C). Em seguida, os caranguejos foram fotografados quanto a coloração da carapaça, seguindo os mesmos procedimentos especificados no item 2.4. Neste experimento, nós apenas optamos em fotografar carapaça dos caranguejos, uma vez que ela ficava diretamente exposta à incidência solar. Em seguida, termosensores foram inseridos entre a carapaça e o abdômen, logo após o último par de pereópodes de cada caranguejo. Após esperar que as carapaças dos caranguejos alcançassem a mesma temperatura corporal na sombra (± 60 segundos), os machos foram expostos sob a radiação solar, e as temperaturas

corporais foram registradas em intervalos de 2 segundos (s). Um terceiro termo sensor foi utilizado para mensurar a temperatura do sedimento (dentro da placa de acrílico), a fim de estabelecer um controle da variação de temperatura do sedimento. Os dados foram registrados através de um termômetro digital com um *data logger* durante 600 segundos (10 minutos). Após o tempo das amostragens, a carapaça dos indivíduos foi novamente fotografada, e os indivíduos mensurados quanto a largura da carapaça e o comprimento do maior quelípedo (em mm). Somente machos de tamanhos similares foram utilizados no experimento (8 a 10 mm).

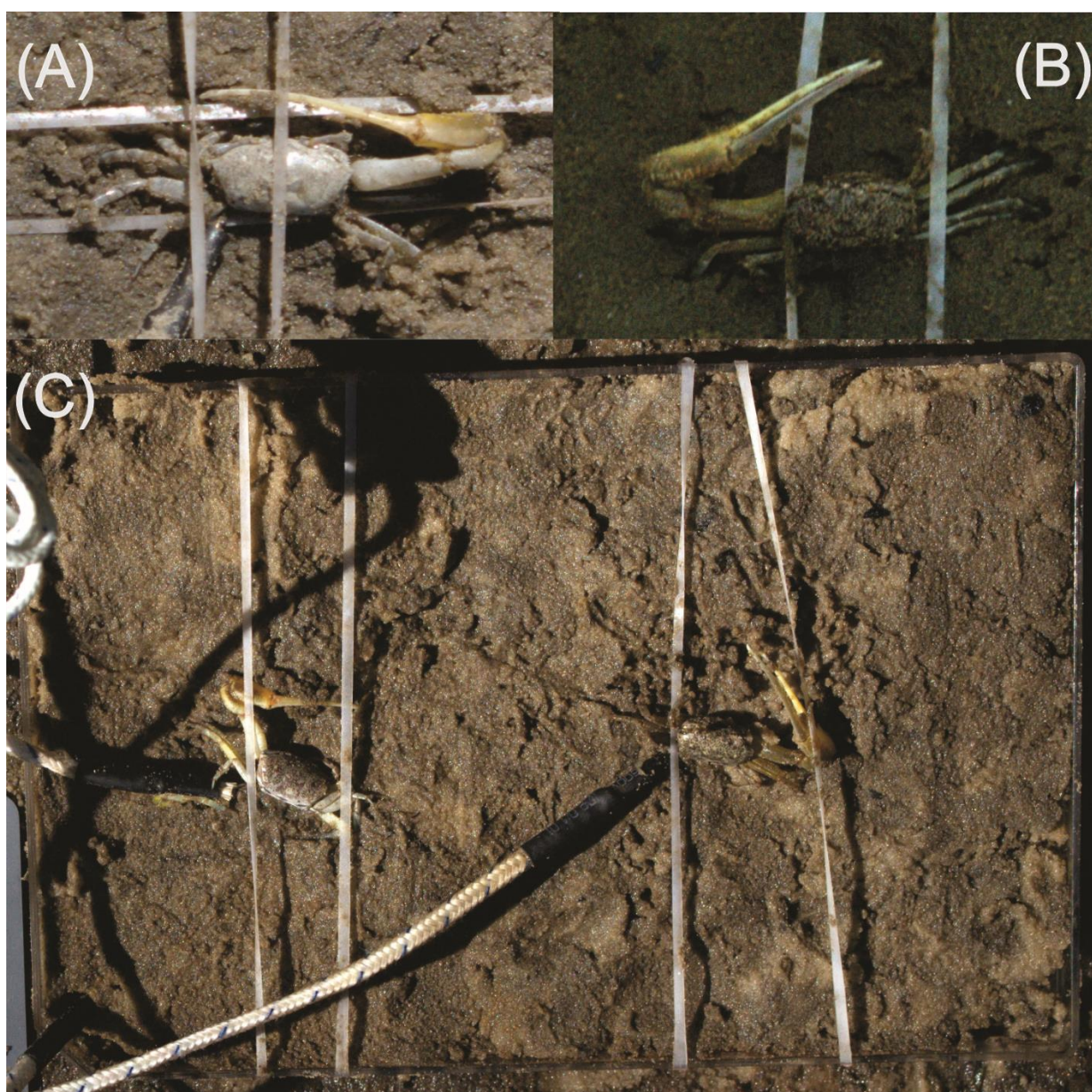


Figura 2 – Experimento da taxa de taxa de aquecimento sob a radiação solar. Para o experimento, foram selecionados dois tipos cromáticos de carapaça; um mais claro (A) e um mais escuro (B). Em (C) é mostrado o delineamento experimental.

2.6 Filmagem do comportamento dos machos de *L. leptodactyla*

O objetivo deste experimento foi avaliar se os comportamentos realizados pelos machos com cúpulas diferem dos machos sem cúpula. Se a cúpula *plus* coloração branca permite um efeito sinérgico na termorregulação, então os machos com cúpulas devem ficar mais tempo expostos sob a superfície, cortejando as fêmeas e permanecendo menos tempo dentro das tocas, se comparado aos machos sem cúpulas – hipótese (v).

Para este experimento, um conjunto de filmagens foi realizada em campo. As filmagens foram realizadas nos dias 19, 21 e 22 de Dezembro/2018 e 19, 20, 21 e 22 Janeiro/2019 entre as 9:00h – 12:00h. No banco arenoso, machos construtores de cúpulas (N = 15) e machos não construtores (N = 15) foram aleatoriamente selecionados. Após a escolha dos machos focais, uma filmadora (marca/modelo Sony DCR-SR47) foi centralizada acima das tocas a ± 50 cm de altura. As tocas dos machos focais foram identificadas através de marcações no sedimento (ex: quadrados ou círculos) ao redor da toca. Após esta seleção, a temperatura do sedimento e a luminosidade foram mensuradas próximo as tocas. Em seguida, a atividade dos machos foi registrada por 1500 segundos (25 minutos). No final de cada filmagem, a temperatura do sedimento e a luminosidade foram novamente registradas. As tocas foram escavadas, os machos capturados, e a temperatura do corpo foi mensurada com termosensor. Os caranguejos foram fotografados quanto a coloração da carapaça, e do quelípodo seguindo os mesmos procedimentos especificados no item 2.4. Após a seção de fotos, a largura da carapaça e o comprimento do maior quelípodo também foram medidos (em mm) e os machos devolvidos ao habitat.

2.6.1 Comportamentos observados

Os comportamentos avaliados nas filmagens foram; a) “a latência” (em segundos) que os machos demoraram para entrar nas tocas após a primeira saída – após o começo das filmagens; b) “o tempo permanência dentro da toca”, ou seja, quantos segundos os machos ficaram dentro das tocas, até sair novamente, e; c) o número de cortejos “displays” que cada macho fez durante o período avaliado. Tais comportamentos foram analisados durante 1200 segundos (20 minutos), a partir da primeira saída do macho focal da toca. Se fosse observado algum efeito externo no comportamento do macho focal, como a presença de algum predador (ex: aves), ou um caranguejo “intruso” tentando roubar a toca do caranguejo focal, a contagem dos comportamentos era cessada, e somente reaplicados após a passagem do perigo na filmagem.

3. Análise de dados

3.1 Análise da contagem de tocas com cúpulas e do número de novas tocas escavadas

A construção de cúpulas foi comparada através de um GLMM (Generalized Linear Mixed Model) para verificar se houve diferença no número cúpulas construídas no início e no final das amostragens. A diferença entre o número de tocas com cúpulas $CC_{\text{final}} - CC_{\text{inicial}}$ foi utilizado como variável dependente no modelo. A variação da temperatura da superfície $T_{\text{final}} - T_{\text{inicial}}$ foi utilizada como covariável. Ademais, os dias de coleta (19, 21 e 22 de Dezembro/2018 e 19, 20, 21 e 22 Janeiro/2019) e os quadrados de contagem (três réplicas: Q1, Q2 e Q3) foram incluídos como fatores aleatórios aninhados na análise.

Outro GLMM também foi utilizado para verificar se houve diferença no número de tocas escavadas no início e no final das amostragens. A diferença entre o número total de tocas $NT_{\text{final}} - NT_{\text{inicial}}$ foi utilizado como variável dependente. Novamente, a variação da temperatura da superfície $T_{\text{final}} - T_{\text{inicial}}$ foi utilizada como covariável, e os dias de coleta e quadrados de contagem incluídos como fatores aleatórios.

Em ambas as análises, os dados de contagem não apresentaram uma distribuição normal. Então, nos modelos foram utilizados uma distribuição de Poisson e link log. A colinearidade entre a temperatura da superfície e a luminosidade foi checada. As variáveis tiveram uma correlação positiva (correlação de Pearson: $r_p = 0.86$, $P < 0,001$) e assim, a luminosidade foi retirada de ambas as análises.

3.2 Análise da mensuração da temperatura das camadas internas das tocas e temperatura corporal dos machos de *L. leptodactyla*

A largura da carapaça e comprimento do maior quelípedo se mostraram importantes preditores para variações de temperatura (Darnell & Munguia 2011; Allen et al. 2012) e também coloração (Stevens et al. 2014a; Takeshita 2019) de decápodes. Deste modo, para verificar se houve diferenças entre os tamanhos carapaça e dos quelípodos dos machos com e sem cúpulas, os grupos foram comparados através do teste t de Student para amostras independentes, visto que os pressupostos de variância e normalidade dos dados foram alcançados nos testes de Levene e Shapiro-Wilks, respectivamente.

Para verificar se houve diferenças nas temperaturas internas das tocas “com cúpulas” e “sem cúpulas”, as diferentes camadas de profundidades foram comparadas através de um GLMM. Como variável dependente, foi utilizado uma razão dada pela temperatura das camadas internas das tocas dividido pela temperatura da superfície do solo. A estrutura sedimentar (2 níveis: presença ou

ausência) e profundidade da toca (4 níveis: entrada - 0 mm, 20 mm, 40 mm e 80 mm) foram considerados fatores fixos, e o diâmetro da toca como covariável no modelo. A identificação da toca, e o dia de coleta, e a interação entre eles foram utilizados como efeitos aleatórios. O modelo foi ajustado através da distribuição gamma e link log. Quando necessário, o teste *a posteriori* de Tukey foi aplicado para verificar diferenças entre os níveis dos fatores.

Outro GLMM foi utilizado para avaliar se existe uma diferença na temperatura corporal de machos que possuem ou não cúpulas. O modelo incorporou o percentual de redução da temperatura do corpo em relação a temperatura da superfície como variável dependente e a estrutura sedimentar (2 níveis: presença ou ausência) como fator fixo. O dia de coleta e a identidade da toca, e a interação entre eles, novamente foram utilizados como fatores aleatórios. O modelo também foi ajustado através de uma distribuição gamma e link log.

3.3 Análises das métricas dos componentes RGB

Para o processamento das métricas de imagem, a exposição das fotos foi verificada pela ferramenta “Rawtherapee” através de histogramas de exposição de pixels. Esta análise é exploratória e plenamente qualitativa. Deste modo, as fotos sub e superexpostas foram excluídas para evitar a perda de detalhes (texturas) durante o processamento das imagens. As fotos bem expostas foram selecionadas para as medidas dos valores de refletâncias dos canais de cores. As mensurações de refletância nos canais vermelho, verde e azul (RGB; Vermelho – comprimento de onda longo, Verde – comprimento de onda médio, Azul – comprimento de onda curto) da carapaça e do quelípodo foram obtidos utilizando o software ImageJ, através da ferramenta suplementar: “*Image calibration and analysis toolbox*” (Troscianko & Stevens 2015). Basicamente, os valores dos canais de cores são extraídos das imagens, alinhados e empilhados em uma imagem multiespectral (32-bit) com pixels linearizados e equalizados (Troscianko & Stevens 2015). Deste modo, os valores de refletância e cores das imagens normalizadas podem ser mensurados de acordo com pontos específicos ou regiões de interesse (ROIs) especificados na imagem. Em nosso caso, nós mensuramos a cor na área dorsal da carapaça, e subsequentemente, a coloração da região central do manus, no quelípodo hipertrofiado (Figura 3A e B).

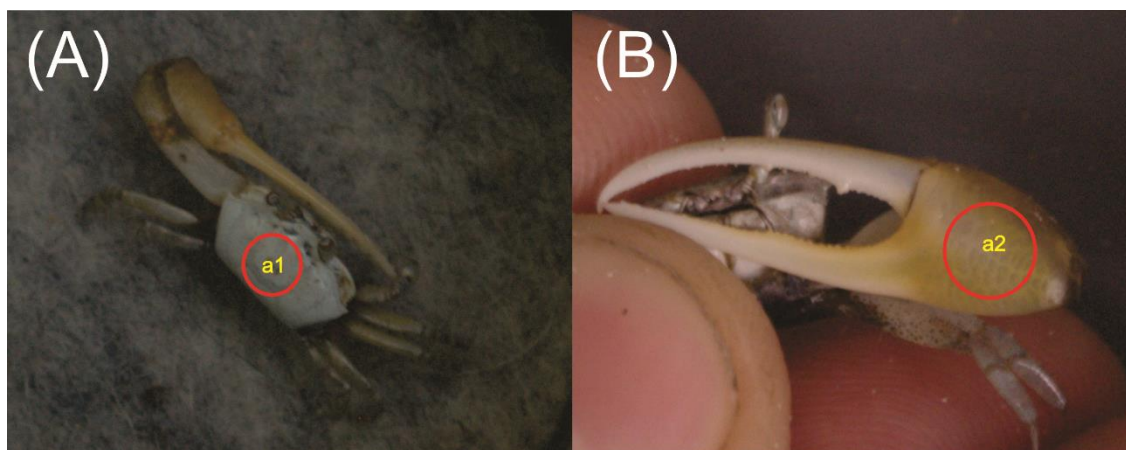


Figura 3 – Regiões de interesse (ROIs) da (A) carapaça e do (B) quelípodo dos machos de *Leptuca leptodactyla* utilizadas para as análises das métricas de imagem.

As métricas de imagem utilizadas neste trabalho foram a matiz, o brilho e a saturação, extraídos tanto das imagens da carapaça como do quelípodo dos caranguejos. Os valores de matiz, foram obtidos através dos valores padronizados de refletância (proporções) dos canais de cores RGB. Para esta abordagem, uma Análise de Componentes Principais (PCA) foi utilizada para determinar os principais eixos de variação de cor, e estabelecer duas equações de canais de cor lógico (matiz 1 e matiz 2) (Stevens et al. 2014b). Na análise de componentes principais (PCA) da matiz da carapaça, os dois principais componentes (PCs) explicaram juntos uma variação de 99,36% (PC1: 67,62% e PC2: 31,73%, Figura 4A). Deste modo, as funções de contraste das refletâncias entre os canais RGB foram definidas como: matiz 1 (PC1): $R / (G + B)$; e a matiz 2 (PC2) como: $G / (R + B)$. Em relação a matiz do quelípodo, os dois PCs explicaram juntos uma variação de 99,46% (PC1: 71,4% e PC2: 28%, Figura 4B). A vetorização resultante utilizada para criar funções de contraste da matiz 1 (PC1) e da matiz 2 (PC2) do quelípodo foram definidas como: $R / (G + B)$ e $G / (R + B)$ respectivamente. Nós checamos a colinearidade entre nossas métricas de imagem. Ambos, a matiz 1 da carapaça e a saturação da carapaça foram fortemente correlacionadas ($r_p = 0.99$, $P < 0,0001$). O mesmo ocorreu entre a matiz 1 do quelípodo e a saturação do quelípodo ($r_p = 0.98$, $P < 0,0001$). Deste modo, somente a matiz 2 da carapaça e matiz 2 do quelípodo foram utilizadas nas análises estatísticas (de agora em diante, chamada somente de “matiz” da carapaça ou quelípodo).

O brilho é uma medida da intensidade acromática através do espectro visível, onde valores maiores significam que os indivíduos são mais brilhantes (Stevens et al. 2014b). Esta métrica caracteriza uma mudança física na aparência do caranguejo através de todo o espectro do visível (Stevens et al. 2014a, b). Portanto, o brilho (refletância total) foi calculado como a soma dos valores de refletância dos canais $R + G + B / 3$.

A saturação se refere ao grau de pureza da cor em relação a quantidade de branco, ou seja, a quão “vívida/rica” ou “pálida/opaca” em cor uma determinada matiz pode ser. Os valores de refletância da imagem foram proporcionalmente transformados em coordenadas x e y de um plano cartesiano tridimensional. A saturação foi calculada sendo a distância Euclidiana entre a imagem (definida pelas coordenadas x e y) e o centro (coordenadas: 0,0) do triângulo, com valores maiores sugerindo maior saturação (Stevens et al. 2014b). Para os métodos mencionados acima, a matiz rendeu valores baseados na taxa de oposição entre os canais de cores (Stevens et al. 2014b; Duarte et al. 2016). Os valores de brilho foram especificados como: 0 a 100%.

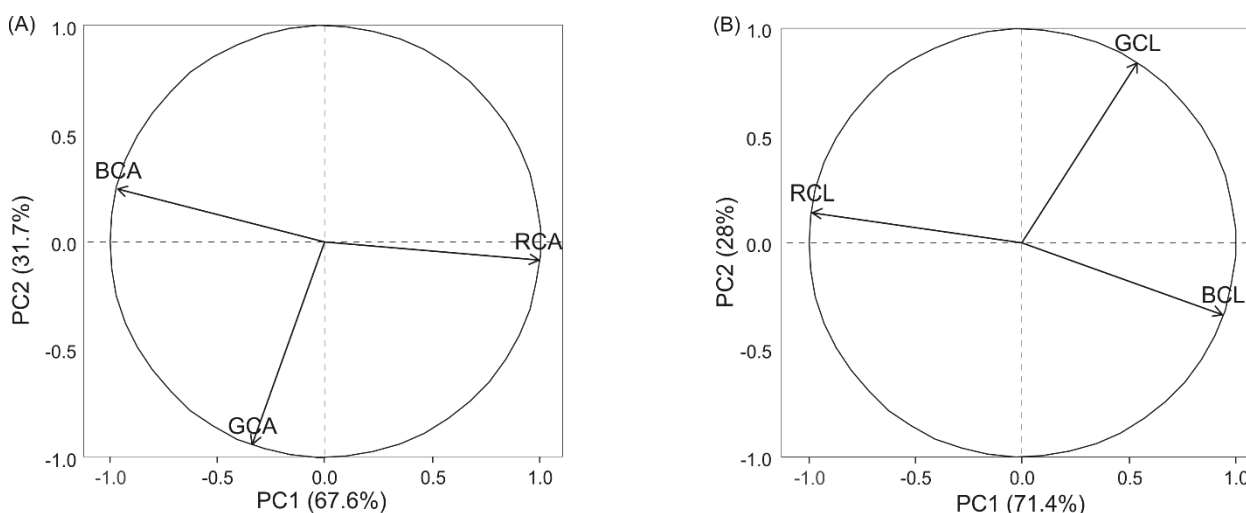


Figura 4 – Vetorização da PCA utilizando como componentes as refletâncias dos canais RGB referente as mensurações da coloração da (A) carapaça e dos (B) quelípodos de *Leptuca leptodactyla*.

O uso destas métricas de refletâncias permitem a análise de cor em termos de propriedades físicas, independentemente de qualquer sistema visual específico ou grupo predador (Stevens et al. 2014b; Duarte et al. 2016).

Os valores de matiz, brilho e saturação (variáveis dependentes) tiveram a variância (homogeneidade) e normalidade (distribuição) analisados pelos testes de Levene e Shapiro-Wilks, respectivamente. Quando necessário, os dados foram log transformados para atingir pressupostos de homogeneidade. As métricas de imagem foram comparadas através de um conjunto de GLMs (General Linear Models) para verificar se existe diferenças nas propriedades físicas das carapaças e dos quelípodos de machos construtores e não construtores de cúpulas. Os modelos incorporaram a estrutura sedimentar (2 níveis: presença ou ausência) como fator fixo e a temperatura do corpo como covariável. Devido ao alto grau de correlação entre a temperatura do corpo com a temperatura da superfície ($r_p = 0.86$, $P < 0,001$), e com a luminosidade ($r_p = 0.84$, $P < 0,001$), nós optamos por deixar essas covariáveis fora das análises a fim de evitar redundâncias nos modelos.

3.4 Análise da taxa de aquecimento sob a radiação solar

3.4.1 Análise da temperatura corporal dos machos de *L. leptodactyla* na taxa de aquecimento

Para verificar se houve diferenças na temperatura corporal em machos de *L. leptodactyla* com diferentes tipos cromáticos (claro ou escuro), os dados da temperatura corporal foram comparados através de uma regressão linear. As taxas de aquecimento foram calculadas como a inclinação da equação de regressão linear para a temperatura corporal (de cada macho pareado) $\times$ tempo de exposição (600 s), entre a 1ª e a 300ª registro de temperatura fornecida. Uma vez que o padrão da taxa de aquecimento corresponde a uma função polinomial, os dados foram log transformados antes da regressão, para fornecer uma inclinação mais linear (Kuyucu et al. 2018). As diferenças entre os grupos foram testadas através de um teste t de Student para amostras pareadas, utilizando o valor de inclinação (“*slope*”) das retas.

3.4.2 Análise das métricas de imagem dos machos de *L. leptodactyla* na taxa de aquecimento

Os valores das métricas de imagem obtidas neste experimento foram processados de maneira similar ao item 3.3. Os dados de matiz, brilho e saturação tiveram a homogeneidade e distribuição checadas pelos testes de Levene e Shapiro-Wilks, respectivamente. Quando necessário, os dados foram log transformados para atingir pressupostos de homogeneidade. As métricas de cor de matiz, brilho e saturação (variáveis dependentes) foram comparadas através de um conjunto de GLMs de medidas repetidas. Os modelos incorporaram o tipo cromático (2 níveis: claro ou escuro) como fator fixo, o tempo (2 níveis: antes e depois) como fator de repetição e a interação entre os fatores tipo cromático $\times$ tempo. Esta abordagem teve como objetivo verificar se existem diferenças entre os diferentes tipos cromáticos, e, se houve mudanças das propriedades físicas da carapaça (matiz, brilho ou saturação) após o tempo de exposição a temperatura proveniente da radiação solar.

3.5 Filmagens

3.5.1 Análise do comportamento dos machos de *L. leptodactyla*

Os dados de comportamento foram utilizados para criar uma matriz utilizando como medida de similaridade a distância Euclidiana. Preliminarmente, os dados de comportamentos foram normalizados, uma vez que diferentes escalas de medidas comportamentais foram avaliadas. Em seguida, uma matriz foi criada para expressar distancias (ou dissimilaridades) entre os comportamentos observados. Após este procedimento, uma análise de escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) foi realizada com os dados ordenados da matriz. O

objetivo do NMDS foi facilitar a compreensão do padrão dos comportamentos entre os machos com e sem cúpulas através de sua visualização.

Após explorar os dados pelo NMDS, os comportamentos foram analisados através de um Modelo Não-Paramétrico Multivariado (Burchett et al. 2017) baseados em permutações ($N = 10.000$). Ao contrário da MANOVA, tal abordagem não requer a normalidade e variância multivariada dos dados. O Modelo incorporou; a) a latência; b) o tempo total de permanência “dentro da toca”, e; c) o número de “displays executados” como variáveis respostas, e a estrutura sedimentar (2 níveis: presença ou ausência) como fator fixo.

3.5.2 Análise das métricas de imagem das filmagens

As métricas de imagens obtidas após as filmagens dos machos em campo foram tratadas igualmente ao item 3.3. Assim, as métricas de matiz, brilho e saturação foram analisadas sob um conjunto de GLMs. Antes de prosseguir com os testes, os dados foram checados quanto a variância (homogeneidade) e normalidade (distribuição) pelos testes de Levene e Shapiro-Wilks, respectivamente. Os modelos incorporaram a matiz, o brilho ou a saturação como variáveis respostas (variáveis dependentes) e a estrutura sedimentar (2 níveis: presença ou ausência) como fator fixo.

3.5.3 Análise da temperatura corporal dos machos das filmagens

Um GLMM foi feito para verificar se houve diferença entre a temperatura corporal dos machos com e sem cúpulas filmados em campo. Nós utilizamos o percentual de redução da temperatura do corpo em relação a temperatura da superfície como variável resposta. O modelo incorporou a estrutura sedimentar (2 níveis: presença ou ausência) como fator fixo. Além disso, o dia de coleta e a identificação dos machos, e a interação entre eles foram utilizados como fatores aleatórios. O modelo foi ajustado através da distribuição gamma e link log.

4. Resultados

4.1 Contagem de tocas com cúpulas e do número de novas tocas escavadas

Houve um efeito significativo da anomalia da temperatura da superfície (GLMM: $Z_{(1,19)} = 9,732$, $P < 0,006$) no aparecimento de novas estruturas sedimentares. A construção de novas cúpulas foi positivamente relacionada com o aumento da temperatura da superfície do solo (Figura 5). A temperatura média da superfície inicial (T_{inicial}) as 9:00h foi de $30,59^{\circ}\text{C} \pm 4,03$, chegando a

uma temperatura final (T_{final}) de $36,95 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 7,27$ ao 12:00h (Figura 6A), havendo um aumento médio de 14,65 % na construção de novas cúpulas em cada quadrado amostrado (Figura 6B).

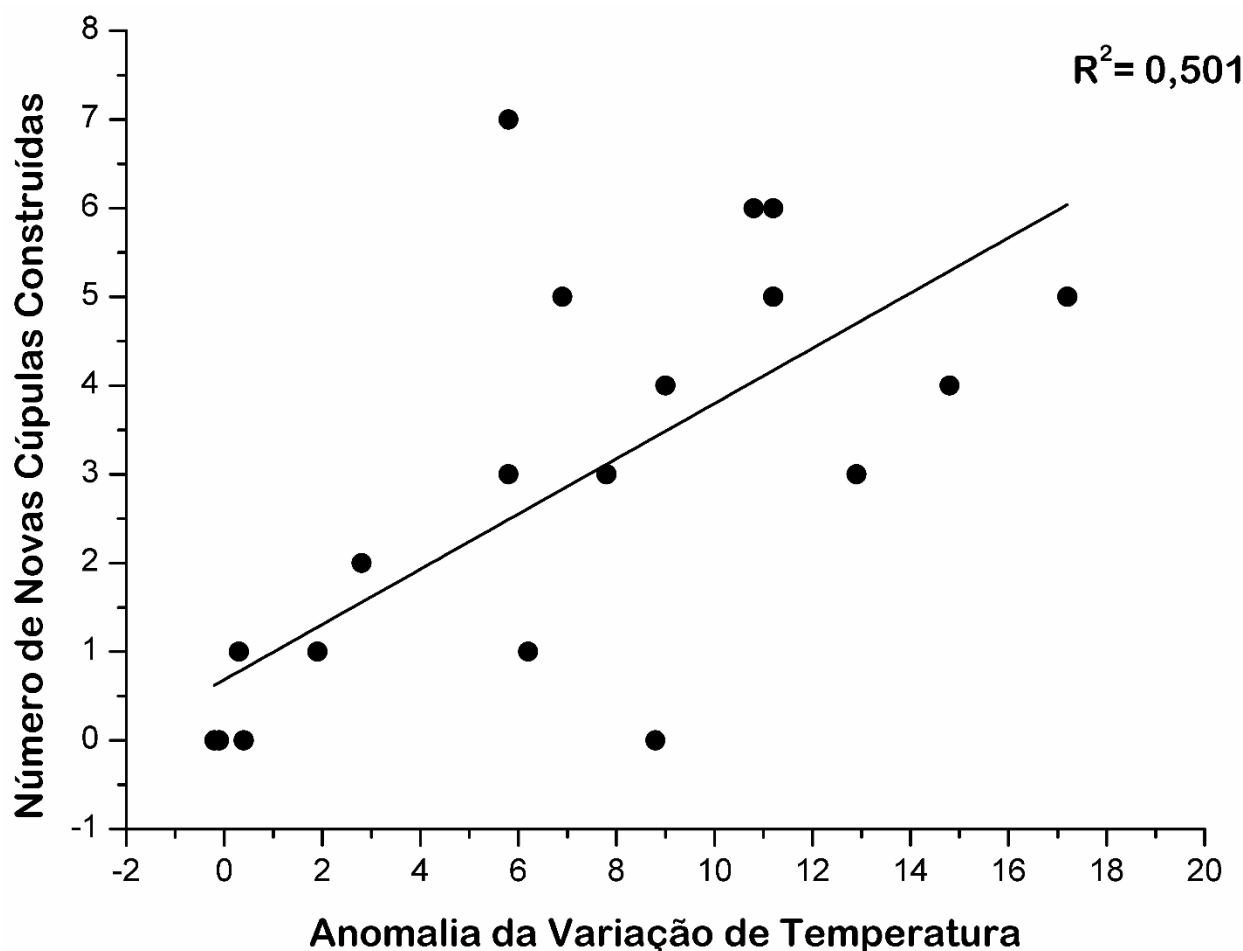


Figura 5 – Número de novas cúpulas dos machos de *Leptuca leptodactyla* contabilizadas ao final das coletas em relação a variação (anomalia: $T_{\text{final}} - T_{\text{inicial}}$) da temperatura da superfície do solo.

Não houve diferença entre o número de tocas no começo (início: $16,76 \pm 4,12$) e ao término (final: $17,14 \pm 4,43$) das coletas (Figura 6C) em relação a variação da temperatura da superfície (GLMM: $Z_{(1,19)} = 0,061$, $P = 0,80$). Houve uma interação entre os fatores aleatórios: dia de coleta x quadrado de contagem (Wald $Z = 3,112$, $P = 0,002$), revelando que o número de tocas variou entre os dias amostrados e entre cada quadrado contabilizado.

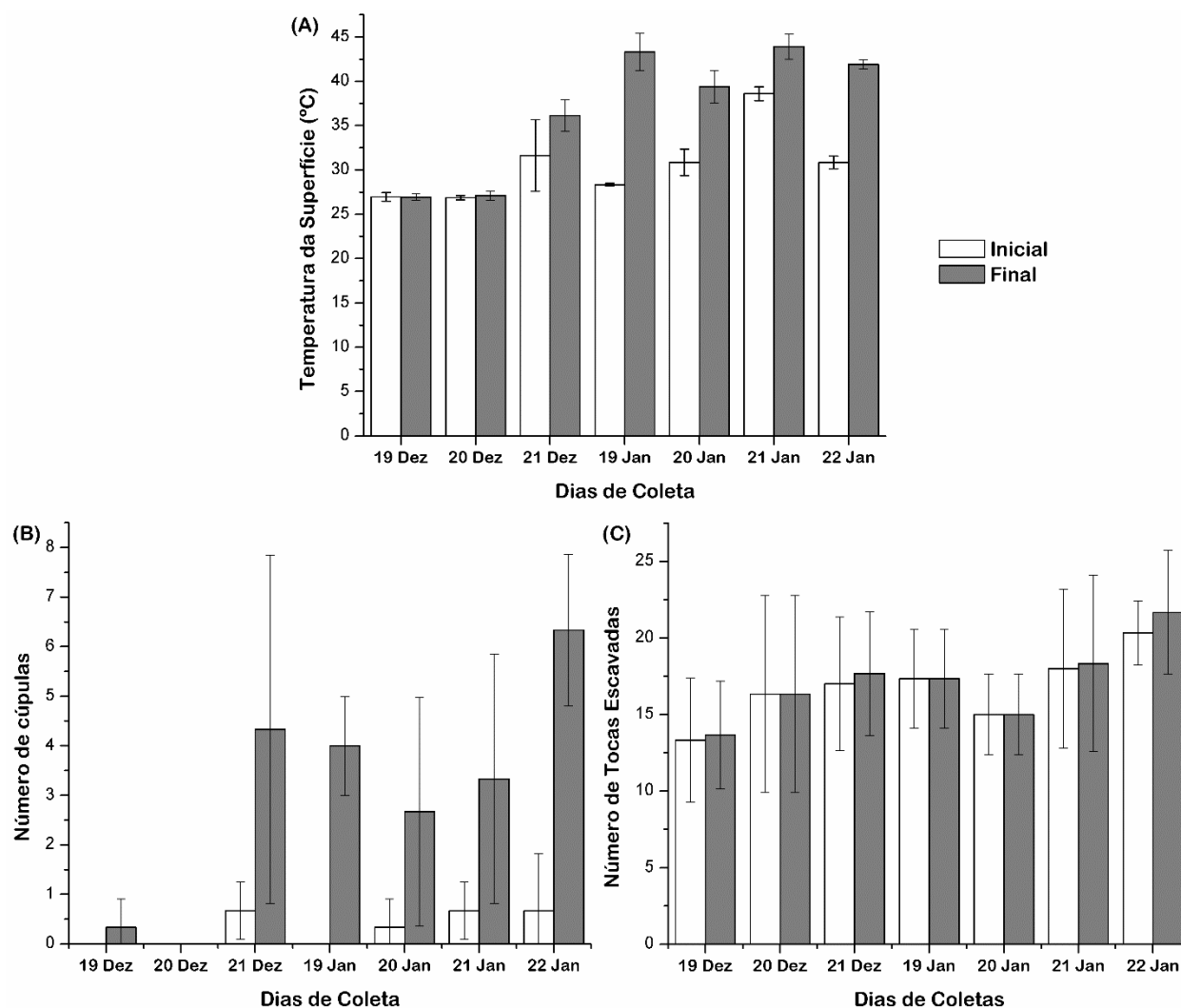


Figura 6 – Média ($\pm$ desvio padrão) (A) da temperatura da superfície no centro dos quadrados; (B) número de tocas com cúpulas; e (C) número total tocas escavadas no início das coletas $\pm$ 9:00h (barras brancas), e no final das amostragens $\pm$ 12:00h (barras cinzas) dos machos de *Leptuca leptodactyla*.

4.2 Mensuração da temperatura das camadas internas das tocas e temperatura corporal dos machos de *L. leptodactyla*

Não houve diferença entre a largura da carapaça (teste t de Student: $T = -1,089$, $df = 154$, $P = 0,27$) de machos construtores ($8,93 \pm 0,47$ mm) e não construtores ($9,01 \pm 0,51$ mm). Além disso, também não houve diferença entre o comprimento do maior quelípodo (teste t de Student: $T = 0,379$, $df = 154$, $P = 0,70$) entre os machos com ($17,87 \pm 1,71$ mm) e sem cúpulas ($17,76 \pm 1,74$ mm).

Quanto a temperatura interna das tocas com e sem estruturas sedimentares, houve um efeito significativo da interação dos fatores estrutura sedimentar $\times$ profundidade (GLMM: $F_{(3,611)} = 6,757$, $P < 0,0001$), mas sem o efeito do diâmetro da toca em nenhuma das variáveis preditoras (Tabela 1). Houve também uma interação entre os fatores aleatórios: dia de coleta $\times$ identificação da toca (Wald $Z = 6,419$, $P < 0,0001$), mostrando que grande variação de temperatura das camadas internas

é dependente do dia de coleta e de cada toca amostrada. Especificamente, as tocas com cúpula possuem uma diminuição de temperatura das camadas internas na entrada da toca (0 mm) (Tukey post-hoc test: estrutura sedimentar x entrada – 0 mm; $z = -3,405$, $P < 0,001$) e em até 20 mm (Tukey post-hoc test: estrutura sedimentar x 20 mm – entrada; $z = -3,743$, $P < 0,001$), em relação a tocas sem cúpulas. Houve uma redução percentual de 3,93% na temperatura da entrada das tocas com cúpulas, contra apenas 0,44% nas tocas sem cúpulas em relação a temperatura da superfície. O mesmo ocorreu em 20 mm, com uma redução de 5,61% da temperatura interna das tocas com cúpulas, e apenas 1,96% nas tocas sem cúpulas. Não há diferença estatística na temperatura das camadas internas em 40 mm (Tukey post-hoc test: estrutura sedimentar x 40 mm – entrada; $z = -0,429$, $P = 0,66$) e 80 mm (Tukey post-hoc test: estrutura sedimentar x 80 mm – entrada; $z = -1,102$, $P = 0,27$) entre tocas que possuem e não possuem cúpulas (Figura 7).

Tabela 1 – Sumário do GLMM examinando os valores de F para os efeitos fixos e suas interações, graus de liberdade (dfs) e valor de alfa (valor de P) em relação a razão da temperatura das camadas internas das tocas dividido pela temperatura da superfície do solo. O asterisco (*) indica diferenças estatísticas significativos.

Modelo	F	$Df1$	$Df2$	P
<i>Intercepto</i>	26,302	12	611	0,000*
<i>Estrutura Sedimentar</i>	0,041	1	611	0,839
<i>Profundidade</i>	1,180	3	611	0,317
<i>Diâmetro da Toca</i>	0,724	1	611	0,395
<i>Estrutura Sedimentar x Profundidade</i>	6,788	3	611	0,000*
<i>Estrutura Sedimentar x Diâmetro da Toca</i>	0,081	1	611	0,777
<i>Profundidade x Diâmetro da Toca</i>	0,129	3	611	0,943

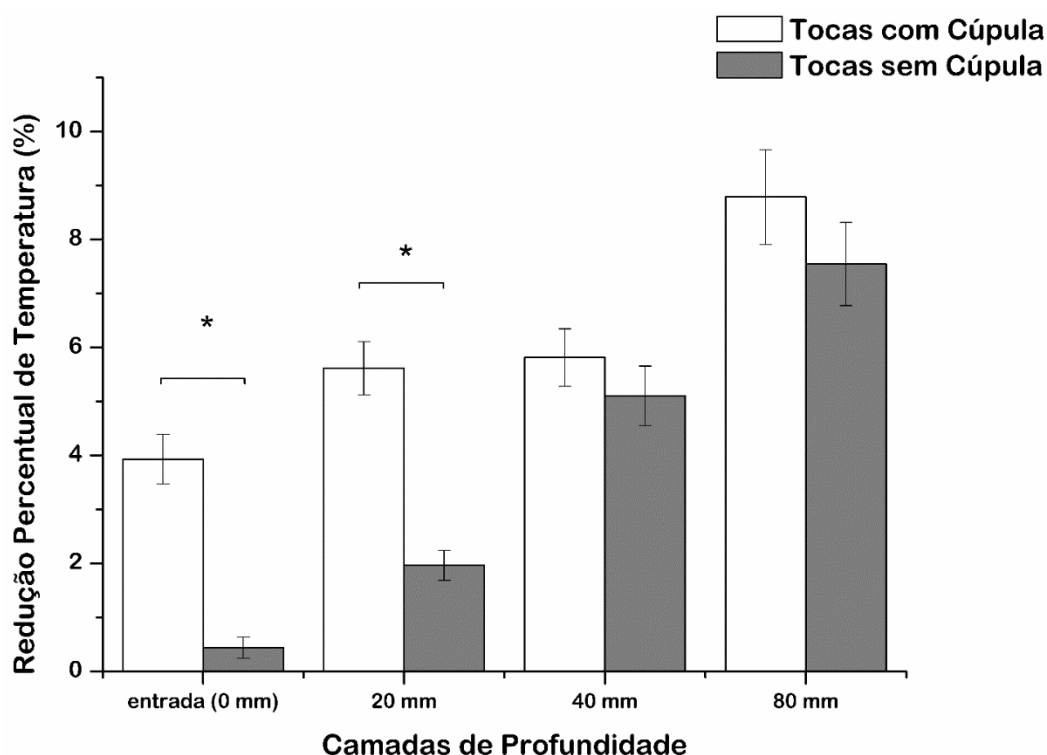


Figura 7 – Redução percentual (média $\pm$ erro padrão) da temperatura interna das camadas (entrada – zero mm, vinte mm, quarenta mm e oitenta mm) das tocas com cúpulas (barras brancas) e tocas sem cúpulas (barras cinzas) de *Leptuca leptodactyla* em relação à temperatura da superfície. O Asterisco (*) indica diferenças significativas das temperaturas internas entre as mesmas camadas.

Além disso, não houve diferenças entre a redução percentual da temperatura corporal entre machos com e sem cúpulas (GLMM: $F_{(1,154)} = 2,084$, $P = 0,151$). Novamente, houve uma interação entre o fator dia de coleta $\times$ identificação dos machos (Wald $Z = 4,721$, $P = 0,001$), mostrando que a variação de temperatura corporal muda de acordo com o dia de coleta e de indivíduo para indivíduo. Deste modo, a temperatura corporal foi semelhante entre machos com (média $\pm$ erro padrão: $33,30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,39$) e sem cúpulas ($32,55\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,32$).

4.3 Métricas dos componentes RGB

Para a matiz da carapaça, os machos com cúpulas possuem menores valores de matiz (fator estrutura sedimentar – GLM: $F_{(1,152)} = 4,255$, $P = 0,04$), significando que eles possuem carapaças menos verdes se comparado aos machos sem cúpulas (Figura 8A). Não houve efeito da temperatura do corpo ($F_{(1,152)} = 0,797$, $P = 0,37$), e da interação do fator estrutura sedimentar $\times$ temperatura do corpo ($F_{(1,152)} = 2,633$, $P = 0,10$) na matiz da carapaça.

Os valores de brilho da carapaça foram log transformados para se assumir os pressupostos de homogeneidade das variâncias dos dados. Não houve efeito da temperatura do corpo (GLM: $F_{(1,152)} = 0,002$, $P = 0,95$), ou da interação da estrutura sedimentar $\times$ temperatura do corpo

($F_{(1,152)} = 3,302, P = 0,07$) em relação ao brilho da carapaça. No entanto, as carapaças dos machos com cúpulas brilham mais (em média 9,19%) que a carapaças dos machos sem cúpulas (fator estrutura sedimentar – $F_{(1,152)} = 76,009, P > 0,0001$, Figura 8B).

Em relação à saturação da carapaça, os machos com cúpulas possuem carapaças menos saturadas do que os machos sem cúpulas (fator estrutura sedimentar – GLM: $F_{(1,152)} = 14,288, P > 0,001$, Figura 8C). Além disso, houve o efeito da temperatura do corpo ($F_{(1,152)} = 7,809, P = 0,005$). Existe uma correlação negativa entre a saturação da carapaça e a temperatura do corpo ($r_p = -0.24, df = 154, t = -3,118, P = 0,0021$), mostrando que quanto maior a temperatura corporal, menos saturadas são as carapaças dos machos de *L. leptodactyla*, ou seja, menos ricas em cor ou mais pálidas (Figura 9A). Não houve o efeito da interação entre a estrutura sedimentar x temperatura do corpo ($F_{(1,152)} = 0,212, P = 0,64$).

No que se diz respeito a matiz do quelípodo, não houve efeito de nenhuma das variáveis preditoras; estrutura sedimentar (GLM: $F_{(1,152)} = 0,506, P = 0,47$, Figura 8D); temperatura do corpo ($F_{(1,152)} = 1,190, P = 0,17$); ou da interação da estrutura sedimentar x temperatura do corpo ($F_{(1,152)} = 1,028, P = 0,31$). O mesmo ocorreu em relação ao brilho; a temperatura do corpo (GLM: $F_{(1,152)} = 1,217, P = 0,27$); a estrutura sedimentar ($F_{(1,152)} = 0,070, P = 0,79$, Figura 8E), e nem a interação entre a estrutura sedimentar x temperatura do corpo ($F_{(1,152)} = 3,590, P = 0,09$) possuem efeito no brilho do quelípodo.

No que se diz respeito da saturação do quelípodo, os machos com cúpulas possuem quelípodos mais ricos em cor do que os machos sem cúpulas (fator estrutura sedimentar – GLM: $F_{(1,152)} = 10,100, P < 0,001$, Figura 8F) embora não ocorreram diferenças nas métricas de matiz. A temperatura do corpo também foi estatisticamente diferente ($F_{(1,152)} = 6,439, P = 0,01$), mostrando que quanto maior a temperatura, menos saturados são os quelípodos, ou seja, menos rico em cor ele são ($r_p = -0.17, df = 154, t = -2,076, P = 0,03$, Figura 9B). Não existe efeito da interação da estrutura sedimentar x temperatura do corpo ($F_{(1,152)} = 0,926, P = 0,33$) na saturação do quelípodo.

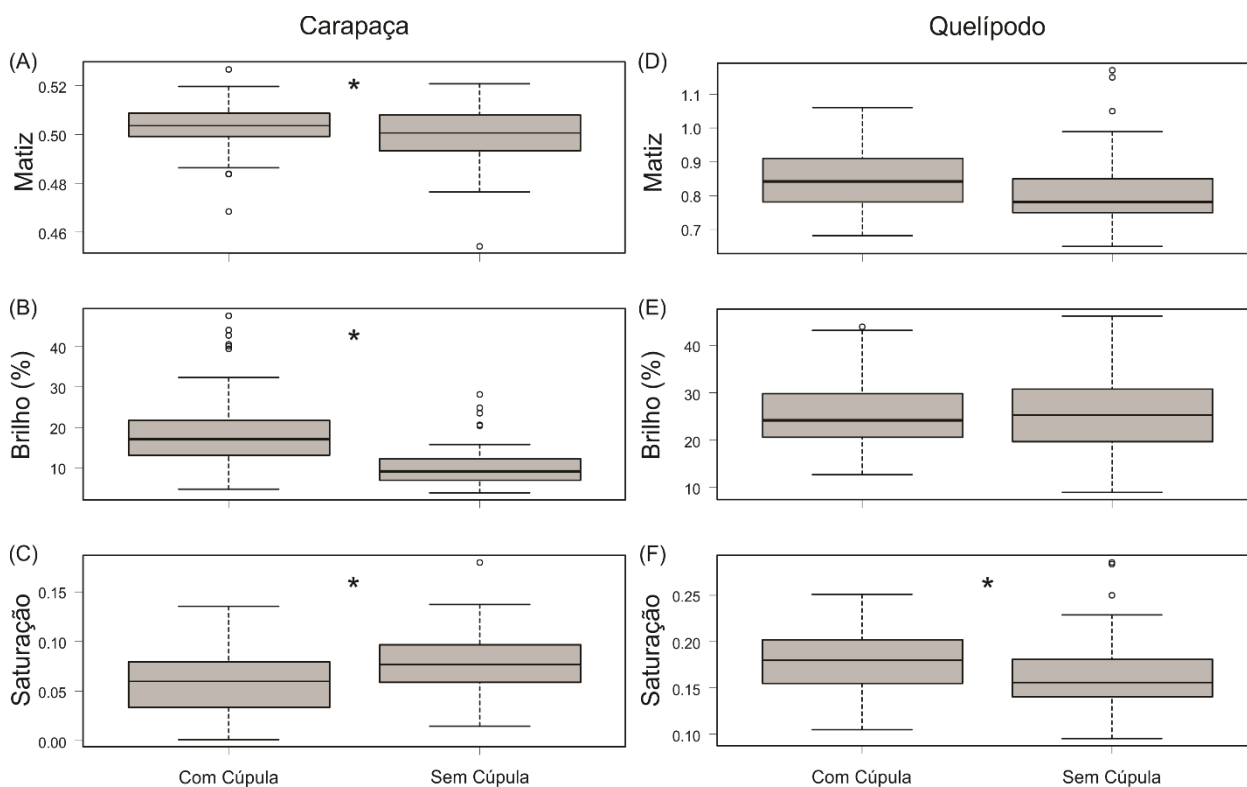


Figura 8 – Box plots referentes aos valores de matiz (A, D), brilho (B, E) e saturação (C, F) da carapaça e do quelípodo dos machos de *Leptuca leptodactyla* com cúpulas e sem cúpulas. Os valores de matiz são baseados na taxa dos valores de refletância dos canais de cores RGB. O Brilho é dado pela refletância em %. A saturação refere-se ao grau de pureza da cor. O Asterisco (*) indica diferenças significativas entre os valores de matiz, brilho e saturação para cada grupo.

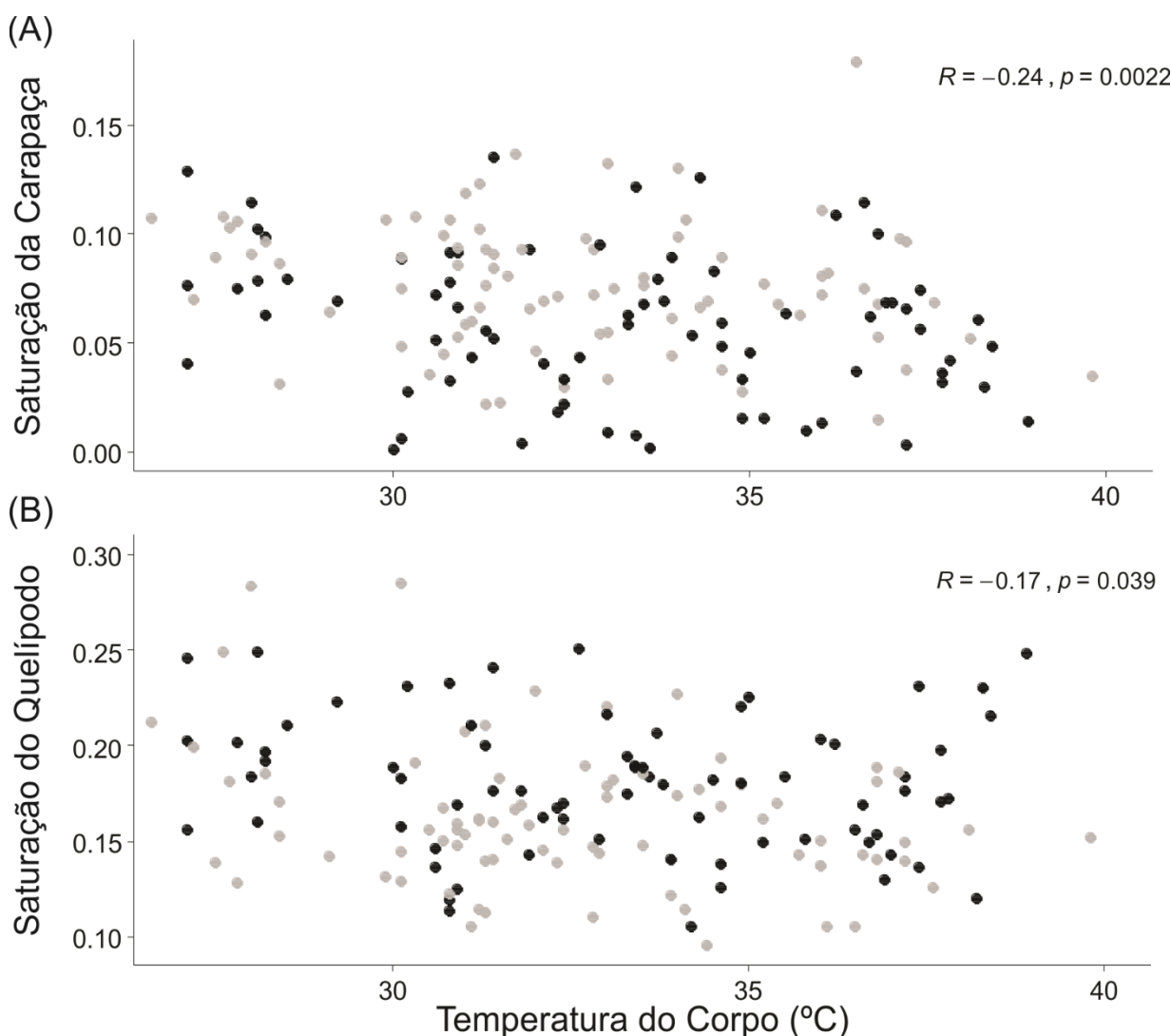


Figura 9 – Correlações referentes as métricas de cor da carapaça e do quelípedo em machos de *Leptuca leptodactyla* com (círculos pretos) e sem cúpulas (círculos cinzas). As correlações da (A) saturação da carapaça, e (B) saturação do quelípedo foram estatisticamente relevantes em relação a temperatura do corpo.

4.4 Taxa de aquecimento sob a radiação solar

4.4.1 Temperatura corporal dos machos de *L. leptodactyla* na taxa de aquecimento

Em média, os tipos cromáticos mais escuros de carapaça ficaram mais quentes e alcançaram as maiores temperaturas do que os tipos cromáticos mais claros (Figura 10). As taxas de aquecimento entre os tipos cromáticos escuro e claro foi estatisticamente significativo (teste t de Student pareado: $T = 2.274$, $df = 11$, $P = 0.04$). Apenas em uma amostragem, o macho com padrões mais claros teve maior taxa de aquecimento e consequentemente, maior temperatura corporal final. Em média, os machos de *L. leptodactyla* de carapaça mais escuras foram $1,06^{\circ}\text{C} \pm 0,88$ mais quentes do que os machos com carapaça mais claras.

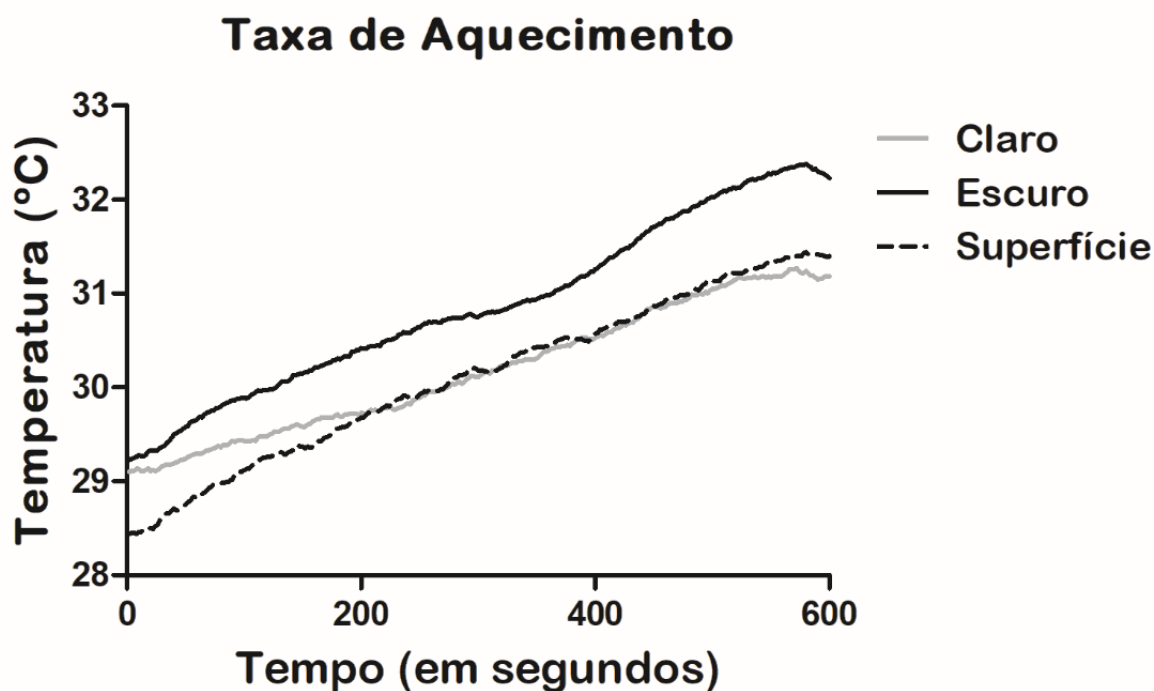


Figura 10 – Taxa de aquecimento médio dos machos ($N = 12$) de *Leptuca leptodactyla* com o tempo abaixo da luz do sol incidente. O eixo vertical representa a média da temperatura corporal de machos com a carapaça escura (linha preta), carapaça mais clara (linha cinza) e do sedimento (linha escura tracejada).

4.4.2 Métricas de imagem dos machos de *L. leptodactyla* na taxa de aquecimento

Não houve um efeito do fator tipo cromático (GLM MR: $F_{(1,22)} = 1,389$, $P = 0,25$, Figura 11A), do fator tempo ($F_{(1,22)} = 1,997$, $P < 0,17$, Figura 11D) e nem entre a interação dos fatores tipo cromático $\times$ tempo ($F_{(1,22)} = 0,012$, $P = 0,91$) na matiz da carapaça.

Em relação ao brilho da carapaça, não houve diferenças significativas entre o tipo cromático (GLM MR: $F_{(1,22)} = 4,250$, $P = 0,05$, Figura 11B), o fator tempo ($F_{(1,22)} = 0,92$, $P = 0,34$, Figura 11E) e entre a interação tipo cromático $\times$ tempo ($F_{(1,22)} = 0,004$, $P = 0,94$).

A saturação da carapaça foi estatisticamente significativa quanto ao fator tipo cromático (GLM MR: $F_{(1,22)} = 4,826$, $P = 0,03$) e tempo ($F_{(1,22)} = 20,626$, $P = 0,0001$), porém sem a interação entre os fatores tipo cromático $\times$ tempo ($F_{(1,22)} = 1,811$, $P = 0,19$). Desta forma, os machos mais claros tiveram menor saturação em suas carapaças que os machos escuros (Figura 11C), mostrando que eles eram menos ricos em cor, ou mais acromáticos. Além disso, após 600 segundos de exposição solar incidente os machos tiveram uma menor saturação de cor do que no começo da exposição (Figura 11F).

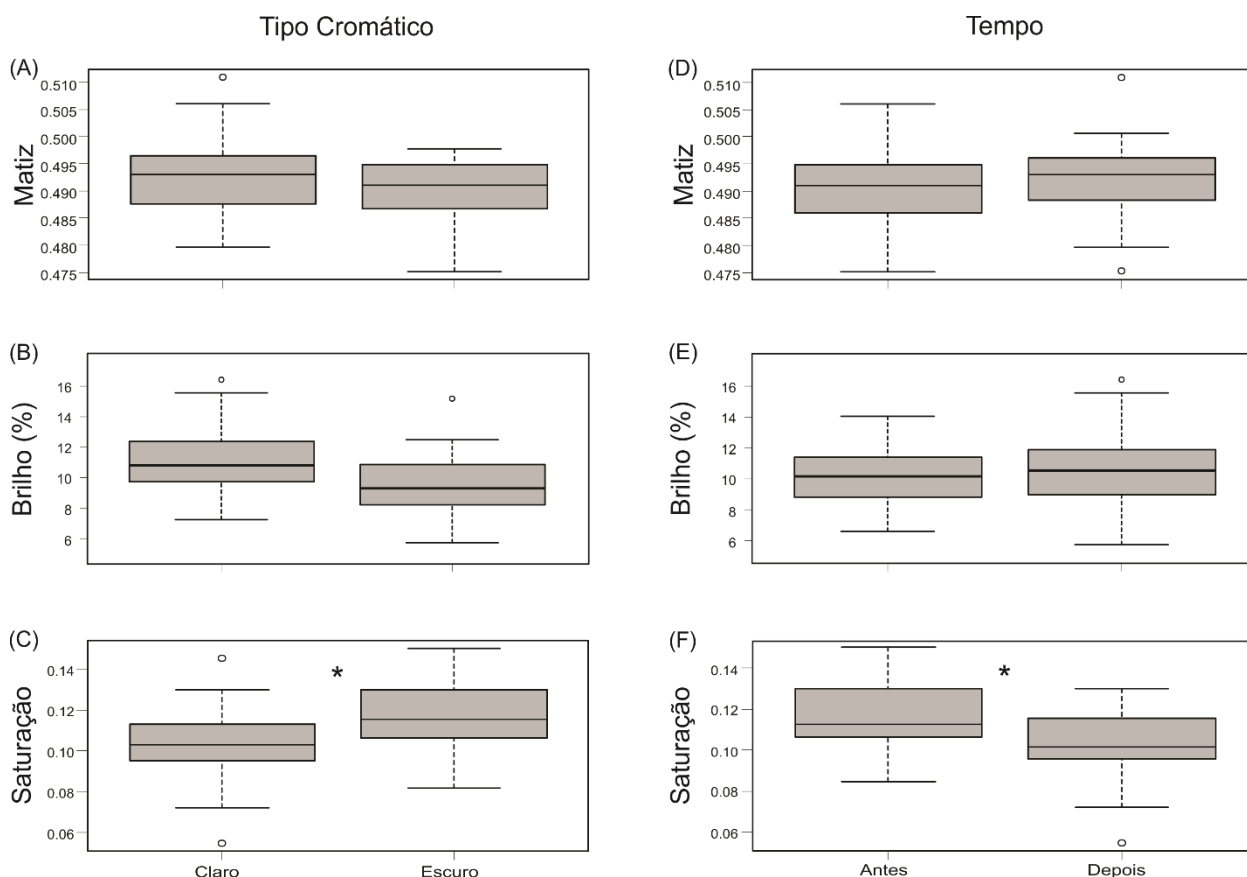


Figura 11 – Métricas de cor do experimento de taxa de aquecimento sob a radiação solar incidente. Os boxplots são referentes aos valores de matiz (A, D), brilho (B, E) e saturação (C, F) da carapaça dos machos de *Leptuca leptodactyla* em relação ao tipo cromático; claro ou escuro, e ao tempo; antes e após a exposição dos machos ao sol.

4.5 Filmagens

4.5.1 Comportamento dos machos de *L. leptodactyla*

A ordenação dos valores dos dados de comportamentos em função do tipo de macho analisado (com ou sem cúpula), demonstrou que existe uma segregação entre os grupos dos machos com e sem cúpula, uma relação evidente dos machos sem cúpula quanto ao comportamento “tempo total de permanência dentro da toca” (T DENTRO, Figura 12).

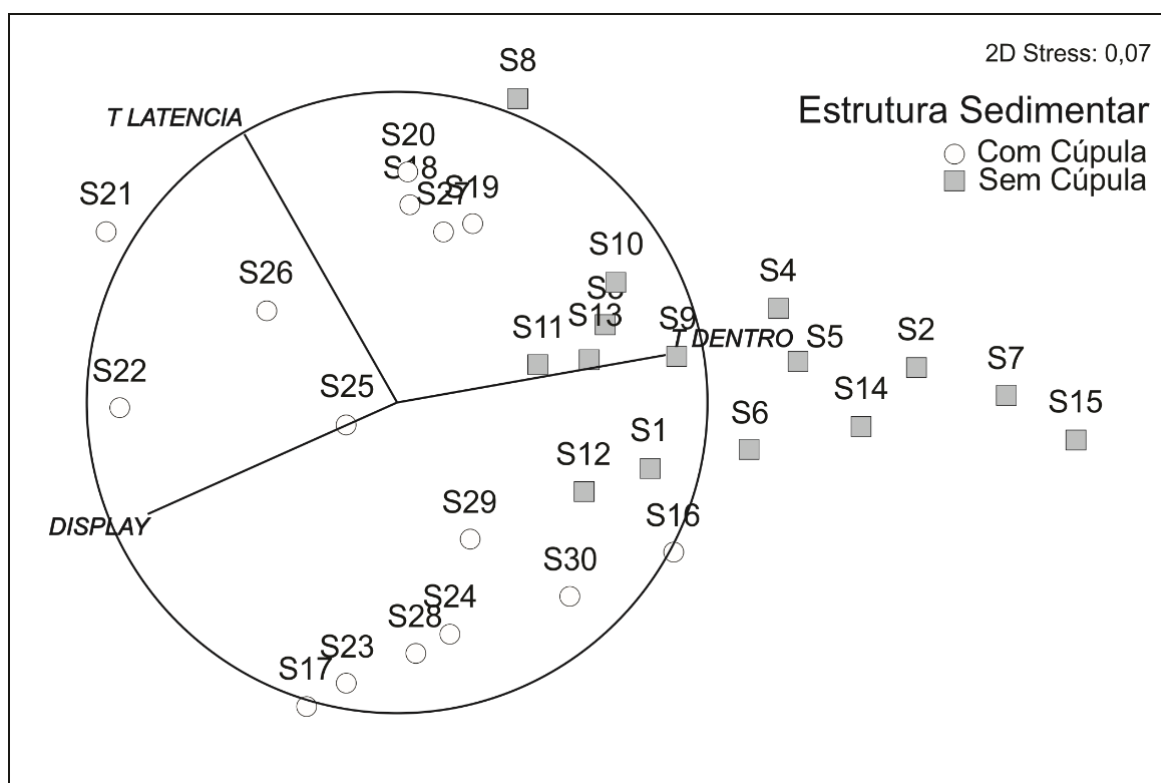


Figura 12 – Análise de escalonamento multidimensional não-métrica (NMDS) entre os dados de comportamentos executados pelos machos de *Leptuca leptodactyla*. Existe uma separação dos machos com cúpula (círculos brancos) e machos sem cúpulas (quadrados cinzas). Há também uma relação entre o vetor “tempo total de permanência dentro da toca” (T DENTRO) e os valores agrupados dos machos sem cúpula.

Houve um efeito significativo do fator estrutura sedimentar em relação as variáveis respostas (MANOVA: $F_{\text{Wilks Lambda}}(3,26) = 20,205$, $P < 0,0001$). Não houve diferença entre a latência que os machos com e sem cúpulas demoraram para entrar nas tocas após a primeira saída (MANOVA: $F_{\text{Wilks Lambda}}(1,28) = 1,239$, $P = 0,27$, Figura 13A). Por outro lado, houve diferença no tempo de permanência total dentro das tocas (MANOVA: $F_{\text{Wilks Lambda}}(1,28) = 14,371$, $P < 0,0001$). Os machos sem cúpulas ficaram em média 101,4 segundos a mais dentro da toca, do que os machos com cúpulas (Figura 13B). Além disso, também houve o efeito do fator display (MANOVA: $F_{\text{Wilks Lambda}}(1,28) = 55,661$, $P < 0,0001$), mostrando que os machos com cúpulas executaram em média ± 210 movimentos de displays do que os machos sem cúpulas (Figura 13C).

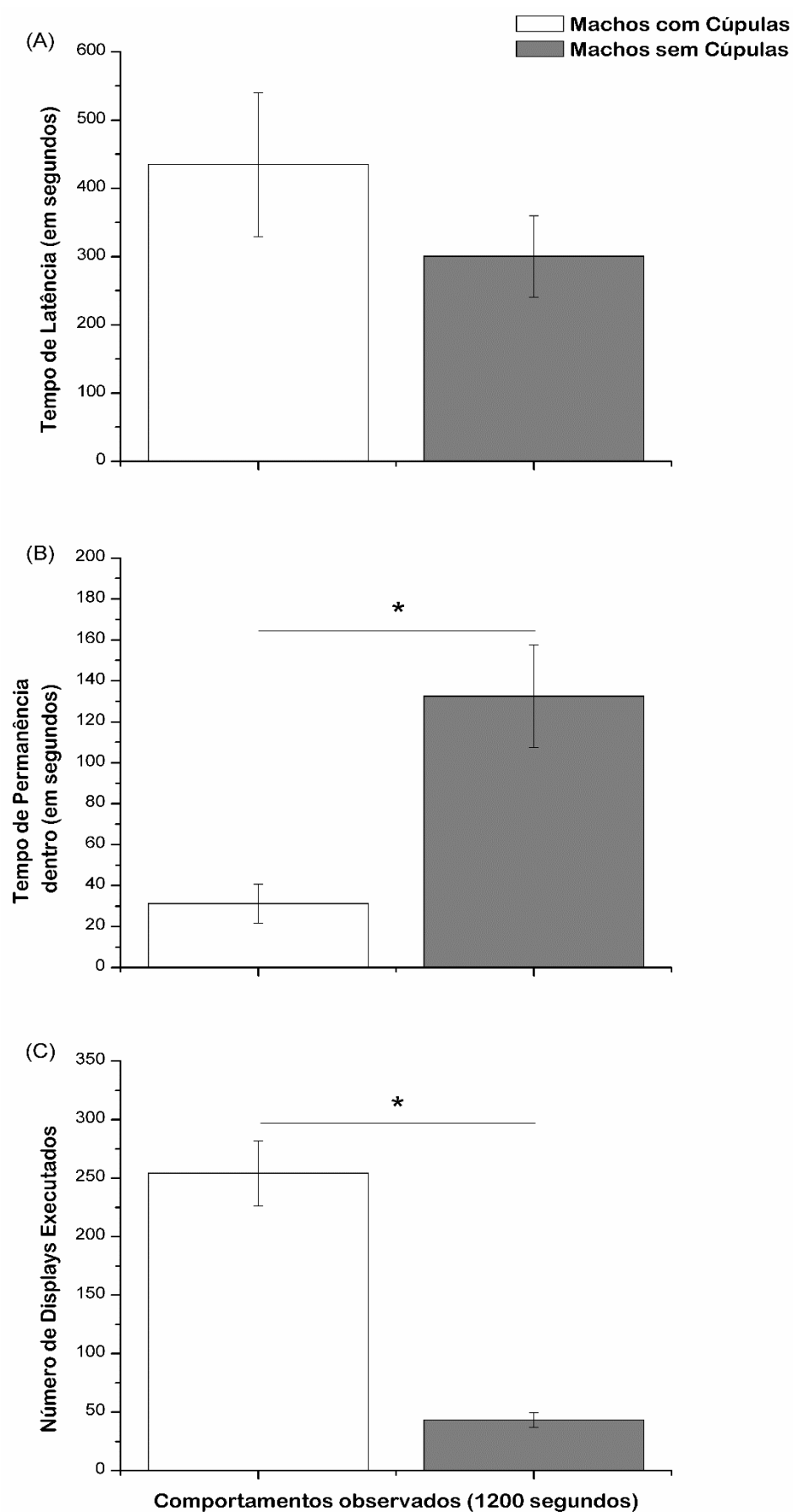


Figura 13 – Média $\pm$ erro padrão dos comportamentos realizados pelos machos de *Leptuca leptodactyla* com (barras brancas) e sem (barras cinzas) cúpulas durante as filmagens em campo. Os comportamentos avaliados foram: (A) latência para os machos entrarem na toca após a primeira saída; (B) o tempo de permanência total dentro da toca e (C) o número de movimentos de displays executados.

4.5.2 Métricas de imagem das filmagens

Em relação à carapaça, não houve diferenças entre os valores de matiz dos machos com e sem cúpulas (fator estrutura sedimentar – GLM: $F_{(1,28)} = 0,1784$, $P = 0,67$, Figura 14A). Já os valores de brilho foram log transformados para se assumir os pressupostos de homogeneidade das variâncias dos dados. As carapaças dos machos com cúpulas das filmagens possuíam maior brilho que os machos sem cúpulas (GLM: $F_{(1,28)} = 17,473$, $P < 0,0001$, Figura 14B). Em relação a saturação, os machos com cúpulas possuem carapaças menos ricas em cor (menos saturadas), do que os machos sem cúpulas (fator estrutura sedimentar – GLM: $F_{(1,28)} = 4,199$, $P = 0,04$, Figura 14C).

No que se diz respeito à matiz do quelípodo, não houve diferenças significativas entre os machos com e sem cúpulas (GLM: $F_{(1,28)} = 0,5499$, $P = 0,46$, Figura 14D). Novamente, não houve o efeito do fator estrutura sedimentar no brilho do quelípodo (GLM: $F_{(1,28)} = 0,215$, $P = 0,64$, Figura 14E). Por outro lado, os machos com cúpulas possuem maior saturação no quelípodo, ou seja, cores mais puras do que os machos sem cúpulas (fator estrutura sedimentar – GLM: $F_{(1,28)} = 6,491$, $P = 0,01$, Figura 14F).

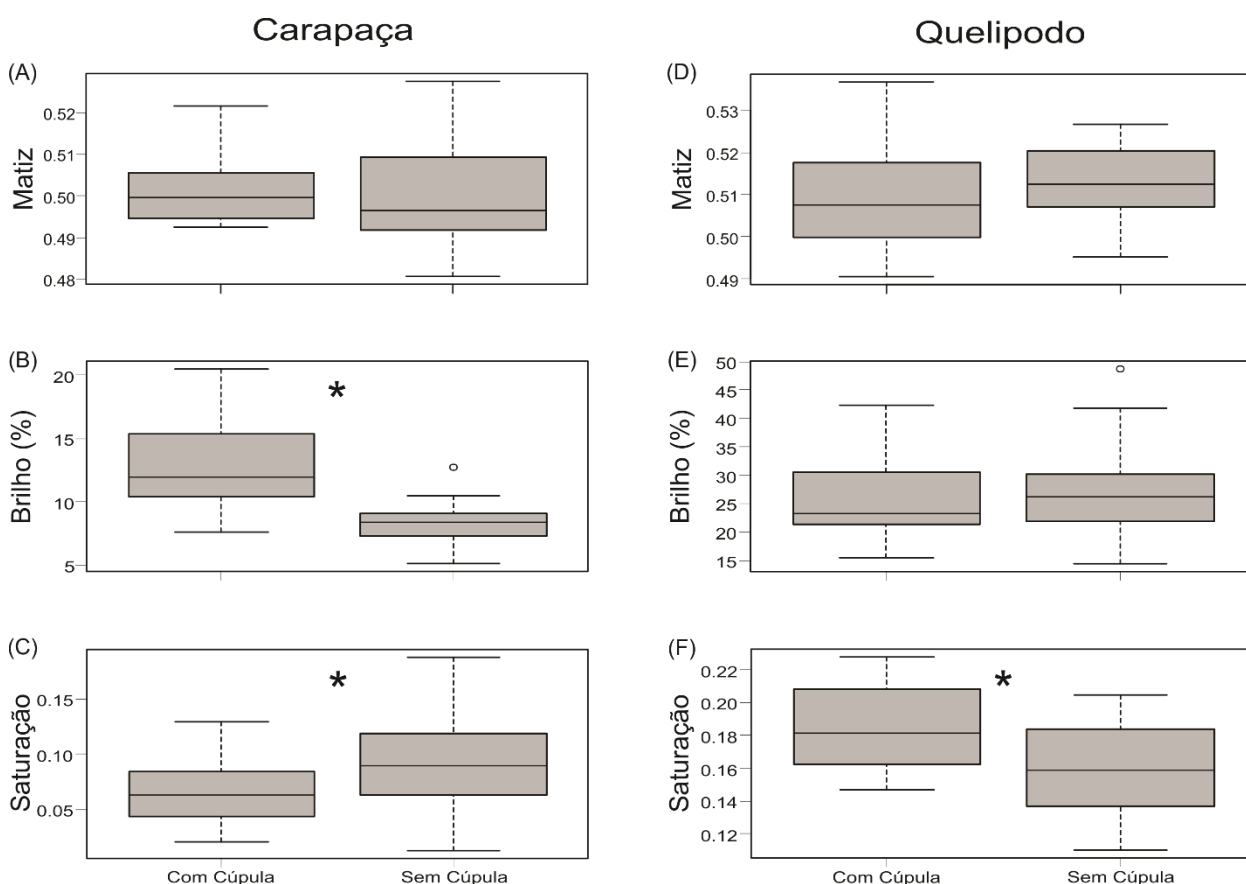


Figura 14 – Os boxplots referentes aos valores de matiz (A, D), brilho (B, E) e saturação (C, F) da carapaça e do quelípodo dos machos de *Leptuca leptodactyla* com e sem cúpulas das filmagens em campo.

4.5.3 Temperatura corporal dos machos das filmagens

Houve uma diferença entre a redução percentual da temperatura corporal dos machos com cúpulas se comparado aos machos sem cúpulas (GLMM: $F_{(1,28)} = 14,623$, $P < 0,001$). Não houve o efeito do dia de coleta (Wald $Z = 0,314$, $P = 0,75$), ou da interação entre o fator dia de coleta $\times$ identificação dos machos (Wald $Z = 1,468$, $P = 0,14$) na análise. De maneira geral, os machos com cúpulas foram em média 9,40% mais frios que a temperatura da superfície, enquanto os machos sem cúpulas foram até 2,31 % mais quentes que a superfície (Figura 15).

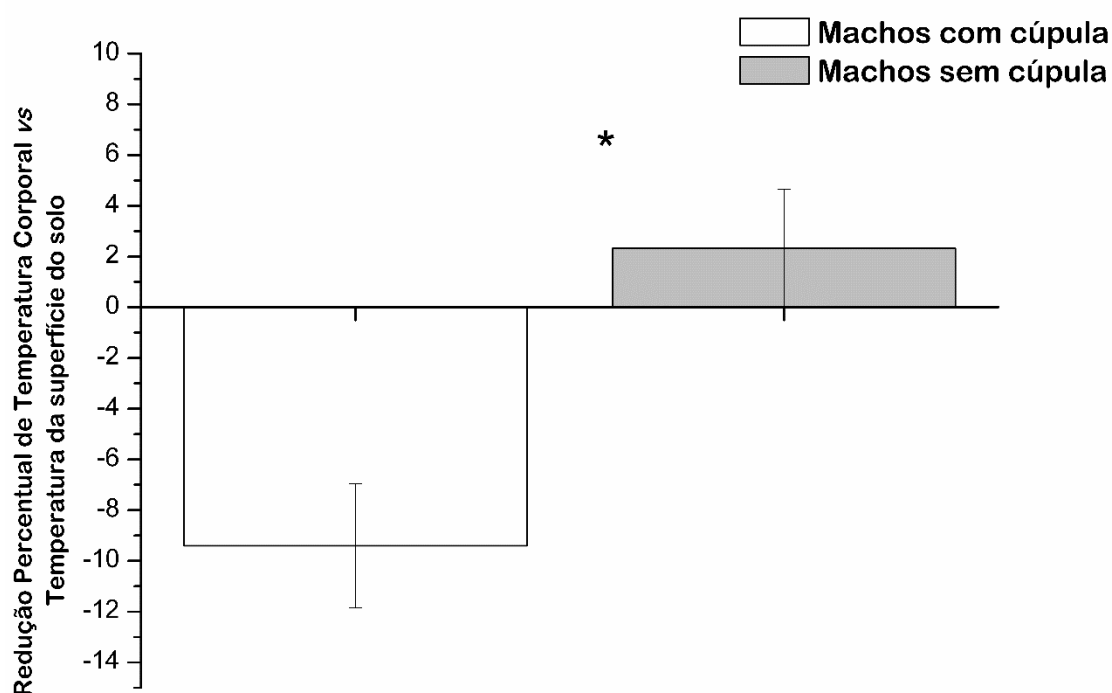


Figura 15 – Média $\pm$ erro padrão do percentual de redução da temperatura corporal dos machos de *Leptuca leptodactyla* com cúpulas (barra branca) e sem cúpulas (barra cinza) em relação a temperatura da superfície.

5. Discussão

5.1 Construção de cúpulas, temperatura interna das tocas, termorregulação corporal e comportamento dos machos de *L. leptodactyla*

A construção das estruturas sedimentares “cúpulas” foi positivamente relacionada com o aumento da temperatura da superfície. As cúpulas influenciaram na termorregulação interna das tocas dos machos de *L. leptodactyla*. Por outro lado, no experimento de mensuração da temperatura corporal, não houve diferença entre a temperatura corporal dos machos com e sem cúpulas, mostrando que a presença de cúpulas não reduziu a temperatura corporal dos machos neste

experimento. Interessantemente, em nosso experimento de filmagem, onde os dados de temperatura também foram coletados, as cúpulas têm um importante efeito na redução de temperatura corpórea e no comportamento dos machos.

As estruturas sedimentares começaram a ser construídas pelos machos de *L. leptodactyla* nas primeiras horas, após a maré começar baixar, onde a temperatura média da superfície (T_{inicial}) variou entre $30,59 \pm 4,03$ °C, chegando à média (T_{final}) de $36,95 \pm 7,27$ no final das amostragens. Entre este período (9:00h – 12:00h), houve um aumento médio de 14,65 % no número de tocas com cúpulas, sendo positivamente relacionado com o aumento da temperatura da superfície do solo. Resultados similares foram vistos em *Austruca lactea*, onde uma maior frequência de semi-domos construídos pelos machos também foi relacionada a fatores abióticos, neste caso, com a temperatura do ar (Takeshita et al. 2018). Por outro lado, em outro estudo com *L. leptodactyla*, a construção de cúpulas também foi positivamente relacionada com o aumento da densidade de machos (De O. Rodrigues et al. 2016). Em nosso estudo, a densidade de machos foi amostrada indiretamente pela contagem total de tocas escavadas. Não houve diferenças na quantidade de tocas inicial ($16,76 \pm 4,12$) e final ($17,14 \pm 4,43$) ao término das coletas, evidenciando apenas a construção de novas cúpulas. Deste modo, a ocorrência de estruturas sedimentares construídas pelos caranguejos chama-maré podem ser moduladas em diferentes contextos, tais como; condição nutricional, seleção sexual (Backwell et al. 1995; Kim et al. 2008) ou competição (De O. Rodrigues et al. 2016). Em nosso estudo, ela também parece estar relacionada com a temperatura da superfície. Por outro lado, elas podem ser construídas porque machos e fêmeas se tornam mais ativos na superfície com o aumento da temperatura. Muitos organismos ectotérmicos se aquecem sob o sol para alcançar maior temperatura corporal para um desempenho ótimo (Barnard et al. 2012; Kuyucu et al. 2018) embora em dias muito quentes, temperatura corporal pode alcançar níveis deletérios (Allen et al. 2012; Darnell et al. 2015). Assim, após atingir uma temperatura corporal ótima, os machos de *L. leptodactyla* poderiam investir no aumento da eficácia reprodutiva através da construção de cúpulas em temperaturas mais altas. Este comportamento já foi observado em outros grupos, como, por exemplo, em aranhas saltadoras (*Habronattus clypeatus*), as fêmeas são mais prováveis permitir que os machos avancem para o estágio final de corte e com maior taxa de sucesso reprodutivo nas temperatura mais altas (Brandt et al. 2018).

As tocas com cúpulas mantiveram temperaturas mais frias nas camadas superiores (até 20 mm) quando comparado as tocas sem cúpulas nas mesmas camadas; porém nas camadas mais profundas (a partir de 40 mm), não houve regulação da temperatura interna. Tais resultados corroboram em parte com as sugestões de Matthews (1930) de que as cúpulas construídas sobre a entrada da toca de *L. leptodactyla* poderiam manter temperaturas internas mais frias. Por outro

lado, mesmo as cúpulas possuindo temperaturas mais amenas nas camadas superficiais, não houve o efeito da diminuição da temperatura corporal ocasionado pelas cúpulas.

Os caranguejos chama-maré possuem suas atividades frequentemente limitadas por temperaturas extremas, enquanto defendendo suas tocas de outros machos ou se exibindo para fêmeas na superfície (Allen et al. 2012; Munguia et al. 2017). Estas variáveis ambientais podem afetar a distribuição dos organismos, a fisiologia (ex: locomoção, desidratação do músculo, osmolaridade) e sobrevivência (Allen et al. 2012; Principe et al. 2018). Por exemplo, o estresse de dissecação de $\pm 10\%$ em relação a massa corporal já pode levar uma redução na performance de locomoção em *L. pugilator* (Allen et al. 2012). Assim, o micro-habitat e o refúgio podem se tornar traços qualitativos na sobrevivência de organismos ectotérmicos em temperaturas extremas. Como outras espécies, os machos de *L. leptodactyla* frequentemente entram dentro das tocas para regular sua temperatura corporal. Embora os organismos possam mitigar algum grau de vulnerabilidade em temperaturas extremas através do comportamento (ex: seleção de microhabitats: Darnell et al. 2019; Chou et al. 2019), ou plasticidade fisiológica (ex: expressão de proteínas de choque térmicos – “*heat shock proteins*”; Gehring & Wehner 1995), a temperatura natural do habitat exerce grande influência nos animais ectotérmicos, como observado no presente estudo nos machos de *L. leptodactyla*.

Interessantemente, em nossas experimento de filmagens, os machos com cúpulas tiveram uma redução percentual de até 9,40% da temperatura corpórea, enquanto os machos sem cúpulas foram até 2,31% mais quentes do que o sedimento. Além disso, os machos com cúpulas permaneceram mais tempo fora das tocas, e fizeram mais movimentos de exibição do que os machos sem cúpulas. A combinação destes resultados demonstra que a presença das estruturas sedimentares pode ter impacto no comportamento e na temperatura corporal dos machos de *L. leptodactyla*. A construção de cúpulas é um comportamento custoso, que demanda tempo e energia diariamente, após subseqüentes marés (Matsumasa et al. 2013). Em *Leptuca beebei*, por exemplo, machos que constroem pilares gastam mais tempo em sinais de exibição (cortejo) do que machos não construtores (Christy 1988). Ao entrar na toca, os caranguejos chama-maré minimizam as chances de reproduzir, como custo de regular sua temperatura corporal (Powers & Cole 1976; Allen et al. 2012). Os machos de *L. leptodactyla* construtores de cúpulas parecem maximizar o seu tempo fora da toca, cortejando mais fêmeas, na tentativa de aumentar sua chance reprodutiva do que os machos sem cúpulas. Uma hipótese é que talvez os machos com cúpula de *L. leptodactyla* podem usar das temperaturas mais amenas nas camadas superficiais das tocas (até 20 mm), regulando sua temperatura corporal mais rápido que os machos sem cúpulas, sem necessidade de recuar até o fundo, sem permanecer muito tempo dentro das tocas. A falta de

significância entre a temperatura corporal dos machos com e sem cúpulas no experimento 2.3 pode ser devido ao efeito de amortecimento (“*buffer*”) da temperatura corporal dos machos medidos. Por exemplo, neste experimento, embora tenhamos selecionados somente machos que estavam ativos fora das tocas, nós não temos certeza quanto tempo eles ficaram expostos antes das medições. Por outro lado, nos machos das filmagens, é notório que eles permaneceram quase todo o tempo expostos antes das medições da temperatura (pelo menos 1500 segundos). Embora os resultados do experimento 2.3 possam ser importantes para explicar as diferenças nas temperaturas das camadas internas das tocas com e sem cúpula, a incerteza de tempo em que os machos de *L. leptodactyla* permaneceram expostos pode mascarar importantes diferenças de temperatura corporal que conseguimos controlar no experimento de filmagem dos comportamentos. Assim, nos machos de *L. leptodactyla*, a cúpula parece ter evoluído para elucidar importantes funções comportamentais e fisiológicas acima do solo.

5.2 Mudanças de cor de machos com e sem cúpulas e a relação com a temperatura

Em relação a coloração, nossos resultados demonstram dois potenciais processos que determinam a mudança de cor nos machos de *L. leptodactyla*: a relação com a temperatura corporal, e o efeito comportamental associado à construção de estruturas sedimentares. Estes resultados indicam um efeito comportamental multifuncional da cor, exercendo papéis importantes na sinalização sexual e termorregulação.

A coloração dos organismos pode desempenhar importante papel na termorregulação, principalmente em organismos ectotérmicos que são restringidos pelas altas temperaturas (Darnell et al. 2013). Nosso experimento 2.3 mostrou que a carapaça e o quelípodo dos machos de *L. leptodactyla* foram ligeiramente menos ricos em cor ou mais pálidos (menos saturados), com o aumento da temperatura do corpo. A associação da correlação da saturação com a temperatura do corpo pode ser um importante indicativo de alteração de saturação como possível mecanismo termorregulador. Mecanismos de mudança de cor em curtos períodos de tempo podem auxiliar os machos a ficarem mais tempo expostos durante a maré baixa, sem alcançar seus limites termais em temperaturas extremas (Allen et al. 2012; Darnell et al. 2013).

Estudos têm mostrado que indivíduos mais escuros são aptos a acumular maior radiação solar e aumentar sua temperatura corpórea, enquanto indivíduos mais claros podem ter vantagens em evitar temperaturas letais (Wilkins & Fingerman 1965; Kronstadt et al. 2013; Kuyucu et al. 2018). As mudanças de cor em relação à temperatura ocorrem através de rápidas respostas dos cromatóforos (Silbiger & Munguia 2008), presumivelmente através do aumento da concentração

dos pigmentos escuros, enquanto que há uma dispersão dos pigmentos brancos, levando uma maior refletância dos raios solares, e menor absorção de calor (Fingerman 1997; Umbers et al. 2014). Em *L. leptodactyla*, onde a reprodução é quase restrita ao verão (Masunari 2012), machos de coloração mais claras que vivem em áreas não vegetadas podem se beneficiar de uma proteção passiva ao superaquecimento. Nossos resultados das métricas de cor do experimento pareado sob a incidência solar mostraram que os machos mais escuros foram mais ricos em cor (mais saturados) do que os machos claros. Eles esquentaram mais rápido e tiveram maior temperatura corporal final (39,5 °C) do que os machos mais claros (37,9 °C) – em média $1,06\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,88$ (Figura 10). Mudanças na temperatura corporal de 0,5 – 1 °C podem ter um efeito substancial no desempenho dos machos, especialmente em temperaturas extremamente quentes próximos a seu limite térmico (Darnell et al. 2013). Por outro lado, ao final dos experimentos, os machos em geral diminuíram sua saturação, indicando possíveis respostas ao estresse térmico. Similarmente, em nossas filmagens, os machos com cúpulas tiveram maior brilho e menor saturação na carapaça, e consequentemente menor temperatura corporal. Nos chama-maré, a diminuição da saturação (carapaças mais pálidas/opacas em cor) e maior brilho (o quão claro ou escuros os caranguejos podem ser) podem estar relacionados com mecanismos termorregulatórios. Por exemplo, em *Austruca lactea*, as carapaças dos machos foram mais brancas (maior brilho) em meses mais quentes e menos brancas (menor brilho) nos meses mais frios (Takeshita 2019). Estudos com os chama-maré mostram uma relação do brilho com a termorregulação (Silbiger & Munguia 2008; Kronstadt et al. 2013; Takeshita 2019). Neste contexto, foi demonstrado que em *L. pugilator*, indivíduos expostos a temperaturas quentes mudaram sua coloração da carapaça para cores mais claras, enquanto aqueles expostos a temperaturas baixas, uma coloração mais escura (Silbiger & Munguia 2008; Munguia et al. 2013). Além disso, em *M. pugnax*, caranguejos mais escuros alcançaram até 2 °C a mais na temperatura corporal, quando expostos a luz do sol se comparado a machos mais claros (Wilkins & Fingerman 1965). Assim, embora o brilho é o mais importante componente afetando a absorção da radiação solar (Smith et al. 2016), os efeitos combinados do brilho e da saturação da carapaça podem ser importantes preditores que explicam as estratégias que os machos de *L. leptodactyla* utilizam para controlar a temperatura corporal.

A diferença de cor entre os machos com e sem cúpula também pode estar relacionada com a sinalização sexual. Os caranguejos chama-maré machos são mais conspícuos do que as fêmeas, transmitindo informações importantes para as fêmeas durante a escolha sexual (Detto 2007; Cummings et al. 2008). Em *Afruca tangeri* por exemplo, em um canal de discriminação de cor na visão dos caranguejos chama-maré hipotético, a refletância (brilho) das partes internas do quelípodo (dátilo e pólex) apresentaram maior contraste com o céu azul, enquanto que as partes externas do quelípodo apresentam maior conspicuidade contra os fundos ligados a substratos

claros, escuros e vegetados (Cummings et al. 2008). Em nosso estudo, a combinação das métricas de cor dos machos de *L. leptodactyla* talvez possa gerar um maior contraste com o fundo (“background”) da cúpula ou sedimento arenoso (mais claros), sinalizando que seus portadores estão aptos a se reproduzir. Por exemplo, um maior brilho da carapaça e/ou uma coloração mais conspícua da carapaça (ex: menor verde em cor) e do quelipodo (ex: maior saturação) nos machos com cúpulas podem garantir maior detectabilidade ao receptor, mesmo em longas distâncias. Neste contexto, os lagartos voadores (*Draco sumatranus*) são capazes de orientar sua barbel (“dewlap”) de acordo com a posição do sol, aumentando a refletância nos comprimentos de ondas da luz azul e UV, resultando em um maior contraste de sua barbel em relação ao habitat, aumentando a conspicuidade do sinal (Klomp et al. 2017).

Nosso estudo foi conduzido durante o pico reprodutivo de *L. leptodactyla*, entre os meses quentes de verão (Masunari 2012; De O. Rodrigues et al. 2016). Em razão das altas temperaturas se sobreporem com a reprodução, nós encontramos que a coloração nos machos de *L. leptodactyla* pode apresentar um efeito sinérgico com a construção das estruturas sedimentares. Os machos ajustaram a coloração da carapaça em relação as variações da temperatura corporal. Além disso, os machos claros foram menos quentes sob a incidência solar, enquanto os machos com cúpulas tiveram menor temperatura corpórea em relação a temperatura da superfície no experimento das filmagens. Através de nosso conjunto de experimentos, nos ressaltamos a importância das métricas de cor no controle térmico dos machos de *L. leptodactyla*. O brilho e a saturação podem ser os maiores percursores na regulação térmica dos machos construtores de cúpulas de *L. leptodactyla*.

5.3 Conclusão

Os machos de *L. leptodactyla* constroem cúpulas acima de suas tocas, e estas estruturas fornecem menores temperaturas nas camadas superiores das tocas. Além disso, os machos tendem a ajustar sua saturação em maiores temperaturas, e machos com cores mais claras aqueceram menos que os machos de cor mais escuras (mais saturados) quando expostos ao sol. Estes resultados demonstram a importância das cúpulas e da cor com possíveis mecanismos termorregulatórios dos machos de *L. leptodactyla*.

Na natureza, no entanto, organismos respondem aos estímulos de maneira simultânea. Neste sentido, a combinação da presença da cúpula *plus* coloração garantiu que os machos tivessem menores temperaturas corporais e ficassem mais tempo expostos em atividade sob a superfície. Portanto, sugerimos que ambos atributos combinados, cúpula *plus* coloração, são selecionados para a termorregulação dos machos de *L. leptodactyla*, o que permite a esta espécie habitar bancos arenosos não vegetados, limitados pelas altas temperaturas. Assim, da mesma forma que outras características comportamentais, o efeito sinérgico da cor e a presença das estruturas sedimentares

podem permitir que os machos permaneçam na superfície expostos por períodos mais longos, aumentando o sucesso reprodutivo, mesmo que esta sinergia não tenha funções fisiológicas primárias na termorregulação. É importante ressaltar que experimentos comportamentais e fisiológicos combinados são necessários para explicar os mecanismos evolutivos por trás das cúpulas e da coloração e de outros comportamentos observados nos caranguejos chama-maré.

6.Referências

- Allen BJ, Rodgers B, Tuan Y, Levinton JS (2012) Size-dependent temperature and desiccation constraints on performance capacity: Implications for sexual selection in a fiddler crab. *J Exp Mar Bio Ecol* 438:93–99. doi: 10.1016/j.jembe.2012.09.009
- Backwell PRY, Jennions MD, Christy JH, Schober U (1995) Pillar building in the fiddler crab *Uca beebei*: evidence for a condition-dependent ornament. *Behav Ecol Sociobiol* 36:185–192. doi: 10.1007/BF00177795
- Bailey NW (2012) Evolutionary models of extended phenotypes. *Trends Ecol Evol* 27:561–569. doi: 10.1016/j.tree.2012.05.011
- Barnard ME, Strandburg-Peshkin A, Yarett IR, Merz RA (2012) The blue streak: A dynamic trait in the mud fiddler crab, *Uca pugnax*. *Invertebr Biol* 131:52–60. doi: 10.1111/j.1744-7410.2011.00256.x
- Berglund A, Bisazza A, Pilastro A (1996) Armaments and ornaments. *Biol J Linn Soc* 58:385–399
- Bortolotti GR, Mougeot F, Martinez-Padilla J, et al (2009) Physiological stress mediates the honesty of social signals. *PLoS One* 4:1–8. doi: 10.1371/journal.pone.0004983
- Brandt EE, Kelley JP, Elias DO (2018) Temperature alters multimodal signaling and mating success in an ectotherm. *Behav Ecol Sociobiol* 72:191. doi: 10.1007/s00265-018-2620-5
- Burchett WW, Ellis AR, Harrar SW, Bathke AC (2017) Nonparametric Inference for Multivariate Data: The R Package nrmv. *J Stat Softw* 76:. doi: 10.18637/jss.v076.i04
- Caro T (2018) The functional significance of coloration in crabs. *Biol J Linn Soc* 124:1–10. doi: 10.1093/biolinnean/bly021/4951350
- Chou C-C, Perez DM, Johns S, et al (2019) Staying cool: the importance of shade availability for tropical ectotherms. *Behav Ecol Sociobiol* 73:106. doi: 10.1007/s00265-019-2721-9
- Christy JH (2002) Mimicry, mate choice, and the sensory trap hypothesis. *Am Nat* 146:171–181. doi: 10.1086/285793
- Christy JH (1988) Pillar function in the fiddler crab *Uca beebei* (II): competitive courtship signaling. *Ethology* 78:113–128. doi: 10.1111/j.1439-0310.1988.tb00223.x
- Christy JH, Backwell PRY (2006) No preference for exaggerated courtship signals in a sensory trap. *Anim Behav* 71:1239–1246. doi: 10.1016/j.anbehav.2005.11.008
- Christy JH, Backwell PRY, Goshima S (2001) The design and production of a sexual signal: hoods and hood building by male fiddler crabs *Uca musica*. *Behaviour* 138:1065–1083. doi: 10.1163/156853901753287145
- Crane, J., 1975. *Fiddler crabs of the world, Ocypodidae: genus Uca*. Princeton University Press.
- Cook SE, Vernon JG, Bateson M, Guilford T (1994) Mate choice in the polymorphic African swallowtail

- butterfly, *Papilio dardanus*: male-like females may avoid sexual harassment. *Anim. Behav.* 47:389–397
- Cummings ME, Jordão JM, Cronin TW, Oliveira RF (2008) Visual ecology of the fiddler crab, *Uca tangeri*: effects of sex, viewer and background on conspicuousness. *Anim Behav* 75:175–188. doi: 10.1016/j.anbehav.2007.04.016
- Cuthill IC, Allen WL, Arbuckle K, et al (2017) The biology of color. *Science* (80-) 357:. doi: 10.1126/science.aan0221
- Darnell MZ (2012) Ecological physiology of the circadian pigmentation rhythm in the fiddler crab *Uca panacea*. *J Exp Mar Bio Ecol* 426–427:39–47. doi: 10.1016/j.jembe.2012.05.014
- Darnell MZ, Backwell PRY, Stockbridge J, et al (2019) Thermal and desiccation constraints drive territory preference in fiddler crabs. *J Exp Mar Bio Ecol* 518:151173. doi: 10.1016/j.jembe.2019.05.013
- Darnell MZ, Fowler KK, Munguia P (2013) Sex-specific thermal constraints on fiddler crab behavior. *Behav Ecol* 24:997–1003. doi: 10.1093/beheco/art006
- Darnell MZ, Munguia P (2011) Thermoregulation as an alternate function of the sexually dimorphic fiddler crab claw. *Am Nat* 178:419–428. doi: 10.1086/661239
- Darnell MZ, Nicholson HS, Munguia P (2015) Thermal ecology of the fiddler crab *Uca panacea*: thermal constraints and organismal responses. *J Therm Biol* 52:157–165. doi: 10.1016/j.jtherbio.2015.06.004
- Dawkins, R., 1982. *The extended phenotype*. Oxford: Oxford University Press.
- De Grande FR, Cannicci S, Costa TM (2018) Can fiddler crabs detect underwater predators? A laboratory test with *Leptuca thayeri*. *Ethol Ecol Evol* 00:1–12. doi: 10.1080/03949370.2018.1503196
- De O. Rodrigues R, Costa TM, E. Barreto R (2016) Burrow ornamentation in the fiddler crab (*Uca leptodactyla*): female mate choice and male–male competition. *Mar Freshw Behav Physiol* 49:317–325. doi: 10.1080/10236244.2016.1223784
- DeRivera CE (2005) Long searches for male-defended breeding burrows allow female fiddler crabs, *Uca crenulata*, to release larvae on time. *Anim Behav* 70:289–297. doi: 10.1016/j.anbehav.2004.10.027
- Detto T (2007) The fiddler crab *Uca mjoebergi* uses colour vision in mate choice. *Proc R Soc B Biol Sci* 274:2785–2790. doi: 10.1098/rspb.2007.1059
- Detto T, Backwell PRY (2009) The fiddler crab *Uca mjoebergi* uses ultraviolet cues in mate choice but not aggressive interactions. *Anim Behav* 78:407–411. doi: 10.1016/j.anbehav.2009.05.014
- Detto T, Hemmi JM, Backwell PRY (2008) Colouration and colour changes of the fiddler crab, *Uca capricornis*: A descriptive study. *PLoS One* 3:1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0001629
- Duarte RC, Flores AAV, Stevens M (2017) Camouflage through colour change: mechanisms, adaptive value and ecological significance. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 372:. doi: 10.1098/rstb.2016.0342

- Duarte RC, Stevens M, Flores AAV (2016) Shape, colour plasticity, and habitat use indicate morph-specific camouflage strategies in a marine shrimp. *BMC Evol Biol* 16:1–15. doi: 10.1186/s12862-016-0796-8
- Fingerman M (1997) Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective, and introspective analysis. *Physiol Zool* 70:257–269. doi: 10.1086/639593
- Gehring WJ, Wehner R (1995) Heat shock protein synthesis and thermotolerance in *Cataglyphis*, an ant from the Sahara desert. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:2994–2998. doi: 10.1073/pnas.92.7.2994
- Johnstone RA (1995) Sexual selection, honest advertisement and the handicap principle: reviewing the evidence. *Biol Rev* 70:1–65. doi: 10.1111/j.1469-185X.1995.tb01439.x
- Kang C, Kim YE, Jang Y (2016) Colour and pattern change against visually heterogeneous backgrounds in the tree frog *Hyla japonica*. *Sci Rep* 6:1–12. doi: 10.1038/srep22601
- Kim TW, Christy JH, Choe JC (2007) A preference for a sexual signal keeps females safe. *PLoS One* 2:3–6. doi: 10.1371/journal.pone.0000422
- Kim TW, Lee JH, Choe JC (2017) Not all crabs are created equal: diverse evolutionary paths of female preferences for courtship structures in fiddler crabs (genus *Uca*). *Behav Ecol Sociobiol* 71:. doi: 10.1007/s00265-016-2235-7
- Kim TW, Sakamoto K, Henmi Y, Choe JC (2008) To court or not to court: reproductive decisions by male fiddler crabs in response to fluctuating food availability. *Behav Ecol Sociobiol* 62:1139–1147. doi: 10.1007/s00265-007-0542-8
- Klomp DA, Stuart-Fox D, Das I, Ord TJ (2017) Gliding lizards use the position of the sun to enhance social display. *Biol Lett* 13:9–12. doi: 10.1098/rsbl.2016.0979
- Kronstadt SM, Darnell MZ, Munguia P (2013) Background and temperature effects on *Uca panacea* color change. *Mar Biol* 160:1373–1381. doi: 10.1007/s00227-013-2189-5
- Kuyucu AC, Sahin MK, Caglar SS (2018) The relation between melanism and thermal biology in a colour polymorphic bush cricket, *Isophya rizeensis*. *J Therm Biol* 71:212–220. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.11.017
- Lahti DC, Ardia DR (2016) Shedding light on bird egg color: pigment as parasol and the dark car effect. *Am Nat* 187:547–563. doi: 10.1086/685780
- Laland K, Odling-Smee J, Turner S (2014) The role of internal and external constructive processes in evolution. *J. Physiol.* 592:2413–2422
- Machado GBO, Gusmão-Junior JBL, Costa TM (2013) Burrow morphology of *Uca uruguayensis* and *Uca leptodactylus* (Decapoda: Ocypodidae) from a subtropical mangrove forest in the western Atlantic. *Integr Zool* 8:307–314. doi: 10.1111/j.1749-4877.2012.00297.x
- Marshall KLA, Stevens M (2014) Wall lizards display conspicuous signals to conspecifics and reduce

- detection by avian predators. *Behav Ecol* 25:1325–1337. doi: 10.1093/beheco/aru126
- Masunari S (2012) Hood construction as an indication of the breeding period of the fiddler crab *Uca* (*Leptuca*) *leptodactyla* Rathbun, 1898 (Decapoda, Ocypodidae) from Guaratuba Bay, southern Brazil. *Crustaceana* 85:1153–1169. doi: 10.1163/156854012X651277
- Matsumasa M, Murai M, Christy JH (2013) A low-cost sexual ornament reliably signals male condition in the fiddler crab *Uca beebei*. *Anim Behav* 85:1335–1341. doi: 10.1016/j.anbehav.2013.03.024
- Matthews LH (1930) LXVI.— Notes on the fiddler-crab , *Uca leptodactyla*, Rathbun. *Ann Mag Nat Hist* 5:659–663. doi: 10.1080/00222933008673178
- McDiarmid CS, Friesen CR, Ballen C, Olsson M (2017) Sexual coloration and sperm performance in the Australian painted dragon lizard, *Ctenophorus pictus*. *J Evol Biol* 30:1303–1312. doi: 10.1111/jeb.13092
- McGraw KJ, Hill GE, Parker RS (2005) The physiological costs of being colourful: Nutritional control of carotenoid utilization in the American goldfinch, *Carduelis tristis*. *Anim Behav* 69:653–660. doi: 10.1016/j.anbehav.2004.05.018
- Melo, G. A. S., 1996. *Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro*. Editora Plêiade; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.
- Mowles SL, Jennions M, Backwell PRY (2017) Multimodal communication in courting fiddler crabs reveals male performance capacities. *R Soc Open Sci* 4:. doi: 10.1098/rsos.161093
- Munguia P, Backwell PRY, Darnell MZ (2017) Thermal constraints on microhabitat selection and mating opportunities. *Anim Behav* 123:259–265. doi: 10.1016/j.anbehav.2016.11.004
- Munguia P, Levinton JS, Silbiger NJ (2013) Latitudinal differences in thermoregulatory color change in *Uca pugilator*. *J Exp Mar Bio Ecol* 440:8–14. doi: 10.1016/j.jembe.2012.11.010
- Polo-Cavia N, Gomez-Mestre I (2017) Pigmentation plasticity enhances crypsis in larval newts: associated metabolic cost and background choice behaviour. *Sci Rep* 7:1–10. doi: 10.1038/srep39739
- Powers LW, Cole JF (1976) Temperature variation in fiddler crab microhabitats. *J Exp Mar Bio Ecol* 21:141–157. doi: 10.1016/0022-0981(76)90035-6
- Principe SC, Augusto A, Costa TM (2018) Differential effects of water loss and temperature increase on the physiology of fiddler crabs from distinct habitats. *J Therm Biol* 73:14–23. doi: 10.1016/j.jtherbio.2018.02.004
- Pulikova G, Lameris TK, Kamp J, et al (2015) Functions of extensive animal dung “pavements” around the nests of the Black Lark (*Melanocorypha yeltoniensis*). *Auk* 132:878–892. doi: 10.1642/auk-15-38.1
- Reaney LT, Backwell PRY (2007) Temporal constraints and female preference for burrow width in the fiddler crab, *Uca mjoebergi*. *Behav Ecol Sociobiol* 61:1515–1521. doi: 10.1007/s00265-007-0383-5

- Schaedelin FC, Taborsky M (2009) Extended phenotypes as signals. *Biol Rev* 84:293–313. doi: 10.1111/j.1469-185X.2008.00075.x
- Shih H Te, Ng PKL, Davie PJF, et al (2016) Systematics of the family Ocypodidae Rafinesque, 1815 (Crustacea: Brachyura), based on phylogenetic relationships, with a reorganization of subfamily rankings and a review of the taxonomic status of *Uca* Leach, 1814, sensu lato and its subgenera. *Raffles Bull Zool* 64:139–175
- Silbiger N, Munguia P (2008) Carapace color change in *Uca pugilator* as a response to temperature. *J Exp Mar Bio Ecol* 355:41–46. doi: 10.1016/j.jembe.2007.11.014
- Simpson RK, McGraw KJ (2018) It's not just what you have, but how you use it: solar-positional and behavioural effects on hummingbird colour appearance during courtship. *Ecol Lett* 21:1413–1422. doi: 10.1111/ele.13125
- Slatyer RA, Fok ESY, Hocking R, Backwell PRY (2008) Why do fiddler crabs build chimneys? *Biol Lett* 4:616–618. doi: 10.1098/rsbl.2008.0387
- Smith KR, Cadena V, Endler JA, et al (2016) Colour change on different body regions provides thermal and signalling advantages in bearded dragon lizards. *Proc R Soc B Biol Sci* 283:1–9. doi: dx.doi.org/10.1098/rspb.2016.0626
- Stevens M, Lown AE, Wood LE (2014a) Camouflage and individual variation in shore crabs (*Carcinus maenas*) from different habitats. *PLoS One* 9:1–31. doi: 10.1371/journal.pone.0115586
- Stevens M, Lown AE, Wood LE (2014b) Color change and camouflage in juvenile shore crabs *Carcinus maenas*. *Front Ecol Evol* 2:1–14. doi: 10.3389/fevo.2014.00014
- Stone GN, Cook JM (1998) The structure of cynipid oak galls: patterns in the evolution of an extended phenotype. *Proc R Soc B Biol Sci* 265:979–988. doi: 10.1098/rspb.1998.0387
- Takeshita F (2019) Color changes of fiddler crab between seasons and under stressful conditions: patterns of changes in lightness differ between carapace and claw. *J Exp Mar Bio Ecol* 511:113–119. doi: 10.1016/j.jembe.2018.12.001
- Takeshita F, Murai M, Matsumasa M, Henmi Y (2018) Multimodal signaling in fiddler crab: waving to attract mates is condition-dependent but other sexual signals are not. *Behav Ecol Sociobiol* 72:. doi: 10.1007/s00265-018-2555-x
- Troscianko J, Stevens M (2015) Image calibration and analysis toolbox - a free software suite for objectively measuring reflectance, colour and pattern. *Methods Ecol Evol* 6:1320–1331. doi: 10.1111/2041-210X.12439
- Turner, J. S., 2000. *The extended organism: the physiology of animal-built structures*. Harvard University Press.
- Umbers KDL, Fabricant SA, Gawryszewski FM, et al (2014) Reversible colour change in Arthropoda. *Biol*

Rev 89:820–848. doi: 10.1111/brv.12079

Wada K, Murata I (2000) Chimney building in the fiddler crab *Uca arcuata*. J Crustac Biol 20:505–509. doi: 10.1651/0278-0372(2000)020[0505:cbitfc]2.0.co;2

Wilkins JL, Fingerman M (1965) Heat tolerance and temperature relationships of the fiddler crab , *Uca pugilator* , with reference to body coloration. Biol Bull 128:133–141. doi: doi.org/10.2307/1539396

Zhu Z, Won Kim T, Choe JC (2012) Is female preference for large sexual ornaments due to a bias to escape predation risk? BMC Evol. Biol. 12