

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) e os possíveis impactos populacionais do derramamento de óleo

Lucas Nunes da Silva

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Akemi Shinozaki Mendes
Co-Orientador: Prof. Dr. Mauro de Melo Junior

Recife, 2022

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA**

LINHA DE PESQUISA

AQUICULTURA SUSTENTÁVEL

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) e os possíveis impactos populacionais do derramamento de óleo

LUCAS NUNES DA SILVA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em conformidade às exigências para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Dr. Renata Akemi Shinozaki Mendes

Co-orientador: Dr. Mauro de Melo Junior

Recife, 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S586e Nunes da Silva, Lucas
Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) e os possíveis impactos populacionais do derramamento de óleo / Lucas Nunes da Silva. - 2022.
109 f. : il.
- Orientador: Renata Akemi
Shinozaki Mendes.
Coorientador: Mauro de Melo
Junior.
Inclui referências e apêndice(s).
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Recife, 2022.
1. Caranguejo. 2. embriologia. 3. ontogenia. 4. derramamento de óleo. 5. larva de caranguejo. I. Mendes, Renata Akemi Shinozaki, orient. II. Junior, Mauro de Melo, coorient. III. Título

CDD 639.3

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA**

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) e os possíveis impactos populacionais do derramamento de óleo

LUCAS NUNES DA SILVA

Esta tese foi julgada para obtenção do título de Doutor em Recursos Pesqueiros e Aquicultura e aprovada em 25/08/2022 pelo Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, em sua forma final.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Francisco Marcante Santana (Membro Externo)

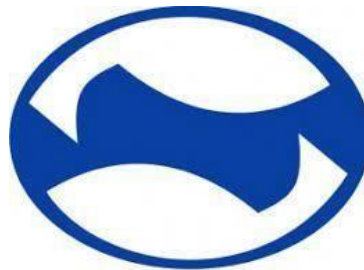
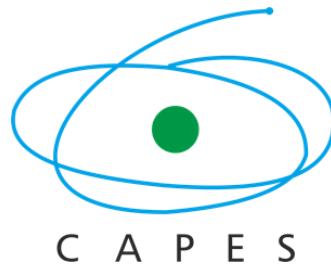
Dra. Simone de Albuquerque Lira (Membro Externo)

Dr. Paulo Guilherme Vasconcelos de Oliveira (Membro Interno)

Dra. Rosângela Paula Teixeira Lessa (Membro Interno)

Jesser Fidelis de Souza Filho

Recife, 2022



Dedicatória:

Essa tese é dedicada aos meus pais e aos meus irmãos.

Eu sou, porque eles são.

Agradecimentos:

- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado;
- À Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo suporte através do Programa “Pesquisa em Movimento”, e ao Programa de Recursos Pesqueiros e Aquicultura (DEPAq) pela bolsa de apoio à pós-graduação (PROAP) durante todo o período de desenvolvimento do presente trabalho;
- Ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Marinha do Nordeste (CEPENE), pelo apoio e suporte para o desenvolvimento da pesquisa
- À minha querida orientadora, Renata Akemi Shinozaki Mendes, por acreditar na minha capacidade e me acompanhar desde os primeiros passos científicos;
- Ao meu querido coorientador, Mauro de Melo Junior, pela forma gentil e humana de guiar seus alunos;
- À banca examinadora do trabalho, os professores Francisco Marcante Santana, Paulo Guilherme Vasconcelos de Oliveira, Rosângela Paula Teixeira Lessa e a pesquisadora Dra.^a Simone de Albuquerque Lira, tenho total respeito e admiração pela carreira e história acadêmica de vocês;
- Infinita gratidão a todos os amigos que me acompanharam durante essa jornada, que sempre se fizeram presentes de alguma forma, em especial a Diego Cezar, Kadja Luana, Marília Andrade, Mariana Andrade e Tatiana Beltrão;
- E, finalmente, agradeço a todos que de certa forma contribuíram para a minha formação e conclusão deste trabalho.

Minha mãe me deu ao mundo de maneira
singular, me dizendo na sentença pra eu
sempre pedir licença, mas nunca deixar
de entrar.

(Caetano Veloso)

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DO DISCENTE

NOME COMPLETO: Lucas Nunes da Silva			
FILIAÇÃO: Maria Helena Nunes de Queiroz e Severino Amaro da Silva			
CPF: 101.675.474-45	IDENTIDADE: 8.754.857	ÓRGÃO EXPEDIDOR: SDS	DATA EXPEDIÇÃO: 13/02/2020
DATA DE NASCIMENTO: 01/01/1993	TÍTULO DE ELEITOR: 0844 2779 0850	LOCAL: Flores/047	ZONA: 067
NACIONALIDADE: Brasileiro	NATURALIDADE: Custódia/PE	SEXO: M (x) F ()	VISTO PERMANENTE: SIM () NÃO (x)
ENDEREÇO RESIDENCIAL: Rua General Polidoro, n 380, Apartamento 01, Bloco G.			
BAIRRO: Várzea	CEP: 50.740-050	CIDADE: Recife	UF: PE
PAÍS: Brasil	DDD: 87	TELEFONE: 996109191	E-MAIL: lucas.ns93@live.com
FORMAÇÃO ACADÊMICA			
GRADUAÇÃO: Bacharelado em Engenharia de Pesca	ANO INÍCIO: 2010.1	ANO TÉRMINO: 2015.1	
INSTITUIÇÃO: Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada			

FICHA IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO AO QUAL A TESE ESTÁ VINCULADO

NOME DO PROJETO: Embriologia e ontogenia do aratu <i>Goniopsis cruentata</i> (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) e os possíveis impactos populacionais do derramamento de óleo	
COORDENADOR: Renata Akemi Shinozaki Mendes	
LINHA DE PESQUISA: - PESCA SUSTENTÁVEL (x) - AQUICULTURA SUSTENTÁVEL () - ECOLOGIA AQUÁTICA - CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PESCADO () - SANIDADE DE ANIMAIS AQUÁTICOS () - PROJETO ISOLADO ()	
ANO DE INÍCIO: Março/2018	DECISÃO DO CTA:
ÓRGÃO FINANCIADOR: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)	

SUMÁRIO

Resumo	15
Abstract	16
INTRODUÇÃO GERAL	17
REFERÊNCIAS	21
ARTIGO I: Morfologia e desenvolvimento de ovos e embriões do grapsídeo de importância econômica, <i>Goniopsis cruentata</i> (Latreille) (Crustacea, Brachyura)	25
INTRODUÇÃO	26
MATERIAL E MÉTODOS	27
Área de Coleta	28
Procedimentos em campo	29
Morfometria geométrica dos ovos	30
Caracterização dos períodos	30
RESULTADOS	31
DISCUSSÃO	35
REFERÊNCIAS	40
ARTIGO II: Differentially expressed morphological characters depend on sex and ontogenetic stage in the crab <i>Goniopsis cruentata</i> (Latreille, 1803) (Crustacea: Grapsidae)	45
INTRODUCTION	45
MATERIALS AND METHODS	48
Study area and laboratory procedures	48
Statistical analyses	51
RESULTS	53
Linear Morphometry	53
Geometrical morphometry	57
DISCUSSION	61
Linear Morphometry	62
Geometrical morphometry	63
CONCLUSION	68
REFERENCES	69
ARTIGO III: Os efeitos dos desastres ambientais no desenvolvimento ontogênico dos crustáceos: Um estudo de caso com a espécie <i>Goniopsis cruentata</i> capturada em área afetada por derramamento de óleo	81
INTRODUÇÃO	82
MATERIAL E MÉTODOS	84
Área de coleta	84

Captura dos indivíduos e cultivo das larvas:	85
Análise laboratorial	86
Análise estatísticas	88
RESULTADOS	89
Morfometria linear	89
Morfometria geométrica	92
Sobrevivência larval e efeito crônico	98
DISCUSSÃO	99
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
APENDICE A	108

Lista de Figuras:

Artigo I:

Figura 1: Mapa de localização do manguezal de estuário tropical, localizado em Tamandaré na cidade de Tamandaré (Nordeste do Brasil), local de coleta do caranguejo *Goniopsis cruentata*, entre fevereiro/2019 e janeiro/2020..... **1**

Figura 2: Representação do desenvolvimento dos estágios embrionários do Caranguejo *Goniopsis cruentata* capturados em um manguezal estuarino tropical na cidade de Tamandaré (Nordeste do Brasil), entre fevereiro/2019 e janeiro/2020. p = pigmentos; c = cromatóforos; h = coração. Barra de escala = 280 μm **2**

Figura 3: Desenvolvimento embrionário do caranguejo *Goniopsis cruentata* capturado em um mangue estuarino tropical no Nordeste do Brasil, entre fevereiro/2019 e janeiro/2020. a = Mudança no tamanho (perímetro) do ovo durante o desenvolvimento embrionário; b = Mudanças no volume do ovo durante o desenvolvimento embrionário. **3**

Figure 4: Variância explicada pelos componentes principais (PCs) (a), scree plot da regressão segmentada indicando os dois primeiros PCs significativos (b), e variação da forma dos ovos nos eixos do PC1 e PC2 (c)..... **4**

Artigo II:

Figure 1: Location map of the tropical estuarine mangrove in the city of Tamandaré (Northeast Brazil), the collection site of the crab *Goniopsis cruentata*, between February/2019 and January/2020. Source: Google Earth..... **5**

Figure 2: Distribution scheme of anatomical landmarks and linear measurements of *Goniopsis cruentata* captured between February/2019 and January/2020 in a tropical estuarine mangrove at Tamandaré-Pernambuco. I = cheliped region, II = carapace region, III = pleon region, and IV = frontal region. SOURCE: Silva *et al.* (2021)..... **6**

Figure 3: Principal component analysis (PCA) of the species *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE) from February 2019 to January 2020. Ellipse 90% **7**

Figure 4. Thin-plate Splines of morphological variation based on discriminant analysis of males and females of *Goniopicis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE), from February 2019 to January 2020. The black line represents the first group, and the gray line represents the second group. Deformation scale 5.0. **8**

Figure 5. Morphological variation based on canonical variable analysis and ontogenetic trajectory based on multivariate symmetric component regression on the transformed centroid size of the pleon of female *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE), from February 2019 to January 2020.... **9**

Figure 6: Morphological variation based on canonical variable analysis and ontogenetic trajectory based on multivariate symmetric component regression on the

transformed centroid size of the cheliped of females and males of *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE), from February 2019 to January 2020.....

10

Artigo III:

Figura 1: Mapa de localização do manguezal de estuário tropical, localizado em Tamandaré na cidade de Tamandaré (Nordeste do Brasil), local de coleta do caranguejo *Goniopsis cruentata*, entre fevereiro/2019 e janeiro/2020.....

11

Figure 2: Distribuição dos marcos anatômicos e medidas lineares de *Goniopsis cruentata* capturados entre fevereiro/2019 e janeiro/2020 em um manguezal estuarino tropical em Tamandaré-Pernambuco. I = região do quelípede, II = região da carapaça, III = região do pleon e IV = região frontal.....

12

Figura 3: Gráfico de variação morfológica e deformação de grade da região dorsal e alocação correta dos espécimes através da análise discriminante para fêmeas e machos de *Goniopsis cruentata* capturados entre janeiro/2019 e janeiro/2020 na cidade de Tamandaré-PE.....

13

Figura 4: Gráfico de variação morfológica e deformação de grade da região do abdômen através da análise de variável canônica (AVC) e distribuição dos espécimes em relação ao eixo da AVC para fêmeas e machos de *Goniopsis cruentata* capturados entre janeiro/2019 e janeiro/2020 na cidade de Tamandaré-PE.....

14

Figura 5: Gráfico de variação morfológica e deformação de grade da região do quelípodo dos machos e fêmeas adultos através da análise de variável canônica (AVC) e distribuição dos espécimes em relação ao eixo da AVC, com elipse de 90% para *Goniopsis cruentata* capturados entre janeiro/2019 e janeiro/2020 na cidade de Tamandaré-PE. Círculo preto = Macho Adulto antes (MAa), Círculos cinza = Macho Adulto depois (Mad).....

15

Lista de Tabelas:

Artigo II

Table 1: Number of *Goniopsis cruentata* crabs captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE), from February 2019 to January 2020. N° = number of specimens analyzed; JF = juvenile female; AF = adult female; JM = juvenile male; AM = adult male..... **1**

Table 2: Linear relationships of the species *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE) from February 2019 to January 2020. F= female; M = male; a = adult, j = juvenile..... **2**

Artigo III

Tabela 1: Número e tamanho (LC) de caranguejos *Goniopsis cruentata* capturados na praia de Tamandaré-PE, no período de fevereiro de 2019 a janeiro de 2020. FJ = fêmea jovem; FA = fêmea adulta; MJ = macho jovem; MA = macho adulto; a = antes do derramamento e d = depois do derramamento..... **3**

Tabela 2: Relações morfométricas lineares da *Goniopsis cruentata* capturados na praia de Tamandaré-PE, no período de fevereiro de 2019 a janeiro de 2020. FJ = fêmea jovem; FA = fêmea adulta; MJ = macho jovem; MA = macho adulto; a = antes do derramamento e d = depois do derramamento. Quando não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) os grupos foram representados por uma única equação..... **4**

Resumo

O caranguejo *Goniopsis cruentata* é um caranguejo não-escavador, que vagueia pelo substrato entre as raízes do mangue durante a maré baixa, sendo considerado um alimentador generalista, ingerindo sedimentos orgânicos, algas, plantas e moluscos. Essa característica representa um elo importante no fluxo de energia para os ecossistemas manguezais, além de um importante papel na rotatividade de produção primária desses ambientes e estruturação e função do manguezal. No período de fevereiro de 2019 a janeiro de 2020 foram capturados 713 indivíduos (378 machos e 335 fêmeas) das quais as fêmeas ovigeras foram utilizadas para cultivos (± 16 fêmeas). O desenvolvimento e exploração do evento embrionário do caranguejo *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) foi estudado e descrito em laboratório através de descrição visual e técnicas de morfometria tradicional e geométrica. Essas técnicas também foram utilizadas para determinar variações de perspectiva intraespecífica, nos estágios jovens e adultos e entender como o derramamento de óleo nos oceanos, atua na morfologia dos caranguejos brachyuras (juvenis e adultos) e como esses eventos influenciam nos estágios iniciais de vida dos caranguejos. A sequência de alterações morfológicas observadas inicialmente no ovo e posteriormente no embrião permitiu descrever 9 fases embrionárias a partir do momento de mórula, processo relatado pela primeira vez para os grapsídeos: pré-extrusão, pré-clivagem, pós-clivagem, pré-naupliar, naupliar, metanaupliar, pigmentação ocular e abdominal, batimento cardíaco e pré-eclosão. Os ovos mostraram-se (forma elipsoidal) apenas para os ovos classificados como I período. Durante a embriogênese os ovos apresentaram aumento em seu diâmetro e volume de 15% e 50% respectivamente. Na análise intraespecífica, machos (M) e fêmeas (F) apresentaram alometria negativa ($\beta_0 < 1$) para todas as relações lineares com diferença ontogenética ($p < 0,01$) para todas as comparações. A vista dorsal os machos se apresentaram mais largos na região posterior do que as fêmeas. Além disso, na região abdominal fêmeas jovens apresentam forma triangulares e as adultas ovais, comportamento característico dos braquiúros. Em relação à forma dos quelípedes, observamos separação morfológica na comparação sexual (macho e fêmea) e lateralidade (direita x esquerda) ($p < 0,01$), sem variação ontogenética (adulto x jovem). Na comparação com efeito de ações antrópicas os padrões de distribuição de tamanho e forma de *G. cruentata* apresentaram diferenças perceptíveis, para técnicas de morfometria linear em todos os grupos (fêmea jovem, macho jovem, fêmea adulta e macho adulto), no entanto, esse padrão não foi notado para a geométrica, entre os períodos pré e pós-derramamento. Observou-se que concentração de 12,5% FSA apresentou a média mais elevada de mortalidade ($29\% \pm 26\%$), não diferindo da concentração controle ($17\% \pm 18\%$). Nossos dados mostram que as técnicas de morfometria linear associada à morfometria geométrica são eficazes na identificação de variações, podendo ser uma ferramenta útil e de fácil acesso na inferência de possíveis desequilíbrios ambientais ou, de outra forma, das consequências locais, além de auxiliar na quantificação de desastres provocados por incidentes. Os resultados obtidos auxiliarão a elucidar a compreensão de impactos ecológicos provocados por derramamentos de óleo, usado como ferramenta na tomada de decisões políticas e no gerenciamento ambiental de habitats de caranguejos para evitar danos e riscos ambientais.

PALAVRAS CHAVES: Caranguejo, Embriologia, Ontogenia, Derramamento de óleo, Larvas.

Abstract

The crab *Goniopsis cruentata* is a non-digging crab, which roams the substrate between the mangrove roots during low tide, being considered a generalist feeder, ingesting organic sediments, algae, plants and molluscs. This feature represents an important link in the flow of energy to mangrove ecosystems, as well as an important role in the turnover of primary production in these environments and the structuring and function of the mangrove. From February 2019 to January 2020, 713 individuals were captured (378 males and 335 females) of which the ovigerous females were used for cultivation (± 16 females). The development and exploration of the embryonic event of the crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) was studied and described in the laboratory through visual description and traditional and geometric morphometric techniques. These techniques were also used to determine variations in intraspecific perspective, in the juvenile and adult stages and to understand how human actions, oil spills in the oceans, act on the morphology of brachyura crabs (juveniles and adults) and the magnitude of how these events influence the stages. crab life initials The sequence of morphological changes observed initially in the egg and later in the embryo allowed the description of 9 embryonic phases from the moment of morula, a process reported for the first time for grapsids: pre-extrusion, pre-cleavage, post-cleavage, pre-naupliar, naupliar, metanaupliar, ocular and abdominal pigmentation, heartbeat and pre-hatch. The eggs were shown (ellipsoidal shape) only for eggs classified as I period. During embryogenesis the eggs showed an increase in their diameter and volume of 15% and 50% respectively. In the intraspecific analysis, males and females showed negative allometry ($\beta_0 < 1$) for all linear relationships with ontogenetic difference ($p < 0.01$) for all comparisons. In dorsal view, males were wider in the posterior region than females. In addition, in the abdominal region, young females are triangular in shape and adults are oval, a characteristic behavior of brachyurans. Regarding the shape of the chelipeds, we observed morphological separation in the sexual comparison (F x M) and laterality (R x L) ($p < 0.01$), without ontogenetic variation (A x Y). In the comparison with the effect of anthropic actions, the patterns of size and shape distribution of *G. cruentata* showed noticeable differences, for linear morphometric techniques in all groups (FY, MY, FA and MA), however, this pattern was not noticed for the geometric, between the pre- and post-spill periods. After a period of 48 hours of exposure of the larvae to ASF, to evaluate the acute effect of the oil, the mortality percentages ranged from 0 to 100% with a mean of $19 \pm 21\%$. It was observed that a concentration of 12.5% FSA had the highest mean mortality ($29\% \pm 26\%$), not differing from the control concentration ($17 \pm 18\%$) and the other treatments (Dunn, $p > 0.05$). Our data show that linear morphometric techniques associated with geometric morphometry are effective in identifying variations, even if not perceptible to the naked eye (as in determining the differentiation of different embryonic stages), and can be a useful and easily accessible tool in inference of possible environmental imbalances or, otherwise, of local consequences, in addition to helping to quantify disasters caused by incidents, given the size and complexity of aquatic systems. The results obtained in this will help to elucidate the understanding of ecological impacts caused by oil spills, used as a tool in political decision-making and in the environmental management of crab habitats to avoid environmental damage and risks.

KEY-WORDS: Crab, Embryology, Ontogeny, Oil Spill, Larvae.

INTRODUÇÃO GERAL

Os crustáceos são um grupo animal de sucesso evolutivo, apresentando um grande número de espécies viventes e que conquistou diferentes habitats, sejam marinhos, terrestres ou dulcícolas (SASTRY, 1983). De acordo com Ng *et al.* (2008), a maior diversidade registrada dentre os crustáceos pertence à ordem Decapoda, que conta com cerca de 1.200 gêneros e 10.000 espécies que distribuem em todos os habitats, predominantemente no ambiente marinho. Esse sucesso evolutivo acaba sendo refletido na diversidade de padrões de história de vida e estratégias reprodutivas apresentados por esse clado (SASTRY, 1983).

Pertencente à ordem Decapoda, a infraordem Brachyura é o grupo de caranguejos que exerce forte controle de topo nas cadeias alimentares estuarinas e que também exibe uma grande variação trófica (BRUSCA & BRUSCA, 2007), desta forma, apresentando, uma elevada importância ecológica nos ambientes de manguezais (SHAEFFER-NOVELLI, 1995). Os braquiúras contém todos os caranguejos verdadeiros, sendo composta por mais de 7.250 espécies em 104 famílias (DAVIE *et al.*, 2015; MA *et al.*, 2019).

Além disso, algumas espécies de caranguejos de manguezais apresentam relevante importância econômica, segundo as estatísticas pesqueiras para o estado de Pernambuco (CEPENE, 2000; IBAMA, 2008), destacando-se os caranguejos *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1825 (SHAEFFER-NOVELLI, 1995) e o *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803), popularmente conhecidos como caranguejo-uçá, guaiamum e aratu, respectivamente.

O *G. cruentata* é uma importante fonte de renda para as populações ribeirinhas (MOURA & COELHO, 2004), principalmente quando levado em consideração os estuários pernambucanos, e teve sua produção aumentada de 8,2 toneladas, em 1999, para 52 toneladas, em 2006 (SOUZA-FILHO, 2015). A pesca de aratu (*Goniopsis cruentata*, Latreille, 1803) no Brasil é realizada desde áreas de interior, como rios e lagos, até zonas costeiras, em estuários e manguezais. É uma das atividades de pesca de crustáceos realizadas na zona costeira do país, sendo fonte de sobrevivência de milhares de famílias situadas nessas áreas. Em Pernambuco é uma das principais atividades de pesca realizadas entre as comunidades do litoral norte do estado e se caracteriza como uma atividade de pesca de pequena escala, realizada para a subsistência e para fins econômicos normalmente associados a comércio locais.

Essa espécie se distribui em quase todo o Atlântico Ocidental, sendo encontrada das Bermudas até o Brasil, cuja distribuição ocorre do Pará à Santa Catarina, sendo encontrada,

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... inclusive, em Fernando de Noronha e no Atol das Rocas (MELO, 1996). O caranguejo *Goniopsis cruentata* é um caranguejo não-escavador, que vagueia pelo substrato entre as raízes do mangue durante a maré baixa, sendo considerado um alimentador generalista, ingerindo sedimentos orgânicos, algas, plantas e moluscos (LIMA-GOMES *et al.*, 2011). Essa característica representa um elo importante no fluxo de energia para os ecossistemas manguezais, além de um importante papel na rotatividade de produção primária desses ambientes (CAMILLETTI, 1992) e estruturação e função do manguezal através do consumo de propágulo de mangue (LEE, 1998). O seu hábito de escalar árvores faz com que durante as marés altas, o *Goniopsis cruentata* migre para a copa das árvores para evitar a predação por peixes carnívoros (WIEDEMEYER, 1997), mas também utiliza galhos e tocas como refúgios, ocupando praticamente todos os habitats potenciais no manguezal (COBO & FRANSOZO, 2003).

O aratu é uma espécie onívora, alimentando-se de folhas presentes no substrato, algas filamentosas aderidas às raízes do mangue, propágulo de mangue e predando jovens de outras espécies de caranguejo, como *Ucides cordatus* (Lira, 2013). Uma quantidade crescente de dados sugere que a relação entre os caranguejos grapsídeos e os manguezais é fortemente recíproca, com cada um influenciando o desempenho ou mesmo a sobrevivência do outro (LEE, 1998), sendo tido, desta forma, como espécies "chaves" nesses ecossistemas (SMITH *et al.* 1991).

O aratu, assim como os braquiúras, apresenta cópula na fase de intermuda (carapaça não rígida), o opérculo, presente no poro genital feminino, é descalcificado e, assim, o macho pode inserir o gonópodo, órgão sexual masculino, ocorrendo liberação de espermatozóides que serão armazenados na espermateca (ADIYODI, 1988), estrutura presente nas fêmeas. Após a fertilização, os ovos são formados e incubados no abdômen das fêmeas, onde os espécimes carregam os ovos presos aos pleópodes, formando uma massa de ovos (similar a um cacho de uva) (COBO & OKAMARI, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2017).

As fêmeas desta espécie protegem os ovos por tempo suficiente durante seu desenvolvimento, investindo grandes quantidades de energia no cuidado da ninhada para que o ovo contenha todos os nutrientes necessários (WEAR 1974; FERNÁNDEZ *et al.*, 2000). Em parte, a produção e o desenvolvimento dos ovos são limitados pelas condições climáticas, principalmente em espécies que habitam ambientes mais extremos (COBO & OKAMARI, 2008).

Em trabalhos anteriores Lira *et al* (2014) apontam que os principais traços do histórico de vida e as características da população de *G. cruentata* podem variar em uma escala espacial muito pequena, o que pode ajudar a elucidar ainda mais a biologia da natureza deste grupo. Alguns

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... trabalhos evidenciam que as condições ambientais do local desempenham variações fenotípicas entre populações que habitam diferentes latitudes, como mostrado por Lira *et al.* (2015), onde espécimes de *G. cruentata* de diferentes latitudes apresentam padrões alométricos divergentes de características sexuais, como tamanho de maturação e tamanho do corpo. Informações sobre a duração da incubação ovariana e o desenvolvimento embrionário de *A. cribrarius* seriam de grande utilidade numa avaliação produtiva em projetos de aqüicultura, pois a sobrevivência das larvas está intimamente relacionada às suas reservas vitelínicas (GIMÉNEZ & ANGER 2001). O potencial de cultivo dessa espécie já tem sido ressaltado na literatura, com destaque para sua fácil reprodução em cativeiro (PINHEIRO & FRANSOZO 1999) e alta fecundidade (PINHEIRO & TERCEIRO 2000)

Sendo assim, é importante entender como as espécies ajustam seus ciclos de vida para aproveitar os períodos com condições mais favoráveis para o seu desenvolvimento (SASTRY, 1983). Para explicar, entender e até mesmo prevê a dinâmica populacional de qualquer recurso, é necessário compreender os sistemas naturais, com isso, estudos sobre a embriologia e ontogenia apresentam grande potencial para fornecer informações em contextos taxonômicos e filogenéticos (POHLE & MARQUES 2000; MANTELATTO *et al.* 2004; VELA & GONZÁLEZ-GORDILLO 2016). Além disso, as descrições das fases de vida em Decapoda também contribuem para o avanço de estudos ecológicos, como por exemplo: entender as estratégias de vida, o recrutamento e a dinâmica populacional, incluindo a distribuição espaço-temporal das populações (GONZÁLEZ-GORDILLO & RODRIGUEZ 2000).

Alcançar esses objetivos é muitas vezes complicado devido aos altos níveis de variação interespecífica e intraespecífica em quase todas as métricas biológicas ou ecológicas (GRIFFEN & MOSBLACK, 2011). No entanto, reunir informações sobre a biologia de espécies-chaves de uma determinada região se faz necessário para compreender os processos que afetam o equilíbrio das comunidades ou de seus ecossistemas, o funcionamento dos organismos e suas relações ecológicas (KARR & JAMES, 1975).

Desta forma essa tese visa elucidar aspectos ecológicos e fisiológicos do aratu, quanto à sua estratégia de desenvolvimento e de crescimento durante o seu ciclo embrionário e ontogenético, explorando e descrevendo os períodos embrionário (quanto a sua forma, tamanho e volume) aspectos ainda não descritos para uma espécie de caranguejo arborícola, o *Goniopsis cruentata*, importante recurso pesqueiro, capturado no litoral sul de Pernambuco. Além de investigar a existência de correlação da forma e tamanho dentro da sua trajetória ontogenética, em uma perspectiva intraespecífica, nos estágios jovens e adultos. Ao mesmo tempo, o presente trabalho objetiva entender como ações antrópicas, derramamento de óleo nos oceanos, atua na

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... morfologia dos caranguejos brachyuras (juvenis e adultos) e a magnitude de como esses eventos influenciam nos estágios iniciais de vida dos caranguejos. Neste sentido, o conhecimento dos aspectos do desenvolvimento embrionário e ontogenético do *G. cruentata* visa contribuir para o entendimento de alguns aspectos biológicos, equilíbrio e/ou recuperação, manutenção e manejo, pautado no conhecimento das características populacionais, fundamentais para o desenvolvimento de políticas públicas visando a gestão, a preservação e a conservação da espécie.

OBJETIVOS:

Geral:

O presente trabalho tem por objetivo investigar o desenvolvimento embrionário e os períodos existentes na fase embrionária de uma espécie de caranguejo arborícola além de explorar a variação do tamanho e da forma através da técnica de morfometria linear e geométrica existente entre os sexos e estágios maturacionais e como ações antrópicas (derramamento de óleo) podem interferir nessas variações.

Específicos:

- Descrever e ilustrar o ciclo embrionário completo e explorar a variação morfológica embrionária da espécie e da espécie *Goniopsis cruentata* cultivada em laboratório;
- Explorar a variação morfológica da espécie *Goniopsis cruentata* entre espécimes do mesmo sexo e estágio diferentes e entre espécimes de sexo e estágio diferentes;
- Explorar a variação morfológica da espécie *Goniopsis cruentata* entre espécimes do mesmo sexo e mesmo estágio, em momentos pré e pós desastre ambiental;

REFERÊNCIAS

- ADIYODI, R. G. 1988. Reproduction and development. In: Burggren, W. W.; McMahon, B. R (eds.). **Biology of the Land Crabs**. Cambridge University Press, p. 139 – 185.
- BRUSCA, R.C. e BRUSCA, G.J. 2007. Invertebrados. Segunda edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 968pp.
- CAMILLERI, J.C. 1992. Leaf-litter processing by invertebrates in a mangrove forest in Queensland. **Marine Biology**, 114: 139 – 145.
- COBO, V. J. e FRANSOZO, A. 2003. External factors determining breeding season in the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Crustacea, Brachyura, Grapsidae), on the São Paulo state northern coast, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 20, n.2, p. 213 – 217.
- COBO, V. J.; OKAMORI, C. M. 2008. Fecundity of the spider crab *Mithraculus forceps* (Decapoda, Mithracidae) from the northeastern coast of the state of São Paulo, Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, vol. 98, n. 1, p. 84-87.
- FERNÁNDEZ, M.; BOCK, C.; PÖRTNER, H.-O. 2000. The cost of being a caring mother: the ignored factor in the reproduction of marine invertebrates. *Ecology Letters*, vol. 3, no 6, p. 487-494.
- DAVIE, P. J.; GUINOT, D.; NG, P. K. 2015. Systematics and classification of brachyura. *Treatise on zoology-anatomy, taxonomy, biology. The crustacea*, vol. 9 part C-II, Brill, p. 1049-1130.
- GONZALÉZ-GORDILLO, J. I.; A. Dos SANTOS e A. RODRIGUEZ. 2000 Complete larval development of *Philocheras monacanthus* from laboratory culture, with a key to the zoea of the European species of the genus (Decapoda: Caridea: Cragonidae). **Journal of Crustacean Biology**, 20: 75-88
- GRIFFEN, B.D. e MOSBLACK, H. 2011. Predicting diet and consumption rate differences between and within species using gut ecomorphology. **Journal of Animal Ecology**. 80: 854–863.
- KARR, J.R. e JAMES, F.C. 1975. Eco-morphological configurations and convergent evolution in species and communities. In: CODY, M.L.; DIAMOND, J.M. **Ecology and evolution of communities**. Harvard University Press, Massachusetts. 191-258.
- LEE, S. Y. 1998. Ecological role of grapsid crabs in mangrove ecosystems: a review. **Marine and freshwater research** 49: 335-343.
- LIMA-GOMES, R. C., COBO, V. J. e FRANSOZO, A. 2011. Feeding behaviour and ecosystem role of the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsoidea) in a subtropical estuary on the Brazilian coast. **Crustaceana** 84(5–6): 735–747.
- LIRA, J. J. P. R.; SILVA, J. R. F.; REZENDE, C. F.; MARTINS', R.P.; FERREIRA, T.O.; e SOUZA, L.P. 2014. Population biology of the crab *Goniopsis cruentata*: variation in body size, sexual maturity, and population density. **Animal Biology**. 64. 383-394.
- LIRA, J. J. P. R.; CALADO, T. C. S.; REZENDE, C. F. e SILVA, J. R. F. 2015. Comparative biology of the crab *Goniopsis cruentata*: geographic variation of body size, sexual maturity, and allometric growth. *Helgol Mar Res*. 69: 335–342.

- MA, K. Y., QIN, J., LIN, C., CHAN, T., NG, P. K. L., CHU, K. H., TSANG, L. M. 2019. Phylogenomic analyses of brachyuran crabs support early divergence of primary freshwater crabs. *Molecular phylogenetics and evolution*. vol. 135, p. 62-66.
- MANTELATTO, F.L.M.; FARIA, F.C.R.; BIAGI, R. e MELO, G.A.S. 2004. Majoid crabs community (Crustacea: Decapoda) from infralittoral rocky/sandy bottom of Anchieta Island, Ubatuba, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 47:273- 279.
- MELO, G. A. S. 1996. Manual de Identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Ed. Plêiade/FAPESP, 604p.
- MENDES, P.P. 1999. Estatística aplicada à Aquicultura. Recife-PE. Ed. Bargaço, 265p.
- MOURA, N. F. O. e P. A. COELHO. Maturidade sexual fisiológica em *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) no Estuário do Paripe, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 21, n. 4, p. 1011-1015. 2004
- NEGREIROS-FRANSOZO, M.L.; GONZÁLEZ-GORDILLO, J.I. & FRANSOZO. 2002. First larval stage of *Exhippolysmata oplophoroides* (Holthuis, 1948) (Decapoda, Caridea, Hippolytidae) obtained in laboratory. **Nauplius**, 10: 67-71
- NG, P. K. L., Guinot, D., e Davie, P. J. F. 2008. Systema Brachyorum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. **Raffles Bulletin of Zoology** 17: 1-286.
- POHLE G. e MARQUES F. 2000. Larval stages of *Paradasygius depressus* (Bell, 1835) (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Majoidea) and a phylogenetic analysis for 21 genera of Majidae. **Proceedings of the Biological Society of Washington**. 113: 739-760.
- SASTRY, A.N. 1983. Ecological aspects of reproduction, in: Vernberg, F.J. *et al.* (Ed.) The biology of Crustacea: 8. Environmental adaptations. **The biology of Crustacea**. pp. 179-270
- SCHAEFFER-NOVELLI, Y. 1995. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo, **Caribbean Ecological Research**. 64p.
- SMITH, T.J.; BOTO, K.G.; FRUSHER, S.D. e GIDDINS, R.L. 1991. Keystone species and mangrove forest dynamics: the influence of burrowing by crabs on soil nutrient status and forest productivity. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. 33: 419-432.
- SOUZA-FILHO, J.F.; NEGROMONTE, A. O.; ARAÚJO, C.L.; ALBUQUERQUE, D.L.; SILVA, E.G.; ALVES JÚNIOR, F.A.; SANTANA, F.S.; ARAÚJO, M.S.L.; PAIVA, R.J.C. 2015. Crustáceos. In: FILHO, J.F.S. (Org.). Guia Biológico do Litoral de Pernambuco. 1ed. Ipojuca: Petrobrás. 1: 52-69
- TEIXEIRA, G. M.; FRANSOZO, V.; GÓES, J. M.; FERNANDES-GÓES, L. C.; HIROSE, G. L.; ALMEIDA, A. C.; FRANSOZO, A. 2017. Reproductive investment and multiple spawning evidence in the redfinger rubble crab *Eriphia gonagra* (Brachyura, Eriphioidea). *Nauplius*, vol. 25, no 2017006, p. 1- 9.
- VELA, M.J. e GONZÁLEZ-GORDILLO J.I. 2016. Larval descriptions of the family Porcellanidae: A worldwide annotated compilation of the literature (Crustacea, Decapoda). **ZooKeys**. 564: 47–70.
- WEAR, R. G. 1970. Life-history studies on New Zealand Brachyura: 4. Zoea larvae hatched from crabs of the family grapsidae. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, vol. 4, no 1, p. 3-35.

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...

WIEDEMEYER, W., 1997. Analysis of the Benthic Food Web of a Mangrove Ecosystem at Northeastern Brazil. Ph.D. Thesis. Christian-Albrechts-Universitaät: Germany

Artigo a ser submetido à revista Journal of Morphology

ARTIGO I: Morfologia e desenvolvimento de ovos e embriões do grapsídeo de importância econômica, *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea, Brachyura)

Morphology and development of eggs and embryos of the economically important grapsid, *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea, Brachyura)

Lucas Nunes da Silva¹³, Josafá Reis Junior², Mauro de Melo Júnior³, Renata Akemi

Shinozaki-Mendes¹

- 1- Laboratório de Biologia Pesqueira (LAPEq), Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco – Brasil
- 2- Laboratório de Ecologia Pesqueira (LEP), Departamento de Pesca (DEP), Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, Sergipe, Brasil
- 3- Laboratório de Ecologia de Plâncton (LEPLANC), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco – Brasil

*Corresponding author. E-mail: lucas.ns93@live.com

RESUMO: O desenvolvimento e exploração do evento embrionário do caranguejo *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) foi estudado em laboratório. As fêmeas foram coletadas em um sistema de manguezal localizado no município de Tamandaré, nordeste do Brasil. Amostras de ovos foram obtidas diariamente, examinadas ao microscópio de luz. O desenvolvimento embrionário foi analisado através das características morfológicas, proporção corpo do embrião/gema, biometria dos ovos e tempo de incubação. A sequência de alterações morfológicas observadas inicialmente no ovo e posteriormente no embrião permitiu descrever 9 fases embrionárias a partir do momento de mórula, processo relatado pela primeira vez para os grapsídeos: pré-extrusão, pré-clivagem, pós-clivagem, pré-naupliar, naupliar, metanaupliar, pigmentação ocular e abdominal, batimento cardíaco e pré-eclosão. Os ovos mostraram-se (forma elipsoidal) apenas para os ovos classificados como I período. Durante a embriogênese, os ovos apresentaram aumento de tamanho (15%) em diâmetro e volume (50,5%). O tamanho médio dos ovos foi de $372 \pm 22 \mu\text{m}$ (diâmetro) e $2.7 \times 10^8 \pm 0,4 \mu\text{m}^3$ (volume). A duração média da incubação foi de 16 ± 1.0 dias. Os resultados apresentados não só contribuem para a compreensão do ciclo de vida da espécie, mas também podem ser considerados no desenho de medidas de controle para o manejo da captura da espécie (por exemplo, implementação de proibições de captura durante os picos de estação reprodutiva).

Palavras-Chaves: Exploração morfológica, período embrionário, embriogênese, aratu

ABSTRACT: The development and exploration of the embryonic event of the crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) was studied in the laboratory. Females were collected in a mangrove system located in the municipality of Tamandaré, northeastern Brazil. Egg samples were obtained daily, examined under a light microscope. Embryonic development was analyzed through morphological characteristics, embryo body/yolk ratio, egg biometry and incubation time. The sequence of morphological changes observed initially in the egg and later in the embryo allowed the description of 9 embryonic phases from the moment of morula, a process reported for the first time for grapsids: pre-extrusion, pre-cleavage, post-cleavage, pre-naupliar, naupliar, metanaupliar, ocular and abdominal pigmentation, heartbeat and pre-hatch. The eggs were shown (ellipsoidal shape) only for eggs classified as I period. During embryogenesis, the eggs showed an increase in size (15%) in diameter and volume (50.5%). The average size of eggs was $372 \pm 22 \mu\text{m}$ (diameter) and $2.7 \times 10^8 \pm 0.4 \mu\text{m}^3$ (volume). The mean duration of incubation was 16 ± 1.0 days. The results not only contribute to the understanding of the species' life cycle, but can also be considered in the design of control measures for the management of the species' capture (eg implementation of capture bans during peak breeding season).

Keywords: Morphological exploration, embryonic period, embryogenesis, aratu

INTRODUÇÃO

Goniopsis cruentata (Latreille, 1803) é a única espécie de brachyura pertencente ao gênero *Goniopsis* De Haan, 1833, (Ng, Guinot & Davie, 2008), distribuída em ambos os lados do Atlântico, incluindo Bermudas, Flórida, Golfo do México, Antilhas, Guianas e Brasil (Maciel & Alves, 2009). Por ser um organismo com hábitos alimentares generalistas, atuam em vários processos naturais, como por exemplo a ciclagem de nutrientes do ambiente (Lima-Gome, Cobo & Fransozo, 2011), apresentando uma elevada importância ecológica. A espécie possui ainda importância econômica e social, principalmente no Nordeste do Brasil onde o declínio de populações como o caranguejo-uçá leva um aumento natural da captura de outras espécies como o aratu; descrito como status de espécie Menos Preocupante (LC), conforme o livro vermelho dos crustáceos do Brasil, (Pinheiro *et al.*, 2016).

Nos caranguejos braquiúros, as fêmeas incubam seus ovos, aderidos aos pleópodes após a desova, cujo período de incubação pode variar de acordo com as espécies (Wear, 1974). Em algumas espécies de caranguejos, esse armazenamento pode durar dias como no caso do *Aratus pisonii* Milne Edwards, 1837 (Sesarmidae) e *Goniopsis pulchra* de Haan, 1833 (Grapsidae), com duração de 14 e 15 dias respectivamente (García-Guerrero & Hendrickx, 2004) ou até anos a exemplo do caranguejo *Erimacrus isenbeckii* (Brandt) (Nagao, Munehara, & Shimazaki, 1999), com duração estimado em mais de 12 meses. Essa variabilidade nos estágios e duração total de seu desenvolvimento embrionário, resultam de adaptações evolutivas (Scholtz & Dohle 1996, Dohle *et al.* 2004, Scholtz & Wolff 2013) e da modulação fisiológica por condições ambientais (Hamasaki *et al.* 2003, Bas *et al.* 2008).

No período embrionário, esses brachyuras apresentam um processo de desenvolvimento sem a presença de uma separação definida dos períodos seguintes e dos anteriores com diferenças morfológicas claras, diferente do que ocorre no desenvolvimento larval. Por esta razão, consolidou-se o uso do termo “períodos”, que se refere com mais precisão a uma porção da vida de um processo de desenvolvimento contínuo. Uma vez que o uso de "estágio" ou "fase" para descrever o desenvolvimento embrionário é algo controverso no campo da embriologia de decápodes, pois ambos os termos são alusivos à existência de "etapas", ou seja, um desenvolvimento não contínuo, como ocorre nos crustáceos durante seu ciclo de vida, a partir do estágio larval até a fase adulta (García-Guerrero & Hendrickx, 2004).

Na maioria das espécies, o desenvolvimento embrionário é uma das fases do ciclo de vida mais sensíveis aos estressores ambientais (Lee *et al.* 1996), portanto sua caracterização em condições naturais é necessária para entender seus efeitos a curto e longo prazos. O conhecimento do período de desenvolvimento embrionário e incubação, auxilia no entendimento de questões energéticas necessárias, uma vez que esse simples controle fisiológico no cuidado da ninhada pode ter importantes consequências ecológicas e evolutivas (Strathmann & Chaffee 1984).

Em estudos ecológicos e fisiológicos, Bartholomew (1987) e Burggren (1992) reforçam a hipótese de que a seleção natural atua em todos os estágios de desenvolvimento e que estratégias ontogenéticas, definidas como as adaptações dos diferentes estágios de desenvolvimento de diversos táxons, devem ser estudadas em todos os estágios de desenvolvimento, incluindo o óvulo e o embrião. No entanto, é visto que pesquisas sobre as adaptações e funcionamento dos ovos e embriões de caranguejos é lamentavelmente ausente, mesmo que de extrema importância na compreensão dos caminhos evolutivos que levam à conquista de ambientes (Cannicci, Simoni & Giomi, 2011).

O conhecimento desta parte da ontogenia não é apenas de interesse científico intrínseco, mas também um pré-requisito para o desenvolvimento de práticas de incubação e berçário (Davis *et al.* 2004, Zmora *et al.* 2005, Quintio 2009), além disso o entendimento da sua morfologia, podem refletir importantes adaptações evolutivas e os caracteres das formas dos ovos podem ser usados satisfatoriamente para considerações filogenéticas (Howard e Kistner, 1978; Dominguez e Cuezco, 2002). Essas informações podem ser usado na previsão de padrões temporais de produção de larvas para fins de gestão da pesca (Stevens *et al.* 2008) e aquicultura.

De acordo García-Guerrero & Hendrickx (2006), esse momento que representa o primeiro estágio no ciclo de vida, provavelmente, é um dos mais sensíveis a fatores externos. Desta forma, um estudo que descreva o desenvolvimento embrionário de espécies associadas a ecossistemas críticos (ou seja, ecossistemas com forte estresse ecológico) é considerado de grande importância para sua biologia. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo explorar e descrever o evento embrionário de uma espécie de caranguejo associada a floresta de manguezal, o *Goniopsis cruentata*, importante recurso pesqueiro, capturado no litoral de uma região costeira do Nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Coleta

O presente estudo foi realizado em um sistema de manguezal localizado no município Tamandaré, nordeste do Brasil, que faz parte da Área Marinha Protegida (MPA) Costa dos Corais (FIGURA 1), criada em abril de 1999 por meio de um decreto Federal. O clima é do tipo litorâneo, quente e úmido, com precipitação pluviométrica anual elevada, em torno de 2000 mm. Apresenta marés semidiurnas com amplitudes médias de 2,4 m e temperatura da água do mar variando entre 24°C e 31°C (Moura, 1991). A área estuarina é de planície alagada, recoberta em toda sua extensão por mangues das espécies *Rhizophora mangle* L. (mangue vermelho), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. F. (mangue branco), *Avicenia schaueriana* Stapf & Leechman (mangue preto) e *Canocarpus erectus* L. (mangue de botão) (Duarte 1993).

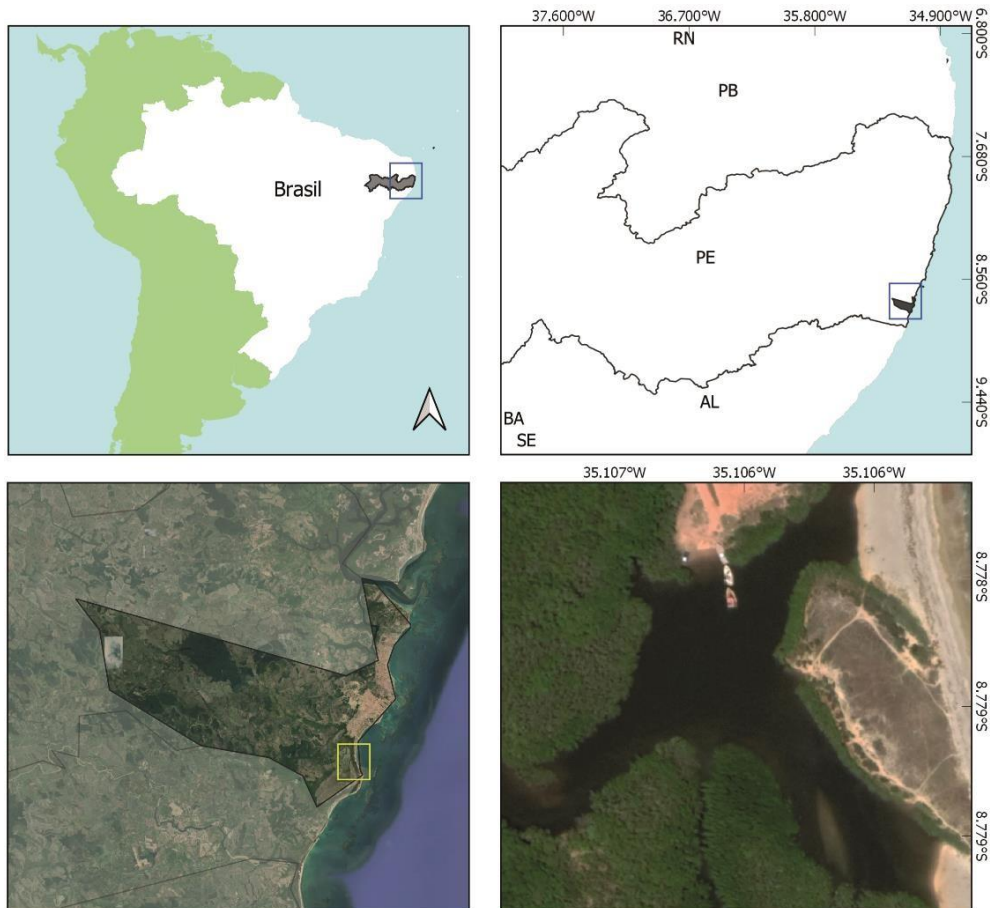


Figura 1: Mapa de localização do manguezal de estuário tropical, localizado na cidade de Tamandaré (Nordeste do Brasil), local de coleta dos espécimes de *Goniopsis cruentata*, entre fevereiro/2019 e janeiro/2020. Fonte: Silva *et al.* 2022

Procedimentos em campo

Indivíduos da espécie *Goniopsis cruentata* foram capturados no período de janeiro a dezembro de 2019. Os espécimes foram capturados com linha de nylon com isca (vísceras de animais) sem anzol e amarrada em vara de pesca na outra extremidade da linha, arte de pesca apropriada para o hábito desta espécie. Os indivíduos que apresentavam a massa de ovos aderida ao pléopodos foram acondicionadas em recipientes plásticos separados dos demais espécimes e transportadas até o Laboratório de Ecologia de Plâncton, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LEPLANC-UFRPE).

Procedimento em Laboratório

Fêmeas ovígeras de *G. cruentata* foram mantidas em aquários de vidros contendo água do mar com salinidade de $30 \pm 1\%$; temperatura entre 28 e 31°C, fotoperíodo com 12h de luz e rochas para servir de abrigo. Os caranguejos foram alimentados com frutas uma vez ao dia. Todos os dias, o excesso de comida, excrementos e ovos perdidos eram removidos e feita a troca de água.

Diariamente, foi removida uma pequena porção da massa de ovos de cada fêmea e analisada em microscópio Opton em binocular 4/0.1 com o intuito de acompanhar o desenvolvimento do ovo. A mudança de cor correspondente ao desenvolvimento e duração do período de incubação foram obtidas a partir de observação diária, levando em consideração o padrão de classificação RGB, sendo os ovos fotodocumentados e mensurados, com binocular milimetrada em um aumento de 4/0,1, quanto ao seu maior diâmetro.

Análise linear e volumétrica

O diâmetro médio dos ovos foi obtido a partir da mensuração do maior e menor diâmetro de todos os ovos medidos em cada período, com precisão de 0,01 mm. O volume dos ovos foi calculado usando os volumes médios observados no final de cada período, considerando-se o volume da esfera. Inicialmente, foi verificada a normalidade dos erros da distribuição e a homocedasticidade das variâncias (teste de Shapiro Wilk) (Zar, 2010), e, posteriormente, foi realizado um teste ANOVA de uma via ($p > 0,05$), para detectar possíveis diferenças significativas no perímetro e volume do ovo ao longo do seu desenvolvimento.

Morfometria geométrica dos ovos

Os ovos foram mensurados a partir da união com o filamento que une os ovos. Todas as imagens foram binarizadas em silhuetas pretas com fundo branco, utilizando um programa de edição de imagens. Todas as análises foram realizadas em R versão 3.6.1 (R Development Core Team, 2019). A obtenção das informações da forma dos ovos foi feita através da extração do contorno em coordenadas (x, y) das imagens binarizadas, e baseado na Análise de Fourier Elíptica (AFE) usando o pacote ‘Momocs’ versão 1.4.0 (Bonhomme *et al.*, 2014). Para mais detalhes dos procedimentos metodológicos e matemáticos da AFE, ver Lestrel (2008).

A caracterização da variação da forma dos ovos foi obtida através de uma análise de componentes principais (PCA) aplicada na matriz de coeficientes de Fourier. O número de componentes principais retidos como significativos foi determinado de uma regressão segmentada entre os componentes e a variação explicada por cada um, usando o pacote ‘segmented’ versão 0.5-3.0 (Muggeo, 2008).

O ponto de inflexão da regressão foi então usado como uma referência para determinar o número de componentes significativos e reduzir a subjetividade do critério scree plot. Uma análise de variáveis canônicas (CVA) foi aplicada na matriz de componentes principais significativos, para verificar o grau de separação morfológica entre os períodos dos ovos, usando o pacote ‘Morpho’ versão 2.7 (Schlager, Jefferis, & Amp; Ian, 2019). Para esta análise, as distâncias euclidianas médias em cada período foram comparadas por pares para testar diferenças entre os padrões morfológicos gerais dos ovos, uma vez que quanto maior a distância, maior o grau de diferença morfológica. A análise multivariada da variância (MANOVA) foi aplicada nos scores da CVA para checar se houve diferença morfológica entre os períodos subsequentes.

Caracterização dos períodos

A caracterização dos períodos ovocitários foi realizada a partir de observações diárias (a cada 24h) e comparado com o trabalho proposto por Garcia-Gerreiro e Hendrickx (2004), realizado para espécies filogeneticamente próximas do *Goniopsis cruentata*. O curso temporal do desenvolvimento embrionário, indicado pelo aparecimento de características morfológicas específicas, incluindo o desenvolvimento do olho composto, o início do batimento cardíaco, o desenvolvimento da pigmentação dos membros e o início de contrações musculares foram monitorados até o momento de liberação em seu primeiro estágio larval (zoea 1).

RESULTADOS

Foram analisados, em média, 190 ovos de cada período ovocitário, proveniente de 19 fêmeas ovígeras durante o período de janeiro a dezembro de 2019.

Os ovos de *Goniopsis cruentata* não passaram por diferentes cores com seu desenvolvimento gradual. Os ovos recém-extrusados eram amarelos foscos (137,97,45) em sua vista microscópica. Os ovos eram aproximadamente esféricos e circundados por duas membranas, uma membrana interna e outra externa, já bem definidas a partir do período 0, descrito a seguir. Ambas as membranas eram transparentes e a gema visível como grânulos amarelos. À medida que o desenvolvimento avança, a cor amarela fosca muda para amarela brilhante (214,160,37) (Figura 2).

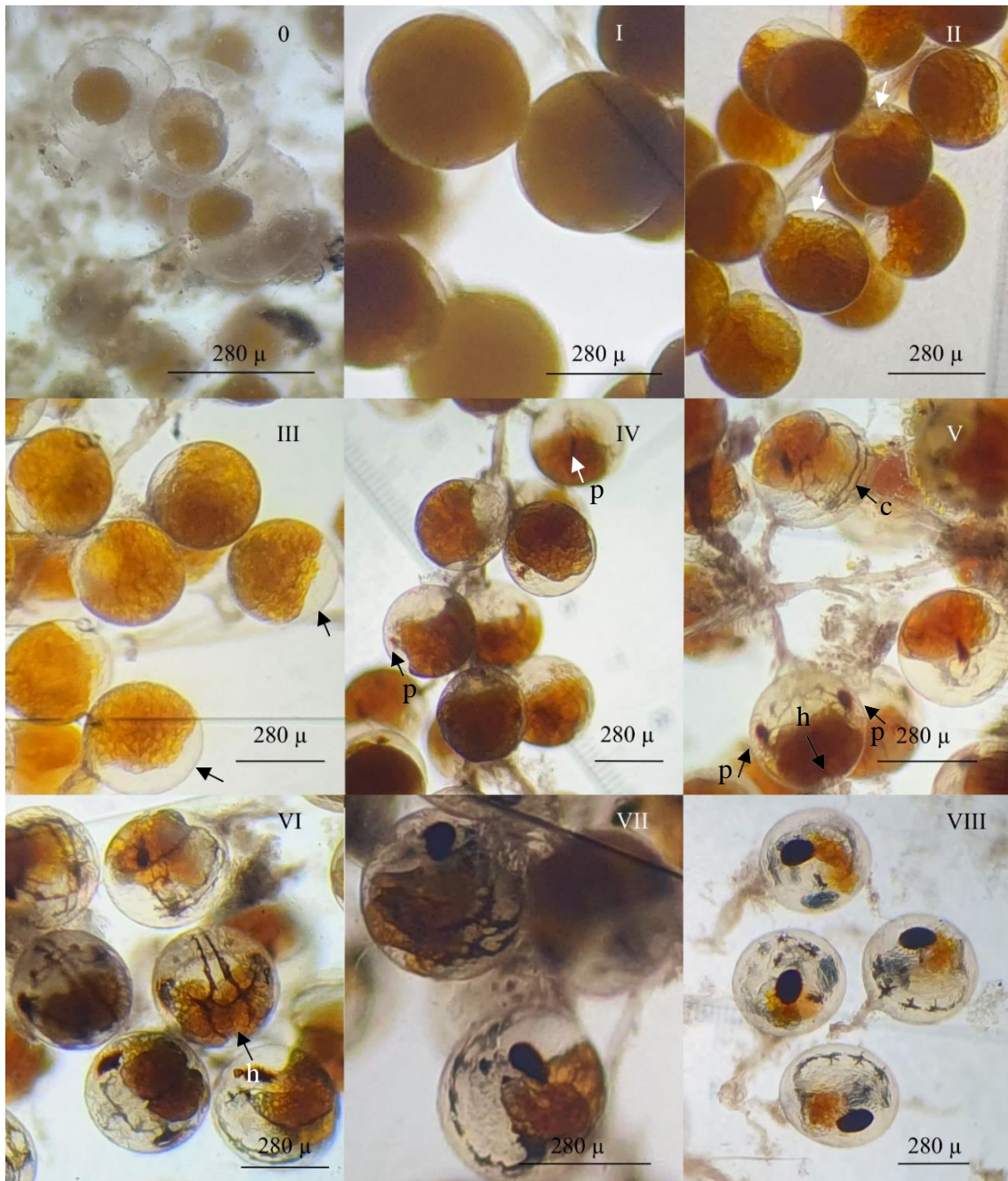


Figura 2: Representação do desenvolvimento dos estágios embrionários do Caranguejo *Goniopsis cruentata* capturados em um manguezal estuarino tropical na cidade de Tamandaré (Nordeste do Brasil), entre fevereiro/2019 e janeiro/2020. p = pigmentos; c = cromatóforos; h = coração. Barra de escala = 280 µm. 0 – VII = períodos do desenvolvimento embrionário. Fotos obtidas através de microscópio eletrônico.

Período 0. Pré-extrusão - Mórula - Ovos não postos (Fig. 2-0). Ovo esférico com maciço de células que sofreram clivagens sucessivas (divisão celular) a partir da célula inicial zigótica, não preenchendo o ovo. Presença de estrutura transparente circundando a gema. Estágio Mórula.

Período I. Pré-clivagem - Ovos recém-postos (Fig. 2-I). O ovo é macrolecital-centrolecital e esférico, preenchido com uma massa uniforme de gema cor alaranjada uniforme fosca, sem evidência de desenvolvimento.

Período II. Pós-clivagem - Dias 3-4 (Fig. 2-II). A gema é fragmentada em pequenas gotículas oleosas. A cor da gema é mais clara do que no período I. Um aglomerado de células primordiais presumidas começa a se formar como uma mancha localizada na posição ventrolateral. Com evidências de tecidos. O cluster se diferenciou em principais estruturas embrionárias transparentes em posição ventral, separadas por fendas (antênula-antena, maxilar-maxila, maxilípede e torácico-abdominal).

Período III. Pré-nauplius - Dias 5-6 (Fig. 2-III). Estruturas estão crescendo ventralmente. Os primórdios abdominais e cefalotorácicos aumentaram de tamanho e agora estão separados. Antênula-antena, maxilar-maxila e maxilípedes são agora pequenos botões que sobem e voltam às estruturas ópticas primordiais. Os tecidos e a gema são translúcidos.

Período IV. Nauplius. Dias 7-8 (Fig. 2-IV). Antênula-antena, maxilar-maxila e primórdios maxilípedes cresceram. O abdome é incompletamente dividido em segmentos (metâmeros). Os processos oculares estão desenvolvendo um núcleo oval ligeiramente mais escuro (retina) na porção anterior do embrião. Há um aumento no perímetro e volume do ovo.

Período V. Metanaupliar. Dias 9-10 (Fig. 2-V). O consumo de gema é perceptível, expondo o cefalotórax. O abdômen cresceu e sua segmentação está quase completa. Batimentos cardíacos e as contrações do embrião são registrados. Nesta fase, as larvas em desenvolvimento com seus movimentos ocasionais de espasmos foram observadas ao microscópio. Olhos pigmentados e maiores que no estágio anterior, diferenciados em córnea e retina com pigmentação mais intensa. Observam-se cromatóforos presentes em somitos abdominais. Há um aumento no perímetro e volume do ovo.

Período VI. Pigmentação ocular e abdominal. Dias 11-12 (Fig 2-VI). A gema restante é dividida em duas partes. O embrião apresenta maiores dimensões e ocupa todo o volume do ovo, exceto a reserva de gema. O coração é formado dorsalmente e bate regularmente. Os lobos oculares são maiores e mais complexos e estão em sua posição final, com a córnea dividida em seções radiais. O contorno do cefalotórax é observável. Todos os apêndices são segmentados e maiores que no estágio anterior.

Período VII. Batimentos cardíacos. Dias 13-14 (Fig VII). O embrião ocupa todo o espaço dentro do ovo. As gotículas de gema ainda são armazenadas dorsalmente ao cefalotórax, que é

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... totalmente visível. O abdômen é totalmente segmentado. O telson é formado e possui cromatóforos, também presentes no abdômen. O coração apresenta maiores dimensões e bate vigorosamente. O abdome é dobrado contra a parte frontal do cefalotórax. Há um notório aumento no perímetro e volume do ovo.

Período VIII. Pré-eclosão. Dias 15-16 (Fig VIII). Algumas pequenas gotículas de gema permanecem dorsalmente na carapaça. O abdômen apresenta um par de cromatóforos em cada segmento. Os maxilípedes são completos com longas cerdas. O embrião está prestes a eclodir.

A mudança gradual no desenvolvimento embrionário e o aumento no tamanho dos ovos foram registrados para entender os diferentes estágios de desenvolvimento. O diâmetro médio e o volume dos ovos são apresentados na Figura 3. O desenvolvimento embrionário completo ocorre em 16 ± 1 dias, incluindo oito períodos embrionários desde a extrusão dos ovos até a eclosão. O diâmetro e volume de ovos aumentou significativamente apenas a partir do III período (Figura 3). Quatro aumentos de tamanho e volume estatisticamente diferentes foram detectados ($p < 0,001$).

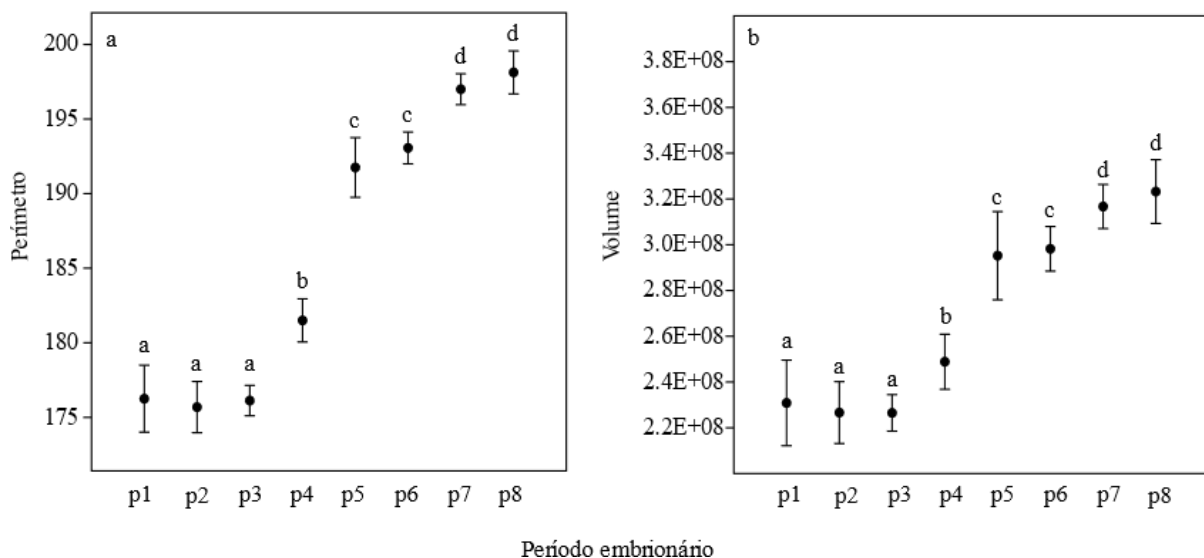


Figura 3: Desenvolvimento embrionário do caranguejo *Goniopsis cruentata* capturado em um mangue estuarino tropical no Nordeste do Brasil, entre fevereiro/2019 e janeiro/2020. a = Mudança no tamanho (perímetro em μm) do ovo durante o desenvolvimento embrionário; b = Mudanças no volume do ovo durante o desenvolvimento embrionário.

Na análise de morfometria geométrica dos ovos, notou-se diferença na morfologia (forma elipsoidal) apenas para os ovos classificados como I período, diferenciando estatisticamente de todos os outros períodos ($P < 0,005$). Na análise de PCA, os 2 primeiros componentes principais foram considerados significativos e retidos para análises posteriores,

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... explicando 63,3% da variação da forma dos ovos (Figura 4a, b). A PC1 (56,8% da variância total) foi relacionada ao alongamento dos ovos (Figura 4c). Ou seja, ovos com valores extremos negativos desse eixo apresentaram forma mais alongada (i.e. maior elipsidade), enquanto os ovos de padrão redondo ocuparam valores extremos positivos. Já a PC2 (6,5%) explicou uma variação morfológica muito baixa e imperceptível visualmente (Figura 4c).

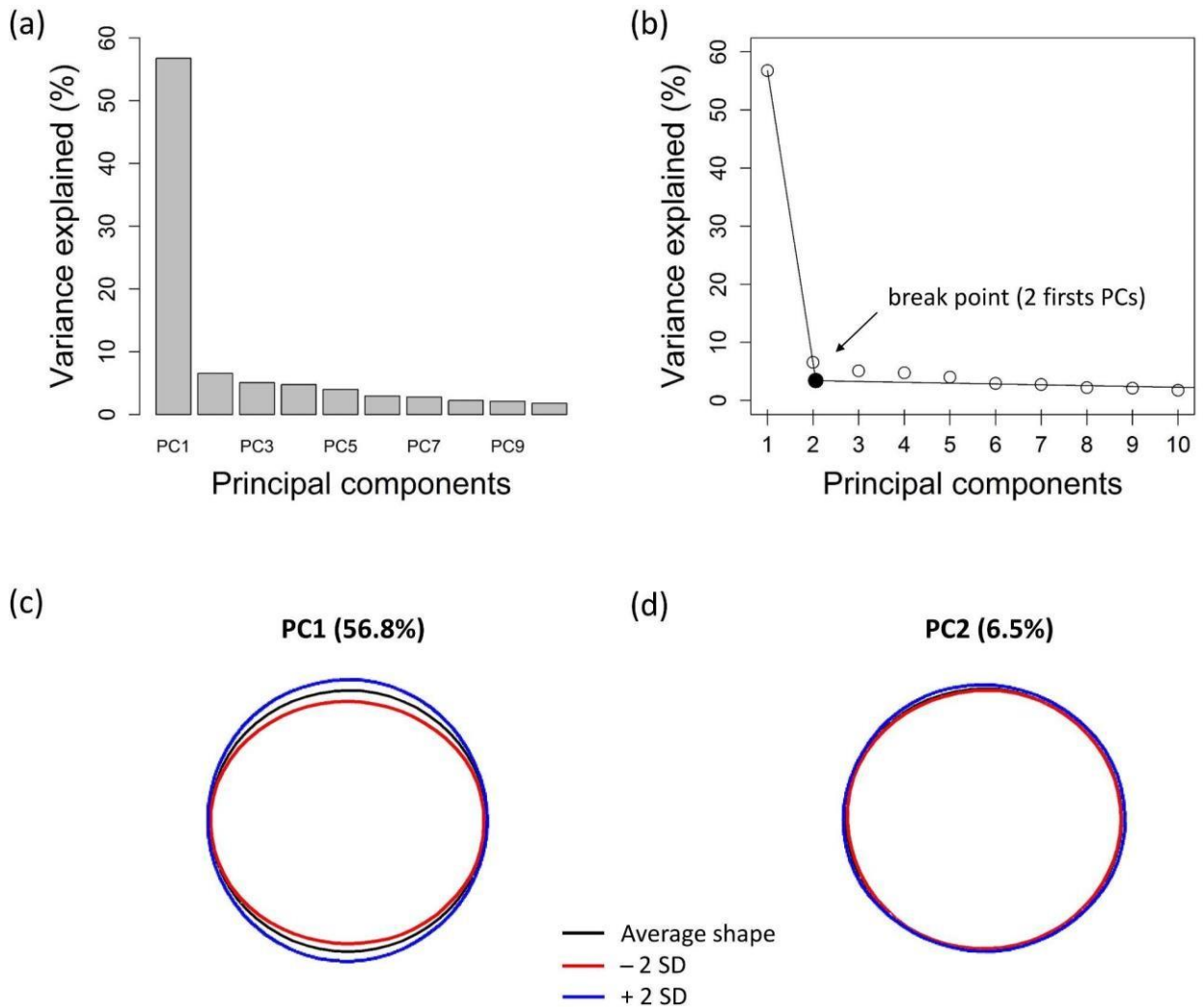


Figura 4: Variância explicada pelos componentes principais (PCs) (a), scree plot da regressão segmentada indicando os dois primeiros PCs significativos (b), e variação da forma dos ovos nos eixos do PC1 e PC2 © e (d), respectivamente.

DISCUSSÃO

Embora uma descrição mais detalhada do desenvolvimento embrionário pudesse ter sido alcançada pela caracterização de estágios adicionais, neste estudo foi levado em consideração características externas úteis para classificação rápida e fácil durante as operações

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... de incubação ou estudos de campo populacionais, definindo os estágios de desenvolvimento com base em critérios gerais usados para decápodes (Felder *et al.* 1985, 2009).

No presente trabalho, foi possível registrar o desenvolvimento embrionário a partir do momento de mórula (pré-extrusão), processo relatado pela primeira vez para os grapsídeos. No entanto, esses eventos são extremamente difíceis de observar em ovos de braquiúros semiterrestres (por exemplo, Grapsidae, Sesarmidae, Ocypodidae) sem técnicas especiais. Os ovos em período de mórula foram obtidos através de um “aborto” natural, em uma fêmea que não apresentava massa de ovos visíveis (ou seja, ainda armazenada dentro da cavidade cefalotorácica), levantando a hipótese que os ovos no período de mórula apresentam volume e perímetro reduzidos. A diferenciação celular em embriões de crustáceos começa logo após a gastrulação e requer um elevado gasto de energia (Soundarapandian *et al.* 2013). Alguns autores consideram os principais períodos embrionários do ovo a partir da clivagem e gástrula (Nagao *et al.*, 1999; Müller *et al.*, 2003).

Após a migração do blastoderma para dentro da massa vitelínica por proliferação celular (Adiyodi 1988), as estruturas primordiais começam a crescer e se estendem ventralmente, sendo fáceis de observar e descrever em ovos vivos, como visto no desenvolvimento embrionário de *G. cruentata* (ver Figura 2II). Portanto, os estágios de desenvolvimento embrionário desta espécie foram definidos com base em características morfológicas externas distintas, como a proporção da gema em relação ao volume embrionário total, aparência do primórdio, grau de desenvolvimento dos apêndices, pigmentação do globo ocular, formação de cromatóforos, e início do batimento cardíaco, como sugerido por Nagao *et al.* (1999) para o grupo dos crustáceos.

A formação dos olhos segue o padrão descrito para a ontogenia da visão dos crustáceos (Cronin e Jinks 2001). A sequência geral de alterações ontogênicas observadas durante a embriogênese, o aumento do tamanho e complexidade dos processos abdominais e oculares de *G. cruentata* são semelhantes aos relatados para outros grapsídeos (*Goniopsis pulchra* e *Aratus pisonii*) (García-Guerrero e Hendrickx, 2004). No entanto, como apenas as características morfológicas externas foram utilizadas para caracterizar os estágios do desenvolvimento embrionário das espécies do grupo, um exame mais aprofundado com base na histologia e outras técnicas poderia revelar diferenças na cronologia do desenvolvimento e diferenciação entre as espécies.

A variação de cor dos ovos para o *Gonopsis cruentata* foi mínima, variando entre um amarelo fosco no início do desenvolvimento para um amarelo mais brilhante nos estágios finais. A mudança de cor ao longo do desenvolvimento já foi relatada em estudos realizados com

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... espécies de portunídeos (Ravi e Manisseri 2013), os quais apresentam um amarelo claro no momento da desova, transformou-se em amarelo-laranja após dois dias, depois em cinza claro e finalmente cinza escuro antes da eclosão. Essas mudanças de cor são causadas pela absorção da gema amarela e pelo desenvolvimento de pigmento escuro nos olhos (Parimalam, 2001).

No geral, uma progressão da cor dos ovos ao longo da embriogênese pode refletir o consumo inicial de gema tipicamente amarela ou alaranjada, sobreposta à produção de pigmentos de cor vermelha, marrom e cinza em cromatóforos e olhos em estágios avançados (Sigana 2002, Parimalam 2001). No entanto, até onde sabemos, não há classificações objetivas do período baseados em alterações de cores padronizados (i.e. RGB, Pantone Color), conforme relatado no presente estudo.

O perímetro dos ovos de *G. cruentata* apresentou uma variação significativa entres os períodos. Mudanças irregulares no tamanho do ovo durante o desenvolvimento também foram relatadas por Nagao *et al.* (1999) para a espécie *Erimacrus Isenbeckii* e Yamaguchi (2001) para *Uca lactea*. No entanto, essa variação de crescimento não foi observada em estudos desenvolvidos por outros autores, a exemplo de Hines (1991), que acompanhou o desenvolvimento embrionário de 9 espécies de caranguejos braquiúuros do gênero *Carcinus*. Observamos também que os ovos de *G. cruentata* apresentam um aumento acelerado do perímetro quando o batimento cardíaco embrionário é observado pela primeira vez (V período). Tais observações também foram encontradas no caranguejo verde (*Carcinus maenas*), no caranguejo *Ebalia turberosa* (Pennant 1777) e em algumas lagostas (*Galathea dispersa* e *G. squamifera*) (Wear, 1974).

Sob condições ambientais controladas, a variabilidade no tamanho e biomassa do ovo tem sido atribuída à variação no tamanho ou idade da fêmea e fatores genéticos (Qian e Chia, 1992; Eyster L 1979). As mudanças no volume dos ovos também podem ser explicadas, para ovos iniciais, em função de uma resposta plástica às variações de salinidade (Giménez e Anger, 2001), e para ovos posteriores, como consequência de fatores fisiológicos durante o desenvolvimento (Pinheiro e Hattori, 2003). Além disso, há evidências de ingestão de água para auxiliar na quebra do córion no momento da eclosão (Pandian, 1970).

À medida que os embriões de *G. cruentata* se desenvolvem, o tamanho do ovo aumenta gradualmente, principalmente a partir do III período, atingindo dimensões máximas no momento da pré-eclosão. O aumento no volume e dos ovos *de G. cruentata* registrados neste estudo é proporcional ao aumento do perímetro. Resultados semelhantes foram relatados para outros braquiúros, mas a variação de tamanho entre o período I e VII encontrada nos ovos de *G. cruentata* se apresenta de forma não perceptível a olho nu, ao contrário do que é observado em espécies como *Portunus pelagicus*, *Scylla serrata*, *Scylla tranquebarica*, *Scylla olivacea*,

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... cujos ovos podem dobrar de volume no final do desenvolvimento embrionário (Soundarapandian *et al.* 2013, Ates *et al.* 2012).

Nos períodos iniciais (I a III) não se observou aumento acentuado nas dimensões (perímetro e volume) dos ovos em *G. cruentata*, quando a placa torácico-abdominal e o embrião começam a formar apêndices e crescem. Resultados divergentes foram encontrados em *Ovalipes trimaculatus*, com aumentos acentuados nas dimensões do ovo observados entre os períodos I e II. Já na variação entre o período III e IV, um aumento pronunciado nas dimensões dos ovos de *G. cruentata* foi observado, quando a embriogênese se completa e os embriões formados aumentam seus apêndices, esse mesmo comportamento também foi percebido na transição dos períodos III para IV para a espécie *O. trimaculatus* Martelli *et al.*, (2016).

O aumento do tamanho dos ovos durante a embriogênese, está associado à tomada osmótica de água a partir do período em que começam os batimentos cardíacos, quando ocorre um aumento na taxa de tomada de água (W, 1974). O maior incremento observado para *G. cruentata* foi do estágio VI para o VII, exatamente quando os batimentos cardíacos se tornaram mais nítidos. O percentual de aumento do ovo nos crustáceos decápodos varia interespecificamente até em espécies de uma mesma família. Essa variação pode ter influência de fatores intrínsecos ou abióticos como a temperatura e a salinidade (Pinheiro & Hattori, 2002).

Em geral, os ovos de decápodos marinhos bentônicos aumentam seu conteúdo inicial de água entre 33 e 40% durante o desenvolvimento embrionário (Stella *et al.* 1996). Durante os primeiros estágios da embriogênese, o catabolismo da gema em crustáceos braquiúro aumenta a quantidade de metabólitos livres, fornecendo a energia necessária para a formação dos tecidos, de modo que mais água e, conseqüentemente, mais volume, é necessária para a solvatação (Stella *et al.* 1996). Além disso, a ingestão progressiva e a retenção de água são necessárias durante as reações metabólicas de oxidação lipídica (Pandian 1967, Lardies e Wehrtmann 1997). Nos estágios finais de desenvolvimento, os incrementos no volume dos ovos estão mais relacionados ao aumento da pressão osmótica interna, que gera maior ingestão de água, e aos mecanismos simultâneos ou independentes que permitem movimentos dos embriões visando iniciar a eclosão (Davis 1965, Pandian 1967).

Em relação às variações de forma, os ovos de *G. cruentata* apresentam-se de forma elipsoidal achatada no início do período de desenvolvimento (período I) e esféricas nos períodos intermediários e tardios, forma mais comum em ovos de braquiúros (Hines, 1982; Nagao *et al.*, 1999; Yamaguchi, 2001; Pinheiro e Hattori, 2003). No entanto, García-Guerrero e Hendrickx (2004) em estudos com *Goniopsis pulchra* e *Aratus pisonii* encontraram uma trajetória morfológica ontogenética divergente, onde os ovos de ambas as espécies foram sempre quase esféricos, com pequenas variações na forma e no volume durante o período embrionário tardio,

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... provavelmente devido ao crescimento adicional do embrião e ao aumento da pressão contra o córion imediatamente antes da eclosão, apresentando valores de índice de alongamento próximos a zero em todos os estágios de desenvolvimento, assim como os ovos da maioria dos caranguejos braquiúros (Hines 1982, Yamaguchi 2001, Pinheiro e Hattori 2003).

Na maioria dos crustáceos, a duração do desenvolvimento embrionário é fortemente dependente das condições ambientais (Sun e Yu 1989), e especialmente da temperatura (García-Guerrero *et al.* 2003). Em *Scylla serrata*, por exemplo, a duração do desenvolvimento embrionário diminui exponencialmente de 30 para 10 dias com o aumento da temperatura (Hamasaki 2003), enquanto em *Necora puber* varia de 17,6 dias a 25°C a 76 dias a 10°C (Valdes *et al.* 1991). Conforme apontado por Campbell e Fielder (1987), em *Pardirallus sanguinolentus* e *Callinectes sapidus* a salinidade também afeta a duração do desenvolvimento embrionário, sendo observado desenvolvimento embrionário acelerado em salinidades abaixo dos valores normais da água oceânica.

Este trabalho fornece as primeiras informações detalhadas sobre a embriogênese de *G. cruentata* e o primeiro registro de um período inicial de desenvolvimento (Período 0). Os resultados experimentais foram obtidos a partir do cultivo de fêmeas em uma combinação única de temperatura e salinidade, se assemelhando às condições médias vivenciadas pela espécie na área de estudo durante a estação reprodutiva. Esses resultados representam um passo necessário antes de estudos voltados para a compreensão dos efeitos de variáveis ambientais na embriogênese.

O período de reprodução do aratu se classifica como sazonal-contínuo com a presença de fêmeas ovígeras durante todo o ano, com picos de reprodução em alguns períodos durante o ano (verão e outono entre o inverno e primavera) (Menezes, Araújo e Calado, 2012; Santos *et al.*, 2013), desta forma, os resultados não só contribuem para a compreensão do ciclo de vida da espécie, mas também podem ser considerados no desenho de medidas de controle para o manejo da captura da espécie (por exemplo, implementação de proibições de captura durante os picos de estação reprodutiva).

REFERÊNCIAS

- Adiyodi, R. 1988. Reproduction and Development. Pp. 139–185 in W. Burggren and B. R. McMahon, eds. *Biology of the Land Crabs*. Academic Press, Cambridge, England.
- Anger K. 1995. The conquest of freshwater and land by marine crabs: adaptations in life-history patterns and larval bioenergetics. *J Exp Mar Biol Ecol.* 193:119–145
- Ates, M. C. D., Quintio, G. F., Quintio, E. T., & Sanares, R. C. 2012. Comparative study on the embryonic development of three mud crabs *Scylla* spp. *Aquaculture Research*, 43(2), 215–225. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02818.x>
- Bonhomme, V., Sandrine, P., Gaucherel, C., & Claude, J. 2014. Momocs: Outline Analysis Using R. *Journal of Statistical Software*, 56. <https://doi.org/10.18637/jss.v056.i13>.
- Cannicci S., Simoni R., Giomi, F. 2011. Role of the embryo in crab terrestrialisation: an ontogenetic approach. *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 430: 121–131.
- Cronin, T., and R. Jinks. 2001. Ontogeny of vision in marine crustaceans. - *American Zoologist* 41: 1098–1107.
- Davis J.L.D., Young-Williams A.C., Aguilar R., 2004. Differences between hatchery-raised and wild blue crabs: Implications for stock enhancement potential. *T. Am. Fish. Soc.* 133: 1-114. <http://dx.doi.org/10.1577/T03-004>.
- Dominguez E., Cuezco M.G. 2002. Ephemeroptera egg chorion characters: a test of their importance in assessing phylogenetic relationships. *J. Morphol.* 253: 148–165.
- Eyster L (1979) Reproduction and developmental variability in the opisthobranch *Tenellia pallida*. *Mar Biol* 51: 133-140.
- Felder D.L., Martin J.W., Goy J.W. 1985. Patterns in early post-larval development of decapods. In: Wenner A.M. (ed.), *Larval growth, 2. Crustacean issues*. Balkema Press, Rotterdam, Netherlands. 163-226.
- Felder, D.L.; Álvarez, F.; Goy, J.W. and Lemaitre, R. 2009. Decapoda (Crustacea) of the Gulf of Mexico, with comments on the Amphionidacea. p. 1019–1104. In: D.L. Felder and D.K. Camp (eds), *Gulf of Mexico Origin, Waters, and Biota*. Volume 1, Biodiversity. College Station, Texas Texas A&M University Press.
- García-Guerrero M., Villarreal H., Racotta S. 2003. Effect of temperature on lipids, proteins, and carbohydrates levels during development for egg extrusion to juvenile stage of *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Comp. Biochem. Phys. A.* 135: 147-154. [http://dx.doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00354-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00354-9).
- García-Guerrero, M., M. E. Hendrickx, and H. Villarreal. 2003. Description of the embryonic development of *Cherax quadricarinatus* von Martens, 1868 (Decapoda, Parastacidae), based on the staging method. – *Crustaceana*. 76: 296–280.

Garcia-Guerrero, M., & Hendrickx, M. E. 2004. Embryology of decapod crustaceans I. Embryonic development of the mangrove crabs *Goniopsis Pulchra* and *Aratus Pisonii* (Decapoda: Brachyura). *Journal of Crustacean Biology*, 24(4), 666–672. <https://doi.org/10.1651/C-2497>.

Giménez, L. & K. Anger. 2001. Relationships among salinity, egg size, embryonic development, and larval biomass in the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 260: 241-257.

Hines A.H. 1982. Allometric constraints and variables of reproductive effort in brachyuran crabs. *Mar. Biol.* 69: 309-320. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00397496>.

Howard R.W., Kistner D.H. 1978. The eggs of *Trichopsenius depressus* and *T. frosti* (Coleoptera: Staphylinidae, Trichopseniinae) with a comparison to those of their host termites *Reticulitermes virginicus* and *R. flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae, Heterotermitinae) *Sociobiology*.3: 99–106.

Kuhl, F., & Giardina, C.R. (1982). Elliptic fourier features of a closed contour. *Computer Graphics and Image Processing*, 18, 236-258.

Lardies M.A., Wehrtmann I.S. 1997. Egg production in *Betaeus emarginatus* (H. Milne Edwards, 1837) (Decapoda: Alpheidae): fecundity, reproductive output and chemical composition of eggs. *Ophelia* 46: 165-174. <http://dx.doi.org/10.1080/00785326.1997.10432582>.

Lima-Gomes, R. C.; Cobo, V. J.; Fransozo. 2011. A. Feeding behaviour and ecosystem role of the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (latreille, 1803) (decapoda, grapsoida) in a subtropical estuary on the brazilian coast. *Crustaceana*. n. 84, p. 735-47,

Lira, J. J., & Calado, T. C. D. S. 2013. Reproductive aspects and adaptive relative growth of the tropical crab *Goniopsis cruentata*. *Animal Biology*, 63(4): 407-424. <https://doi.org/10.1163/15707563-00002422>

Lee R.F., O'Malley K., Oshima Y. 1996. Effects of toxicants on developing oocytes and embryos of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Mar. Environ. Res.* 42: 125-128. [http://dx.doi.org/10.1016/0141-1136\(95\)00079-8](http://dx.doi.org/10.1016/0141-1136(95)00079-8).

Lestrel, P.E. (2008) *Fourier descriptors and their applications in biology*. Cambridge University Press, Cambridge (UK), 466 pp.

Maciel, D. C., and Alves, Â. G. C. 2009. Conhecimentos e práticas locais relacionados ao aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) em Barra de Sirinhaém, litoral sul de Pernambuco, Brasil. *Biota Neotropica*, 9(4): 29–36. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032009000400002>

Martelli A., Tapella F., González-Pisani X., Dellatorre F., Barón PJ. 2016. Embryonic development of the southern surf crab *Ovalipes trimaculatus* (Decapoda: Brachyura: Portunoidea). *Scientia Marina* 80: 499-509. doi: <http://dx.doi.org/10.3989/scimar.04404.17B>.

Menezes, A. P. D.; Araujo, M. S. L. C.; Calado, T. C. S. 2012. Bioecologia de *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) do complexo estuarinolagunar Mundaú/manguaba, Alagoas, Brasil. *Natural Resources*. 2: 2-8,

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...

- Müller, Y., E. Nazari, and M. Simões-Costa. 2003. Embryonic stages of the freshwater prawn *Macrobrachium olfersii* (Decapoda, Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology*. 23: 869–875.
- Muggeo, V.M.R. (2008). segmented: an R Package to Fit Regression Models with Broken-Line Relationships. *R News*, 8: 20–25.
- Nagao, J., Munehara, H., & Shimazaki, K. 1999. Embryonic development of the hair crab *Erimacrus Isenbeckii*. *Journal of Crustacean Biology*, 19: 77–83. <https://doi.org/10.1163/193724099X00277>.
- Ng, P. K. L., Guinot, D., & Davie, P. J. F. 2008. Systema Brachyurorum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 17: 1–286
- Pandian T.J. 1967. Changes in chemical composition and caloric content of developing eggs of the shrimp *Crangon crangon*. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 16: 216-224. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01611705>.
- Parimalam K. 2001. Embryonic and larval development of the hermit crab, *Clibanarius longitarsus* (de Haan) (Crustacea: Decapoda: Anomura). MSc. thesis: Annamalai Univ. India.
- Pinheiro M.A.A. & Hattori G.Y. 2002. Embriologia do siri *Arenaeus cribrarius* (Lamarck) (Crustacea, Brachyura, Portunidae). *Revista brasileira de Zoologia*. 19: 571 - 583.
- Pinheiro M.A.A. & Hattori G.Y. 2003. Embryology of the Mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura: Ocypodidae). *Journal of Crustacean Biology*. 23: 729-737.
- Santos, M. C. F.; Botelho, E. R. O.; Correa, F. M.; Almeida, L.; Silva, C. G. M. 2013. Aspectos populacionais do aratu *Goniopsis cruentata* (latreille, 1803) (decapoda, grapsidae) no manguezal de caravelas (Bahia – brasil). *Boletim Técnico Científico. CEPENE, Tamandaré – PE*. 19: 27-36.
- Qian PY, Chia FS. 1992. Effect of aging on reproduction in a marine polychaete, *Capitella* sp. *J Exp Mar Biol Ecol* 156: 23-38.
- Quinitio E. 2009. Advances in mud crab hatchery and nursery. *Infofish International*, 3: 16-18.
- R Development Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Retrieved from: <http://www.Rproject.org/>
- Ravi R., Manisseri. M.K. 2013. Alterations in size, weight and morphology of the eggs of blue swimmer crab, *Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758 (Decapoda, Brachyura, Portunidae) during Incubation. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 13: 509-515. http://dx.doi.org/10.4194/1303-2712-v13_3_14.
- Schlager, S., Jefferis, G., & Ian, D. (2019). Morpho: Calculations and visualizations related to geometric morphometrics. R package version 2.7.

Sigana D.A. 2002. Breeding cycle of *Thalamita crenata* (Latreille, 1829) at Gazi Creek (Maftaha Bay), Kenya. Western Indian Ocean. J. Mar. Sci. 1: 145-153.

Stella V., Lopez L., Rodriguez E. 1996. Fecundity and brood biomass investment in the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* Dana 1851. Crustaceana 69: 307-312. <http://dx.doi.org/10.1163/156854096X00907>.

Stevens B.G., Swiney K.M., Buck L. 2008. Thermal effects on embryonic development and hatching for blue king crab *Paralithodes platypus* (Brandt, 1850) held in the laboratory, and a method for predicting dates of hatching. J. Shellfish Res. 27: 1255-1263.

Strathmann Rr & C Chaffee. 1984. Constraints on eggs masses. II. Effects of spacing size and number of eggs on ventilation of masses of embryos in jelly, adherent group, or thin-walled capsules. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 84: 85-93

Soundarapandian, P., Ilavarasan, N., Varadharajan, D., Kumar, J., & Suresh, B. 2013. Embryonic development of commercially importante Portunid crab, *Charybdis feriata* (Linnaeus). Journal of Marine Science: Research and Development, 03(02), 122.

Sun Y., Yu Y. 1989. A preliminary study of artificial rearing of juvenile *Charybdis* (*Charybdis*) *japonica*. Mar. Csi. Haiyang. Hexue. 3: 43-47.

Valdes L., Alvarez-Ossorio M.T., Gonzalez-Gurriaran E. 1991. Influence of temperature on embryonic and larval development in *Necora puber* (Brachyura, Portunidae). J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 71: 787-789. <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315400053455>.

Wear, R. G. 1974. Incubation in British Decapod Crustacea, and the effects of temperature on the rate and success of embryonic development. Journal of the Marine Biological Association of the UK, 54, 745–762. <https://doi.org/10.1017/S0025315400022918>.

Yamaguchi, T. 2001. Incubation of eggs and embryonic development of the fiddler crab, *Uca lactea* (Decapoda, Brachyura, Ocypodidae). Crustaceana, 74(5), 449–458. <https://doi.org/10.1163/156854001750243036>.

Zmora O.A., Findiesen J., Stubblefield V.F. 2005. Large-scale juvenile production of the blue crab *Callinectes* *sapidus*. Aquaculture 244: 129-139. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.012>.

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...

Artigo submetido à revista *Biological Journal of the Linnean Society*

ARTIGO II: Differentially expressed morphological characters depend on sex and ontogenetic stage in the crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Grapsidae)

Lucas Nunes da Silva^{1,2*}, Mauro de Melo Júnior² and Renata Akemi Shinozaki-Mendes¹

- 4- Laboratory of Fisheries Biology, Academic Unit of Serra Talhada, Federal Rural University of Pernambuco, Pernambuco - Brazil
- 5- Laboratory of Plankton Ecology, Federal Rural University of Pernambuco, Pernambuco – Brazil

*Corresponding author. E-mail: lucas.ns93@live.com

ABSTRACT: Shape variation according to ontogenetic development in the tree crab *Goniopsis cruentata* was investigated and quantified. A total of 713 individuals were captured, 378 males and 335 females, with CW (carapace width) ranging from 0.42 mm to 6.59 mm from February 2019 to January 2020. When analyzing linear morphometric relationships, males and females showed negative allometry ($\beta < 1$) for all linear relationships with ontogenetic difference ($p < 0.01$) for all comparisons. In geometrical morphometry, the dorsal view showed a significant difference in sexual comparisons ($p < 0.01$), in which males are wider in the posterior region than females. Furthermore, there was a significant difference in the abdominal region between young and adult females ($p < 0.01$), with the young ones being triangular and the adults oval, a characteristic brachyuran behavior. Regarding chelipeds shape, we observed morphological separation in sexual comparison (F x M) and laterality (R x L) ($p < 0.01$), with no ontogenetic variation (A x Y). This study shows that of *Goniopsis cruentata* presented a remarkable ontogenetic and sexual dimorphism. In addition, the discovery of cheliped variation was recorded for arboreal species that do not present a high degree of heterochely. This information is extremely important to maintain and conserve invertebrate species, especially those with commercial value.

KEYWORD: brachyura - geometrical morphometry - linear morphometry - shape - size

INTRODUCTION

Crustaceans have a growth pattern different from other animals because they present several stages of ontogenetic development through consecutive changes (Lobão *et al.* 1996). Along with this growth pattern, some body parts often change, especially those directly related to reproduction, the primary and/or secondary sexual characters (such as the abdomen, chelipeds, and carapace), aspects commonly used as a morphological maturity

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... indicator (Hartnoll 1982; Souza & Pinheiro 2012). Brachyura is considered an interesting model for assessing variations in size using geometrical morphometry (Alencar *et al.* 2014) due to the ease and accuracy in identifying homologous landmarks in the exoskeleton (Rufino *et al.* 2004).

Geometrical morphometry is the study of shape covariation with underlying geometrical factors, used to determine the "pure shape" in an individual or structure through discrete and well-defined points (anatomical landmarks). These landmarks are used to verify significant shape and size differences in specific body structures, answering questions regarding intra- and interspecific variation and evolutionary and ecological issues, such as ontogenetic allometry and dimorphism (Klingenberg 2011; Zelditch & Swiderski 2012; Ponssa & Candiotti 2012; Accioly *et al.* 2013; Bower & Piller 2015). This technique has increased the sex discrimination power by identifying minimal morphological differences in body structures (Rohlf & Marcus, 1993; Alencar *et al.* 2014). Furthermore, understanding the morphological variation of homologous characters makes it possible to discuss the directional sexual selection based on each sex morphology and infer ecological pressures (Tatsuta *et al.* 2004).

Commonly known as the mangrove aratu, maria-mulata, or red aratu, the red mangrove crab, *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803), is an important fishery resource for traditional communities located along the northeastern Brazilian coast (Pinheiro *et al.* 2016), especially in the estuaries of Pernambuco, Sergipe, and Bahia, where it stands out for its economic value (Moura & Coelho 2004). This species also plays an important ecological role in the mangrove, affecting the muddy substrate's biogeochemistry, decomposition rates, and nutrient cycling (Kristensen 2008; Lima-Gomes *et al.* 2011).

G. cruentata belongs to the suborder Pleocyemata, whose females incubate eggs in the abdomen until larval release, while males use the gonopod to pass their spermatophores

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... to the female during copulation (Hartnoll, 1982). It is considered an *in situ* generalist feeder that feeds on organic components of sediments, algae, plants, and materials from mollusks and other invertebrates. It is a crab that wanders through the mangrove substrate during low tide. During high tides, this species migrates to the emerged region at the bottom of the canopy (tree crab) to avoid predation by fish and carnivorous marine crabs (Wiedemeyer 1997; Lima-Gomes *et al.* 2011). It also uses branches and burrows as refuges, occupying virtually all potential habitats in the mangrove ecosystem (Cobo & Fransozo 2003).

Although there is vast information on the species such as: physiological aspects (Young, 1973, Zanders 1978, Zanders & Martelo 1986 and Burggren *et al.* 1993), larval description (Fransozo *et al.* 1998), ecological aspects (Sousa *et al.* 2000); population structure (Moura *et al.* 2000, Santos & Botelho, 2002, and Botelho *et al.* 2004); sexual maturity (Moura & Coelho 2003, 2004); population biology and management (Santos *et al.*, 2001); reproduction and growth, morphological and physiological sexual maturation, reproductive period, fecundity and the influence of environmental factors on reproduction, (Cobo & Fransozo 2003, 2005), reproductive aspects (Silva & Oshiro, 2002; Lira & Calado, 2013) reproductive biology (Garcia & Silva 2006); growth (traditional morphometry) (Lira *et al.*, 2013, 2014, 2015), and mangrove environmental quality (Davanso *et al.*, 2013, Costa *et al.* 2017, 2018, Ferreira *et al.* 2019, Wellens, 2015). However, there is still a lack of studies exploring and describing the shape of *G. cruentata* and information stemming from it using the geometrical morphometry technique.

Thus, this study aimed at using the linear and geometrical morphometry tools to investigate and quantify shape variation according to ontogenetic development in a species of tree crab. Furthermore, this study aimed to search for intersex and age variations in the growth ratios of *Goniopsis cruentata* of the regions characterized as secondary sexual

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... characters (carapace, pleon, and chelipeds) to differentiate the specimens fit for reproduction through morphology and morphometry.

MATERIALS AND METHODS

Study area and laboratory procedures

Goniopsis cruentata specimens were collected in a tropical estuarine mangrove system at Tamandaré beach (08°78'28 "S and 035°10'52 "W), northeastern Brazil, a floodplain (Duarte 1993), with semidiurnal tides and mean amplitudes of 2.4 m and adjacent seawater temperature ranging between 24 and 31°C (Moura 1991). The area studied is within a Marine Protected Area, the MPA "Costa dos Corais" (FIGURE 1). Specimens were captured monthly between February 2019 and January 2020 at their display and/or food capture time, always in the daytime low tide, using nylon line and hookless bait. After capture, the crabs were packed in plastic containers and transported alive to the laboratory.

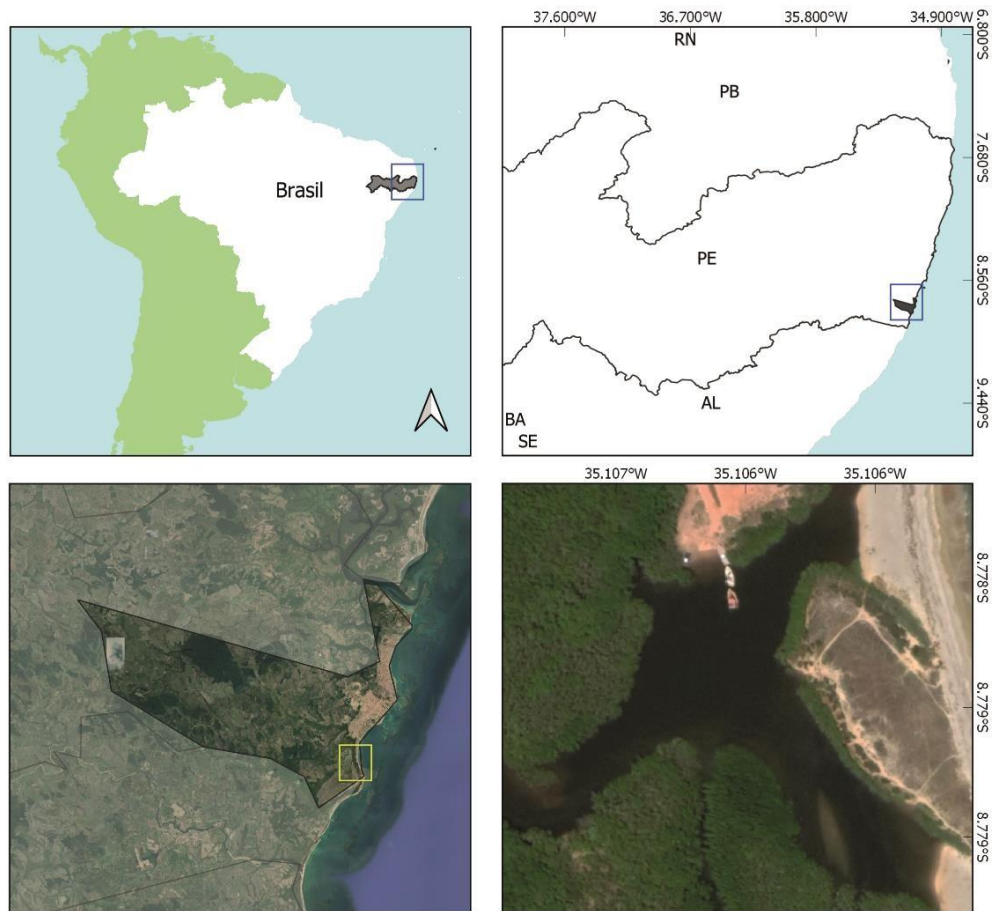
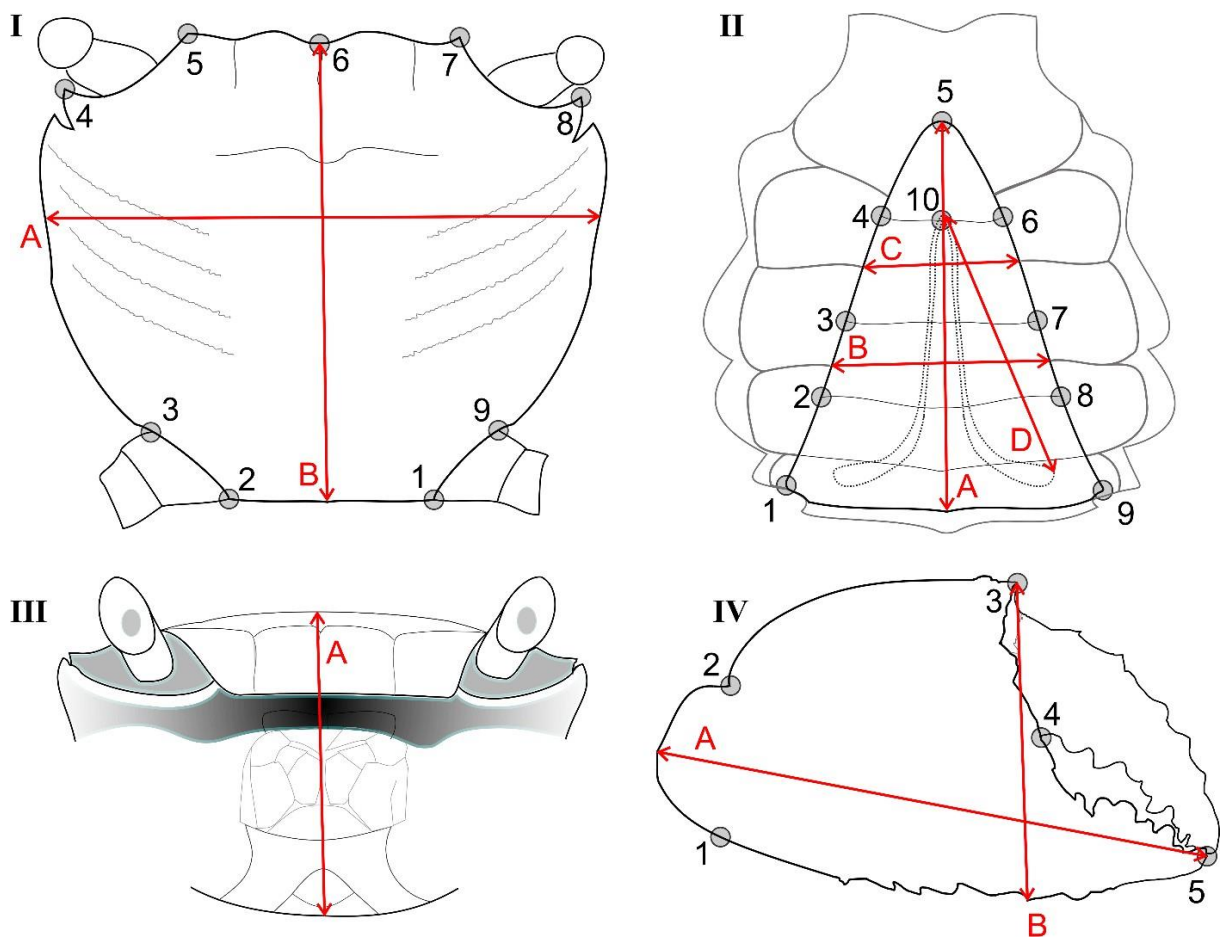


FIGURE 1: Location map of the tropical estuarine mangrove in the city of Tamandaré (Northeast Brazil), the collection site of the crab *Goniopsis cruentata*, between February/2019 and January/2020. Source: Google Earth.

In the laboratory, the specimens were cryoanesthetized, identified, and sexed based on the identification guide proposed by Melo (1993). Afterward, they were measured with a precision caliper (0.01 cm) for the dorsal and ventral regions and the cheliped (Figure 2) and weighed with a precision scale (0.01 g). After the measurements, the specimens were placed on a modeling bed (to remove the influence of their bulging on the image parallelism), opposite to a camera attached to a tripod parallel to the foreground, with a 50 mm focal length lens, and photodocumented in their dorsal, ventral, and cheliped (right and left) regions for further geometrical morphometry analysis, as shown in Figure 2, and whose

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... anatomical landmarks are illustrated. Images of individuals with malformations or injuries were discarded from the analyses (4% of the images). We scanned ten landmarks on the carapace, ten on the pleon, and five on the chelipeds (Figure 2). The landmarks were strategically distributed to better obtain the shape of the animal using the TPSDig program (version 2.10, Rohlf 2006), based on previous work with other Brachyura (Marochi *et al.* 2015; Silva *et al.* 2018, Marochi *et al.* 2018).



I - **A** = carapace width (**CW**); **B** = carapace length (**CL**); **1, 2** - posterior margin, **3, 9** - posterolateral margin, **4, 8** - anterolateral margin, **5, 7** - front end, **6** - forehead center. **II** - **A** = abdomen length (**AL**); **B** = width of the fourth abdominal segment (**W4**); **C** = width of the fifth abdominal segment (**W5**); **D** = gonopod length (**GL**); **1** - anterior center margin of the abdomen, **1, 9** - anterior margin of the abdomen, **2 - 8** margin of the fourth abdominal somite, **3 - 7** margin of the fifth abdominal somite, **4 - 6** margin of the sixth abdominal somite, **5** - top of the telson, ten centers sixth abdominal somite. **III** - **A** = carapace height (**CH**). **IV** - **A** = right and left cheliped length (**CLr** and **CLl**); **B** = right and left cheliped height (**CHr** and **CHl**); **1**- lower attachment point of carpus with manus, **2**- upper attachment point of carpus with manus, **3**- upper point of dactylar joint with manus, **4** - lower point of dactylar joint with manus, **5** - pollex tip.

FIGURE 2: Distribution scheme of anatomical landmarks and linear measurements of *Goniopsis cruentata* captured between February/2019 and January/2020 in a tropical estuarine mangrove at Tamandaré-Pernambuco. **I** = cheliped region, **II** = carapace region, **III** = pleon region, and **IV** = frontal region. SOURCE: Silva *et al.* (2021).

Statistical analyses

Initially, the specimens were separated into four categories: juvenile female (JF), adult female (AF), juvenile male (JM), and adult male (AM). The determination of morphological maturity (juveniles vs. adults) was based on the maximum inflection point of the relationships between the CW x GL structures for males, and CW x W5 for females, considering that the GL and W5 variables were taken as dependent variables. Thus, males presenting sizes greater than 2.59 mm CW and females with sizes greater than 2.69 mm were considered adults.

To determine the growth allometry, the linear function $y = \beta_0 + \beta_1x$, and the potential function $y = \beta_0x^{\beta_1}$ were used:

where: β_0 = intercept constant on the ordinate axis;

β_1 = allometric growth constant;

x = independent variable;

y = dependent variable.

Linear relationships were considered negative allometry when $\beta_1 < 1$, isometric when $\beta_1 = 1$, and positive allometry when $\beta_1 > 1$. In the potential relationships, the reference value for β_1 was 3. The following relationships were analyzed: CW x CL, CW x W4, CW x AL, CW x CH, CW x CHr, CW x CHI, CW x CLr, CW x CLI, CW x GL (the latter only in males), using linear regression, and the CW x P relationship, using potential regression. The first variable (CW) was considered the independent variable for all relationships for all groups. The coefficient of determination "R²" was also observed. To analyze the influence of linear measurements on the morphometric variation of the different groups, a Principal Component Analysis (PCA) was conducted. In order to remove ontogeny's influence on the data, all body dimensions were treated as proportional to CW (variable less sensitive to distortion between size classes) (Harrison & Crespi, 1999). In order to test for statistical differences between the group separations, a PERMANOVA (One-way) test with Bonferroni's correction was conducted ($p < 0.05$).

For morphological exploration with the geometrical morphometry technique, 475 images of the dorsal view, 469 of the ventral view, and 861 of the chelipeds were analyzed. The landmarks' coordinates were aligned to the centroid, and Generalized Procrustes Analysis (GPA) was performed using the program MorphoJ version 2.0 (KLINGENBERG, 2011), where differences in orientation, position, and scaling were removed (Rohlf & Marcus, 1993; Bookstein, 1996; Adams *et al.* 2004). From the waste matrix generated at the GPA, a Principal Component Analysis (PCA) was conducted to identify the main characteristics of the shapes. Then, Canonical Variance Analysis (CVA) was performed, with 10000 permutations, to find the shape characteristics that best distinguish and separate the groups, using Procrustes' Distance (Proc. Dist.). Differences between the forms were tested applying the Hotelling test (T^2) with Bonferroni correction in Discriminant Analysis (DA). Thin-

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... plate Splines Functions (Klingenberg, 2008) were generated between groups using the MorphoJ program. A multivariate analysis of variance (MANOVA) with probability adjustment for Bonferroni multiple comparisons (Fornel and Cordeiro-Estrela 2012) was also conducted to identify possible differences in shape (Carapace, pleon, and cheliped) and centroid size. Past software, version 3.07 (Hammer *et al.* 2001), was used for these analyses. Finally, CVA1 and CVA2 regression scores were related as a dependent variable of centroid size to demonstrate the ontogenetic trajectory graphically.

RESULTS

A total of 713 individuals were captured, 378 males and 335 females, with CW (carapace width) ranging from 0.42 mm to 6.59 mm. The individuals were distributed according to the maturity stages, as shown in Table 1:

<u>Sex/sexual stage</u>	<u>Nº</u>	<u>Carapace width</u>
JF	114	0,42 a 2,69 mm
AF	221	2,71 a 6,13 mm
JM	118	1,47 a 2,59 mm
AM	260	2,61 a 6,59 mm

TABLE 1: Number of *Goniopsis cruentata* crabs captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE), from February 2019 to January 2020. Nº = number of specimens analyzed; JF = juvenile female; AF = adult female; JM = juvenile male; AM = adult male.

Linear Morphometry

When analyzing the linear morphometric relationships, males and females showed negative allometry ($\beta_0 < 1$) for all linear relationships, and there was a difference ($p < 0.01$ for all comparisons) in ontogeny. Adult males showed a higher growth rate of CL, CH, CHr, CHl, CLr, and CLI than juveniles. Adult females showed the highest growth rate in CL, W4, W5, AL,

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...
CHR, CHI, CLr, and CLI compared to juveniles. For potential ratios (CW x P), young specimens
of both sexes showed negative allometry ($\beta_0 < 3$) and adults an isometric ratio ($\beta_0 = 3$) (Table
2). All models were statistically different when comparing model parameters using the T-test
($p < 0.01$).

	M		F	
	y	a	y	a
CW x LW	$y = 0,915x - 0,214 \text{ R}^2 = 0,781$	$y = 0,918x - 0,272 \text{ R}^2 = 0,936$	$y = 0,840x - 0,077 \text{ R}^2 = 0,830$	$y = 0,893x - 0,194 \text{ R}^2 = 0,928$
CW x L4	$y = 0,336x + 0,025 \text{ R}^2 = 0,769$	$y = 0,308x + 0,124 \text{ R}^2 = 0,868$	$y = 0,548x - 0,285 \text{ R}^2 = 0,818$	$y = 0,870x - 0,958 \text{ R}^2 = 0,843$
CW x L5	$y = 0,359x - 0,170 \text{ R}^2 = 0,529$	$y = 0,252x + 0,134 \text{ R}^2 = 0,852$	$y = 0,521x - 0,340 \text{ R}^2 = 0,763$	$y = 0,921x - 1,182 \text{ R}^2 = 0,905$
CW x AL	$y = 0,609x - 0,107 \text{ R}^2 = 0,772$	$y = 0,528x + 0,166 \text{ R}^2 = 0,835$	$y = 0,657x - 0,127 \text{ R}^2 = 0,703$	$y = 0,873x - 0,723 \text{ R}^2 = 0,882$
CW x CH	$y = 0,474x + 0,006 \text{ R}^2 = 0,767$	$y = 0,520x - 0,091 \text{ R}^2 = 0,920$	$y = 0,545x - 0,193 \text{ R}^2 = 0,870$	$y = 0,534x - 0,133 \text{ R}^2 = 0,795$
CW x RCH	$y = 0,448x - 0,471 \text{ R}^2 = 0,562$	$y = 0,568x - 0,818 \text{ R}^2 = 0,882$	$y = 0,296x - 0,118 \text{ R}^2 = 0,814$	$y = 0,358x - 0,239 \text{ R}^2 = 0,749$
CW x LCH	$y = 0,431x - 0,432 \text{ R}^2 = 0,557$	$y = 0,555x - 0,793 \text{ R}^2 = 0,873$	$y = 0,284x - 0,094 \text{ R}^2 = 0,729$	$y = 0,392x - 0,346 \text{ R}^2 = 0,791$
CW x RCL	$y = 0,610x - 0,118 \text{ R}^2 = 0,528$	$y = 0,976x - 1,136 \text{ R}^2 = 0,934$	$y = 0,623x - 0,190 \text{ R}^2 = 0,908$	$y = 0,837x - 0,791 \text{ R}^2 = 0,853$
CW x LCL	$y = 0,66x - 0,228 \text{ R}^2 = 0,626$	$y = 0,956x - 1,094 \text{ R}^2 = 0,928$	$y = 0,650x - 0,248 \text{ R}^2 = 0,837$	$y = 0,833x - 0,771 \text{ R}^2 = 0,853$
CW x W	$y = 0,963x^{2,065} \text{ R}^2 = 0,696$	$y = 0,406x^{3,051} \text{ R}^2 = 0,916$	$y = 1,002x^{2,023} \text{ R}^2 = 0,775$	$y = 0,405x^{3,025} \text{ R}^2 = 0,865$
CW x GL	$y = 0,326x - 0,091 \text{ R}^2 = 0,355$	$y = 0,308x - 0,030 \text{ R}^2 = 0,755$	-	-

TABLE 2: Linear relationships of the species *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE) from February 2019 to January 2020. F= female; M = male; a = adult, j = juvenile.

In the principal components analysis, the first two components explained 75.16% of the variation, being 58.46% and 16.69% for the first and second, respectively. For component 1 (PC1), the variables of greatest influence in separating the groups were CHr, CHI, CLr, and CLI, and for component 2 (PC2), AL, CH, and CL. Note that PC1 presents a tendency to separate individuals according to the stage (juveniles and adults), thus appearing as an age dimorphism, while the second component was responsible for the separation of the sexes (male and female), that is, sexual dimorphism, as can be seen in Figure 3.

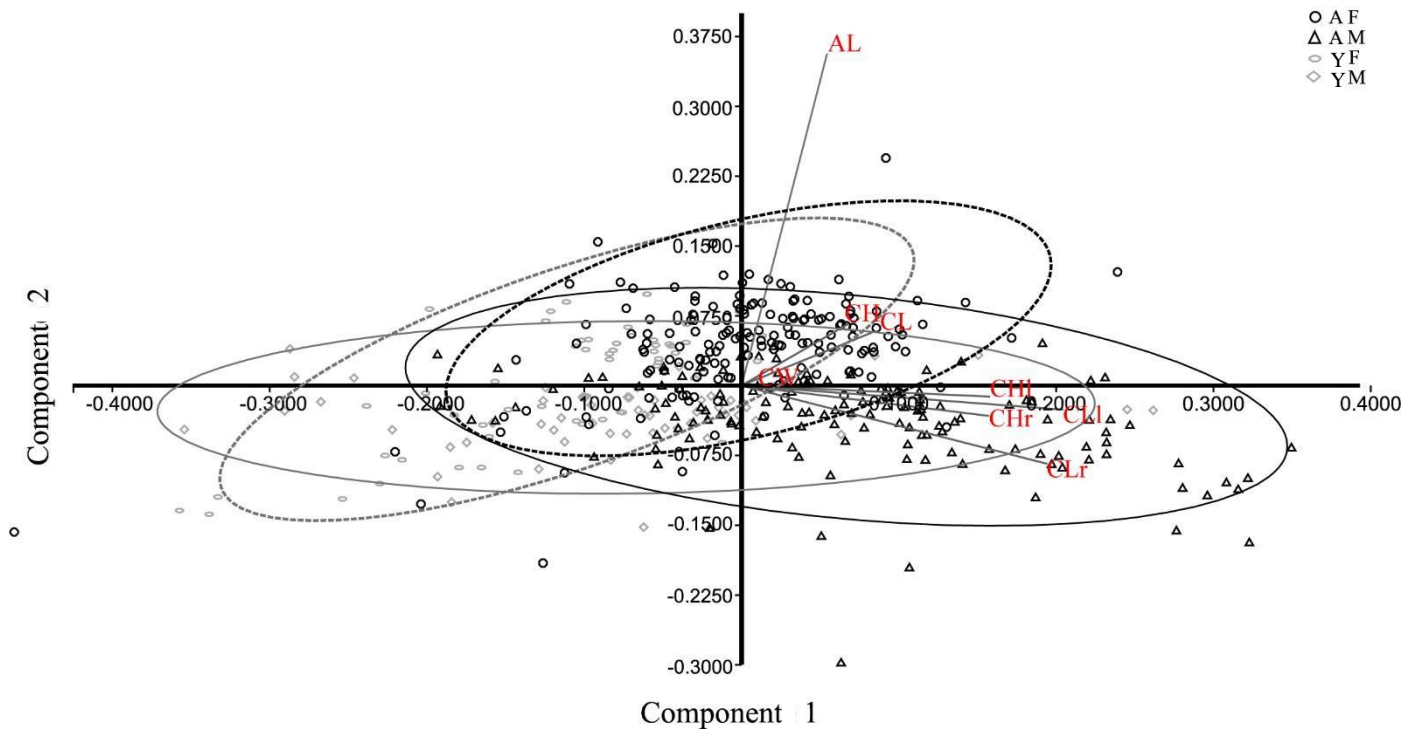


FIGURE 3: Principal component analysis (PCA) of the species *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE) from February 2019 to January 2020. Ellipse 90%.

When performing the PERMANOVA (One-way) test for comparison between groups, a statistical difference was observed between the comparisons with $p < 0.005$ for all interactions.

Geometrical morphometry

When comparing the procrustes distance from the canonical variable analysis (CVA) of the dorsal view, no statistically significant difference was observed for the ontogenetic comparisons: AF = x JF ($p = 0.05$), and AM x JM ($p = 0.07$). However, for the sexual dimorphism comparisons, all of them presented a p -value < 0.01 (Figure 4). The same result was observed in the discriminant analysis, with a correct allocation of 59.75%, for adult females and 70% for juvenile females. The correct allocation was 58.62% for adults and 68.18% for juveniles in males. The results obtained by MANOVA with Bonferroni correction for the dorsal view also showed no significant difference in centroid size between the AF x JF and AM x JM groups (p -value ranging from 0.41 to 0.92).

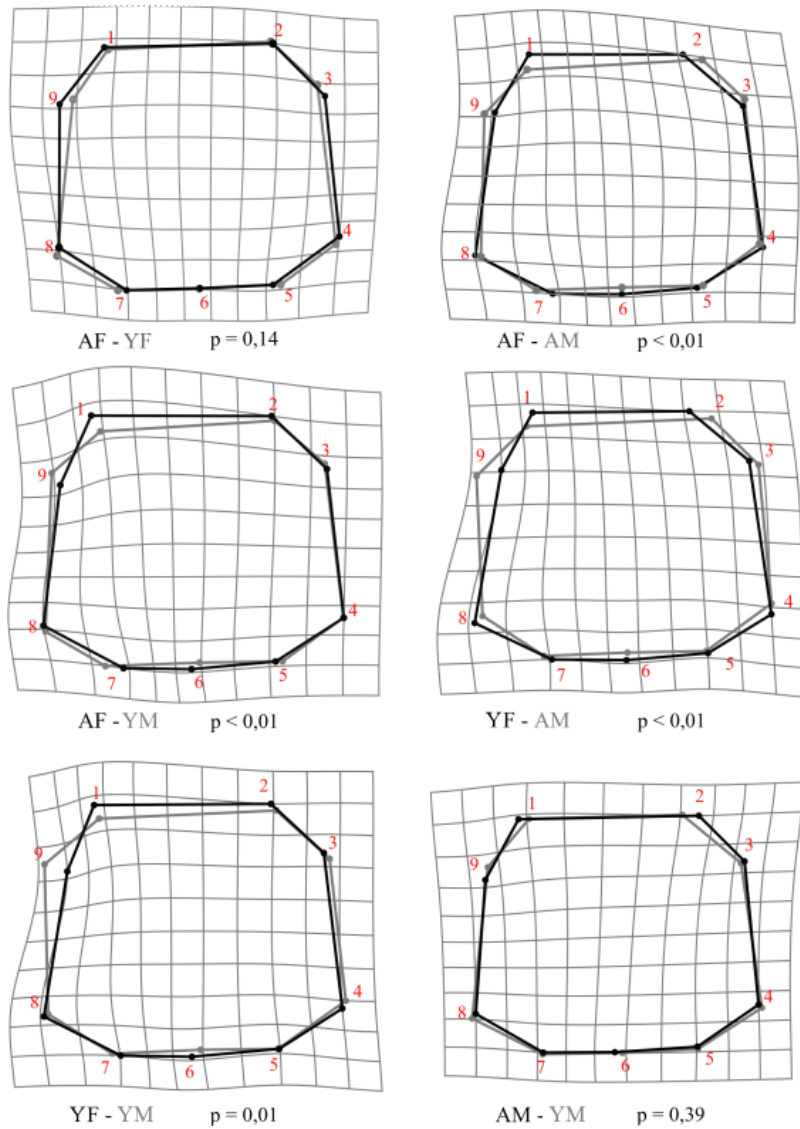


FIGURE 4. Thin-plate Splines of morphological variation based on discriminant analysis of males and females of *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE), from February 2019 to January 2020. The black line represents the first group, and the gray line represents the second group. Deformation scale 5.0.

The morphology of the abdominal region showed a difference in AF x JF interactions ($p < 0.01$), with no difference between AM x JM ($p = 0.800$). The correct allocation for AM x JM was 63.0% and 63.6% for adult and juvenile males, respectively. The results obtained by MANOVA with Bonferroni correction also showed a significant difference in shape and size for AF x JF as shown in figure 5, and only for centroid size ($p < 0.01$) in the AM x JM comparison.

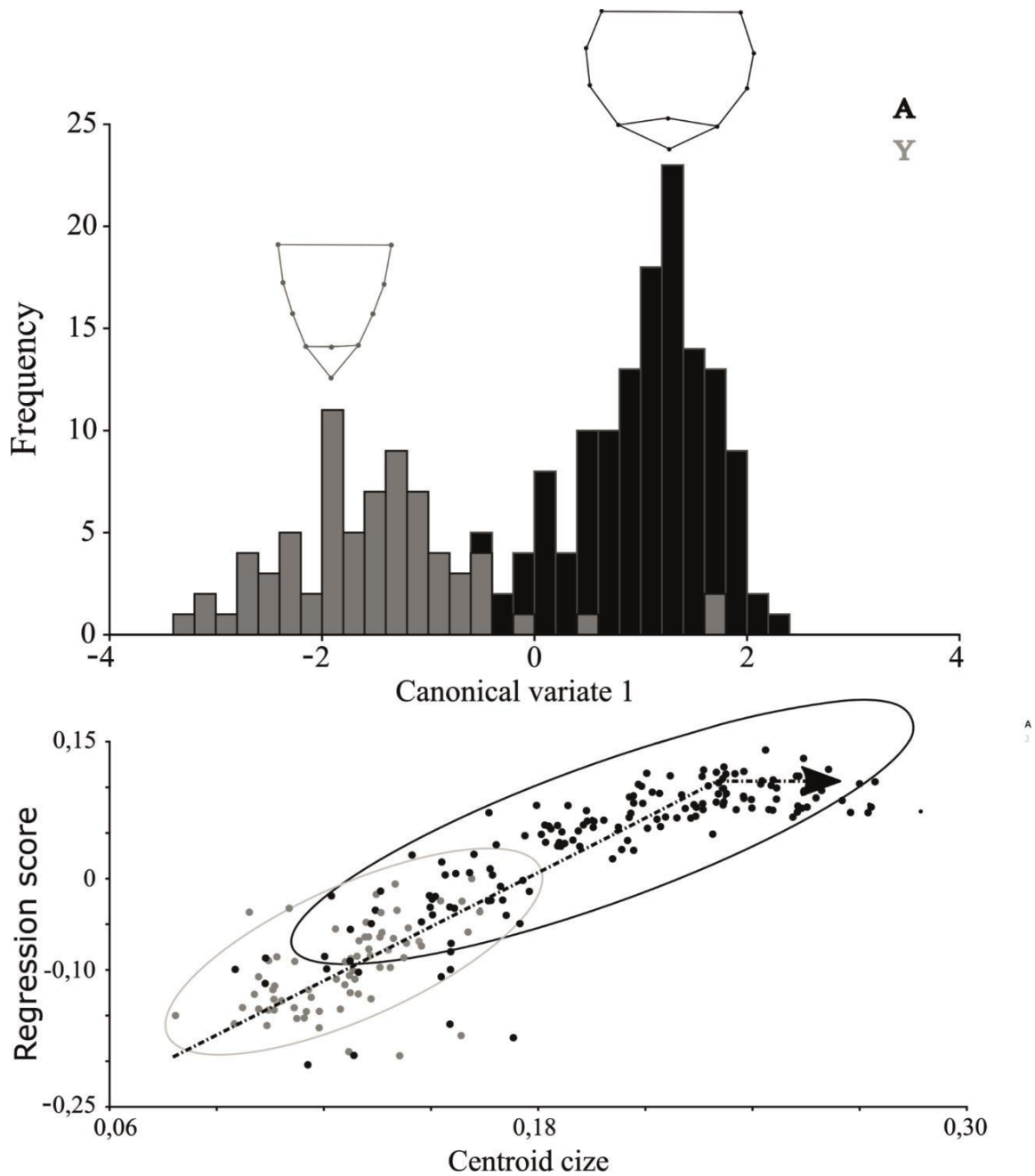


FIGURE 5. Morphological variation based on canonical variable analysis and ontogenetic trajectory based on multivariate symmetric component regression on the transformed centroid size of the pleon of female *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE), from February 2019 to January 2020.

When analyzing cheliped shape, a morphological separation was observed through canonical variable analysis, regarding sexual comparison (F x M) and laterality (R x L), with $p < 0.01$ for both interactions. However, no statistically significant morphological separation was observed when ontogenetic comparison (A x J) was conducted ($p = 0.72$). These differences

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... were also observed in the discriminant analysis F x M and R x L ($p < 0.01$) and A x J ($p = 0.59$). For the A x J comparison, the allocations were 52.75% for adults and 59.39% for juveniles in females. In males, they were 52.44% and 52.29% for adults and juveniles, respectively.

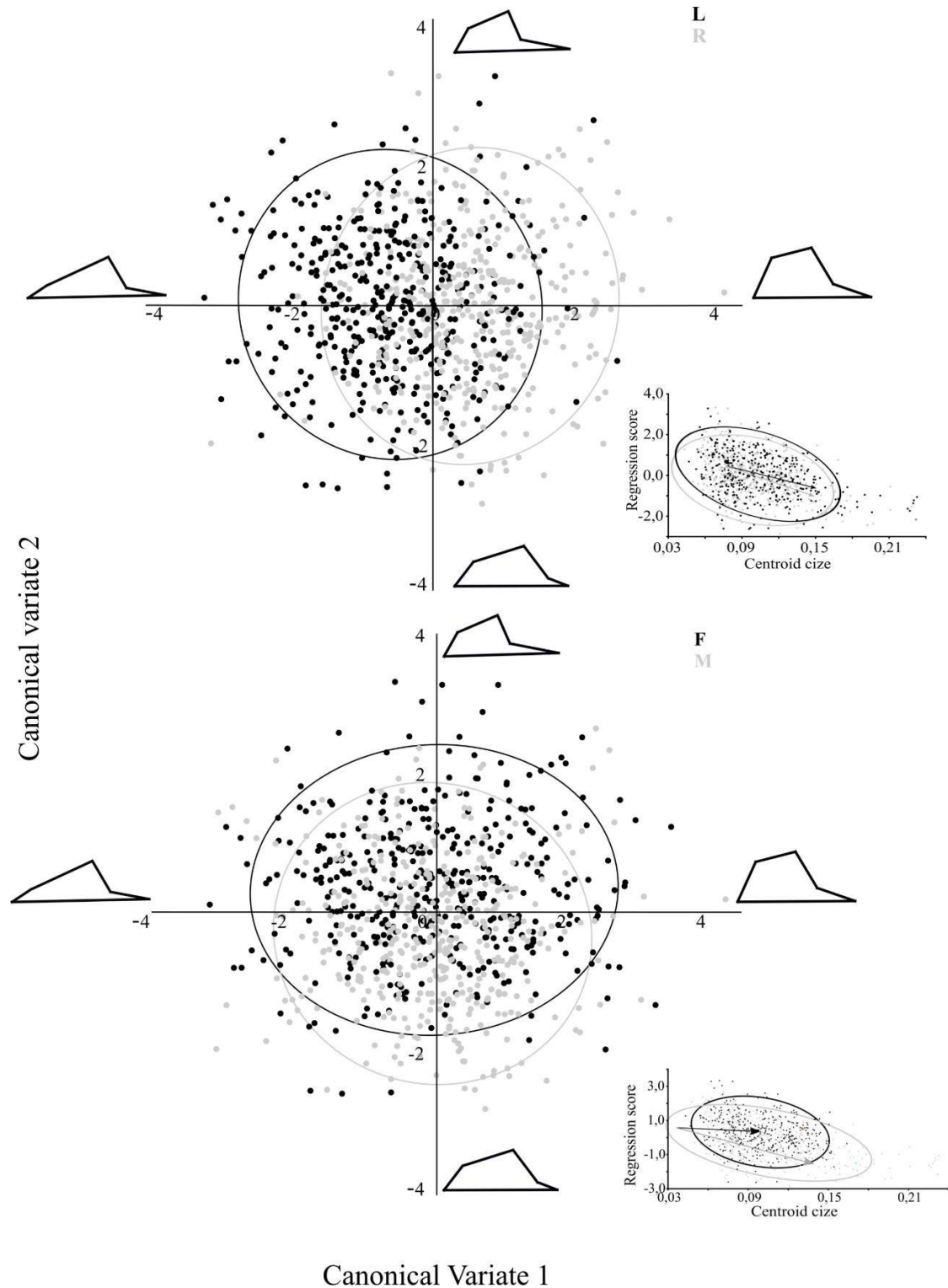


FIGURE 6: Morphological variation based on canonical variable analysis and ontogenetic trajectory based on multivariate symmetric component regression on the transformed

centroid size of the cheliped of females and males of *Goniopsis cruentata* captured in a tropical estuarine mangrove (Tamandaré-PE), from February 2019 to January 2020.

In chelipeds, the results obtained by MANOVA with Bonferroni correction also showed no significant difference in the ontogenetic comparison form (A x J), with $p > 0.5$. However, in the sexual (F x M) and laterality (R x L) interactions, significant separation was observed with $p < 0.01$.

DISCUSSION

This study shows that the morphometry and morphology of *Goniopsis cruentata* presented a remarkable ontogenetic and sexual dimorphism, whose relative growth differed according to the morphometric relationship between the sexes (males and females) and stages (juveniles and adults). These results are important events in the reproductive cycle of Brachyura crabs resulting from morphological, physiological, and behavioral changes in the evolutionary process (Hartnoll 1983). Taxonomists have employed several aspects within species boundaries to track evolutionary progress (Mayr & Ashlock 1991). For example, morphometric and morphological variables in systematic studies are reliable, targets for selection, detectable, applicable, and have generally been shaped under polygenic control (Garnier *et al.* 2005). On the other hand, traditional morphological characters are limited to measuring a few traits, while geometrical morphometry allows you to quantify a particular structure's shape (Mutanen & Pretorius 2007). In this case, this study points to quantitative variations in body shape in an important estuarine tree crab species, including changes throughout ontogenetic development.

The allometric analysis performed showed that males acquired a larger average body size than females for the *G. cruentata* population captured in a tropical estuarine mangrove and the same growth pattern was also described by Botelho *et al.* (2004) and Lira *et al.* (2012; 2014). According to Massunari *et al.* (2017), the size variation between the sexes can be explained by differentiated reproductive needs, as size dominance in male crabs increases opportunities for victory during intraspecific competition, courtship, and handling the female during copulation.

The body size of male specimens of *G. cruentata* captured on the southern coast of Pernambuco seems to be determinant in the sexual differentiation of the population (sexual dimorphism) because the variables pleon length (AL), carapace height (CH), and carapace length (CL) were responsible for the separation of males and females in both juveniles and adults. These morphometric characteristics suggest that both sexes of *G. cruentata* have a life history that prioritizes reproduction and survival, as rapid growth may provide selective advantages. For example, for larger females of this species, there is a higher egg production per clutch (Cobo & Fransozo 2000), while larger males probably intimidate smaller ones in competition for receptive females and are accepted more often. Such behavior is commonly observed for other Brachyura species (Jaroensutasinee & Jaroensutasinee 2003, Brockerhoff & McLay 2005), indicating a natural selection pattern.

As for the differentiation between juveniles and adults (ontogenetic variation), this study revealed that adult individuals of *G. cruentata* grew in carapace width and weight in the same proportion (isometry). In contrast, juveniles grew proportionally more in carapace width than weight (negative allometry). This difference may result from a differentiated diet influenced by the success in capturing food, which is higher in large-sized individuals since the

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... presence of larger unwanted individuals inhibits the presence of smaller ones, causing them to dismiss or give up capturing the baits (personal observation). Moreover, the crab's weight after maturity increases due to the androgenic gland action (Bliss, 1968; Pinheiro & Fiscarelli, 2009) and the development of reproductive cells. This change in the weight/growth model through ontogeny for Brachyura species was also found by Mantelatto & Fransozo (1992) for *Hepatus pudibundus*, Pinheiro & Fransozo (1993) for *Arenaeus cribarius*, and by Peiró *et al.* (2011) for *Austinixa aidaae*, thus supporting the hypothesis above.

However, diverging from the results found in this study, Reis *et al.* (2015) presented results for *Goniopsis cruentata*, where juvenile specimens showed negative allometry and adults positive allometry for the weight/growth relationship. Individual allometries for different locations observed in these crabs indicate that geographic variation (factors such as temperature) may influence the body size determination of Brachyura (e.g., *G. cruentata*) since, according to Lira *et al.* (2015), local conditions influence variations in Brachyura biological characteristics. Therefore, geographic variations may be associated with differences in body size, maturity, and variation in reproductive characteristics, a behavior that is present and well defined in other organisms (Atkinson 1994; Olalla-Tárraga *et al.* 2009).

Geometrical morphometry

The combination of morphological methods with morphometric data proved useful for this study, supporting the investigation of the main causes of variation in the shape of the carapace, abdominal, and chelipeds regions in this case. Furthermore, studies show that by considering the complete shape of a structure, the quantity and quality of variables for statistical analysis increases greatly, so geometrical morphometry analysis has become a

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... relevant tool for multidimensional statistical comparison of morphological characters (Bichain *et al.* 2007).

The variation found in the carapace region of *G. cruentata* reveals a greater influence of sex (sexual dimorphism) since it was not possible to find any ontogeny influence on the morphological development of the species when analyzing same-sex individuals (ontogenetic dimorphism). It should be noted that this influence is caused by the lateral displacement of landmarks 3 and 9, which causes a widening of the females' posterolateral region. This same widening results in an angular decrease of the region with a smaller displacement of landmarks 1 and 2. It is known that the wider carapace shape in female specimens emerges as a reproductive advantage since females need to develop strategies in this region to accommodate the gonads, and such differences may also reflect an adaptation for internal growth (e.g., gonad and muscle) (López-Greco *et al.*, 2004). Thus, a synoptic study with other physiological and functional methodologies can help to better understand the species' life history.

Therefore, due to the lack of variation in the cephalothorax region's shape during the ontogenetic trajectory, we can infer that such region suffers a greater influence of sexual aspects, in which more enlarged females would have greater reproductive success (the existence of hierarchy, for example). According to Reis *et al.* (2015), *G. cruentata* has a life history that prioritizes reproduction over survival, whose rapid growth provides selective advantages for both sexes, with fast-growing individuals reaching sexual maturity with larger bodies.

Several authors have already observed differences in cephalothorax shape between sexes in crustaceans (López 1965, Bond-Buckup *et al.* 2008, Giri & Loy 2008, Trevisan *et al.* 2012), reporting that this distinction is most obvious in the posterior apex of the

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... cephalothorax, specifically in the lateral region, where the posterior region is wider in females than in males. In addition, previous studies, such as those by Marochi *et al.* (2018), have shown, for example, that there is sexual dimorphism of *Aratus pisonii* in carapace shape during the juvenile phase (before pubertal molt).

The result found in the abdominal region analysis through geometrical morphometry, in which only the females presented morphological variation (displacement of landmarks 2, 3, and 4 and their respective homologues), was responsible for the widening in the sixth, fifth, and fourth abdominal segments. Such a widening caused a reduction at the end of the telson (displacement at landmark 5). This widening of the abdominal region for adult females of the Brachyura is closely related to egg storage capacity, well discussed by scholars, in which allometric and morphological growth in the female abdomen is associated with directional sexual selection due to increased fat reserve and increased area to accommodate offspring or eggs (Hartnoll 1974, Branã 1996). In both sexes, directional selection is likely related to increased reproductive success (Kodric-Brown *et al.* 2006).

The relationship between the one-dimensional measurement such as size (represented by the centroid size) and the entire shape of the pleon (represented by landmarks) allows growth to be studied as an integral approximation, thus being able to identify the degree of shape change during growth in the pleon region for females. In addition to reflecting internal growth (e.g., gonad and muscle) (Williner & Collins 2013), these differences are linked to the specimens' characteristics since larger females produce a greater number of eggs per clutch for *G. cruentata* (Cobo & Fransozo 2000).

For the male specimens, no morphological variations between developmental stages were found, implying that such morphological characteristics are not related to ontogenetic development, inferring that this region does not present a biological need that justifies an

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... energetic drive for the variation in pleon shape. Similar results were found in freshwater crabs by Silva *et al.* (2018) and Almeida *et al.* (2021). The lack of noticeable variation in the pleon of males may occur due to the structure being used only for the support and protection of the two pleopod pairs responsible for sperm transfer during mating (Castiglioni & Negreiros-Fransozo 2004, Hartnoll 1974).

The *G. cruentata* population showed significant sexual dimorphism in cheliped morphology and laterality, with no records of shape variation with specimen growth (ontogenetic variation). Regardless of the sexual influence, we could observe that the morphology found in the *G. cruentata* cheliped undergoes a greater laterality expression (principal component 1) than the sexual aspects (principal component 2) and shows no ontogenetic expression in the shape influence. This variation has been recorded for other Brachyura species, and decapods are classified as either homochelous or heterochelous (the larger cheliped can be either the right or the left). For this study, despite the influence of sex on the cheliped morphology, both sexes presented similar laterality, showing that heterochely was not influenced by sex, thus diverging from what was presented by Silva & Paula (2008) in studies with *Pachygrapsus marmoratus* and *Carcinus maenas*, in which they state that the differences found in the chelipeds can also be influenced by gender.

The cheliped morphological variation in *G. cruentata* may be related to the different functions of the right and left chelipeds. The right (slimmer) cheliped function can be used for food handling, while the left (more robust) cheliped specializes in a larger and more powerful grinding tool for breaking down smaller crab exoskeletons and other food components. This "function division" was pointed out by Schenk & Wainwright (2001) in a study where the authors compared the morphology underlying cheliped force production and intraspecific cheliped dimorphism in six species of brachyuran crabs. According to the author, in many crab

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... species, both sexes (males and females) exhibit dimorphic chelipeds, as in the *G. cruentata* case.

The ability to break the shell is directly related to the cheliped's closing force, which varies among species depending on size, leverage and dentition properties, and the type and angle of the muscle fibers closest to the cheliped (Schenk & Wainwright 2001). However, increased size and variation of the cheliped has also been associated by several authors with success in sexual and agonistic interactions (Warner 1982, Abby-Kalio & Warner 1989).

The shape of the right and left chelipeds was distinct in males and females and between sexes, a behavior not yet recorded for an arboreal species that does not exhibit a high degree of heterochely, such as the species *G. cruentata*, *A. pisonii*, and *A. angustipes*. The fixed finger of the slender and longer cheliped propodus found in females may appear as a facilitator in reaching the abdominal chamber and sensory structures in the egg cleaning and larval release process (Almerão *et al.* 2010). However, to support the hypothesis presented here, studies on the species' behavior are necessary. According to Warner (1970), species that present slightly sexually dimorphic chelipeds fall into the group where ritualized agonistic behavior also occurs in females. Therefore, the morphological expression existing between males and females of *G. cruentata* should not be limited to ritualized agonistic behavior, directing the morphology of females only to purely reproductive activities since the cause of sexually dimorphic chelipeds may offer possible advantages that would facilitate sex recognition and, therefore, facilitate courtship, described in crabs with high sexual dimorphism (*Uca*, Crane 1958; *Hemiplax*, Griffin 1968) and low sexual dimorphism (*Goniopsis*, Herma & Schöne 1963; *Pachygrapsus*, Bovbjerg 1960).

Overall, the results presented here provide new information on the development of secondary characters and their consequences on the shape and size of the carapace and the

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... propodus of the chelipeds in males and females of *Goniopsis cruentata*. Therefore, these functions could be considered morphological characters with sex-dependent differential expression (Hartnoll 1974, Barrìa *et al.* 2014). These consequences reflect the evolutionary sexual tendency toward reproduction. Furthermore, traditional morphometry and geometrical morphometry proved efficient in investigating and recognizing variations between juveniles and adults, males and females in the carapace, pleon, and cheliped with refined detail. This information is extremely important to maintain and conserve invertebrate species, especially those with commercial value, even if their conservation status is not critical.

CONCLUSION

Based on the data analysis, it was possible to observe that *Goniopsis cruentata* presents sexual dimorphism related to size, with males larger than females in carapace size. This result can be explained by the higher aggressiveness of the males and by sexual selection, as observed in other crustaceans.

When the carapace shape variation was analyzed, females presented a wider posterior carapace region due to the need for a larger compartment in females for egg development and transportation. Regarding the cheliped shape, both presented heterochely, although the males presented a more robust cheliped than females, indicating, once again, the sexual selection action. However, the laterality presented a higher morphological separation force.

REFERENCES

ABBY-KALIO NJ, & WARNER GF. 1989. Heterochely and handedness in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) (Crustacea: Brachyura). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 96: 19-26. DOI: 10.1111/j.1096-3642.1989.tb01819.x

ACCIOLY IV, LIMA-FILHO PA, SANTOS TL, BARBOSA ACA, CAMPOS LBS, SOUZA JV, ARAÚJO WC, & WAGNER FM. 2013. Sexual dimorphism in *Litopenaeus vannamei* (Decapoda) identified by geometric morphometrics. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 8: 276-281.

ALENCAR CERD, LIMA-FILHO PA, MOLINA WF, & FREIRE FAM. 2014. Sexual Shape Dimorphism of the Mangrove Crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda, Ucididae) Accessed through Geometric Morphometric. *The Scientific World Journal* 1: 1- 8. DOI: 10.1155/2014/206168

ALMEIDA DS, MENEZES ANC, & SHINOZAKI-MENDES RA. 2021. Ontogenetic variation of the *Goyazana Castelnau* H. Milne Edwards, 1853 (Brachyura, Trichodactylidae), crab in the semiarid region of Brazil. *Anais da academia brasileira de ciências*.

ALMERÃO M, BOND-BUCKUP G, & MENDONÇA JR. M. DE S. 2010. Mating behavior of *Aegla platensis* (Crustacea, Anomura, Aeglidae) under laboratory conditions. *Journal of Ethology*. 28: 87-94. DOI: 10.1007/s10164-009-0159-7

ATKINSON D.1994. Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*. 25: 1–58.

BARRÍA EM, SEPÚLVEDA RD, & JARA CG. 2011. Morphologic variation in *Aegla Leach* (Decapoda: Reptantia: Aeglidae) from Central-Southern Chile: interspecific differences, sexual dimorphism, and spatial segregation. *Journal of Crustacean Biology*. 31: 231-239. DOI: 10.1651/10-3324.1

BLISS DE. 1968. Transition from Water to Land in Decapod Crustaceans. *American Zoologist* 8:355-392. DOI: 10.1093/icb/8.3.355

BOND-BUCKUP G, JARA CG, PÉREZ-LOSADA M, BUCKUP L, & CRANDALL KA. 2008. Global diversity of crabs (Aeglidae: Anomura: Decapoda) in freshwater. *Hydrobiologia*. 595: 267-273.

BOVBJERG RV. 1960. Courtship behaviour of the lined shore crab *Pachygrapsus crassipes* Randall. *Pacific Science*. 14: 421-422.

BOTELHO ERO, ANDRADE CER, & SANTOS MCF. 2004. Estudo da população de aratu-do-mangue *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) no estuário do rio Camaragibe (Alagoas - Brasil). Boletim. Técnico-científico do Cepene. Tamandaré. 12: 91-98.

BOWER LM, & PILLER KR. 2015. Shaping up: a geometric morphometric approach to assemblage ecomorphology. *Journal of Fish Biology*. 87: 691-714. DOI: 10.1111/jfb.12752

BRAÑA F. 1996. Sexual dimorphism in lacertid lizards: male head increase vs female abdomen increase? *Oikos* 75: 511–523. DOI: 10.2307/3545893

BROCKERHOFF AM, & MCLAY CL. 2005. Comparative analysis of the mating strategies of grapsid crabs with special reference to the intertidal crabs *Cyclograpsus lavauxi* and *Helice crassa* (Decapoda: Grapsidae) from New Zeland. *Journal of Crustacean Biology*. 25: 507-520. DOI: 10.1651/C-2548

BURGGREN WW, MOREIRA GS, & SANTOS MCF. 1993. Specific dynamic action and the metabolism of the brachyuran land crabs *Ocypode Quadrata* (Fabricius, 1787), *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) and *Cardisoma guanhumi* latreille, 1825 *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*. Amsterdam. 169: 117-130.

- Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...
CASTIGLIONI DS, & NEGREIROS-FRANZOZO ML. 2004. Comparative analysis of the relative growth of *Uca rapax* (Smith) (Crustacea, Ocypodidae) from two mangroves in São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 21:137-144. DOI: 10.1590/S0101-81752004000100023
- COBO VJ, & FRANZOZO A. 2003. External factors determining breeding season in the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea: Brachyura: Grapsidae) on the São Paulo State northern coast, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 20: 213–217. DOI: 10.1590/S0101-81752003000200007
- COBO VJ, & FRANZOZO A. 2005. Physiological maturity and relationships of growth and reproduction in the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Brachyura, Grapsidae) on the coast of Sao Paulo. *Revista Brasileira de Zoologia*. 22: 219-223. DOI: 10.1590/S0101-81752005000100027
- COSTA RG, ARAÚJO CFS, FERREOLBAH AH, JUNIOR EAG, RODRIGUES YJM & MENEZES-FILHO JA. 2018. Lead in mangrove root crab (*Goniopsis cruentata*) and risk assessment due to exposure for estuarine villagers. *Food Additives & Contaminants: Part B*, DOI:10.1080/19393210.2018.1504824
- COSTA RG, FERREOL BAH HA, BANDEIRA MJ, OLIVEIRA SSP & MENEZES-FILHO JA. 2017. Lead and cadmium in mangrove root crab (*Goniopsis cruentata*), in natura and at foodprocessing stages. *Food Additives & Contaminants: Part B*, DOI:10.1080/19393210.2017.1322638.
- CRANE J. 1958. Aspects of social behaviour in fiddler crabs, with special reference to *Uca maracoani* (Latreille). *Zoologica*. 43: 113-130. DOI: 10.5962/p.203380
- DAVANSO MB, MOREIRA LB, PIMENTEL MF, COSTA-LOTUFO LV, & ABESSA DMS. 2013. Biomarkers in mangrove root crab *Goniopsis cruentata* for evaluating quality of tropical estuaries. *Marine Environmental Research*. 91: 80–88. DOI:10.1016/j.marenvres.2013.02.0

FERREIRA AC, BEZERRA LEA, & MATTHEWS-CASCON H. 2019. Aboveground carbon stock in a restored neotropical mangrove: influence of management and brachyuran crab assemblage. *Wetlands Ecology and Management*. DOI: 10.1007/s11273-019-09654-7.

GARCIA TM, & SILVA JRF. 2006. testis and vas deferens morphology of the red-clawed mangrove tree crab (*Goniopsis cruentata*) (Latreille, 1803). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 49: 339-345. DOI: 10.1590/S1516-89132006000300019

GARNIER S, MAGNIEZ-JANNIN F, RASPLUS JY, & ALIBERT P. 2005. When morphometry meets genetics: inferring the phylogeography of *Carabus solieri* using Fourier analyses of pronotum and male genitalia. *Journal Evolutionary Biology*. 18:269–280. DOI: 10.1111/j.1420-9101.2004.00854.x

FRANSOZO A, CUESTA JA, & NEGREIROS-FRANSOZO ML. 1998. The first zoeal stage of two species of Grapsidae (Decapoda, Brachyura) and a key to such larvae from the brazilian coast. *Crustaceana*. 71: 331-343. DOI: 10.1163/156854098X00293

GIRI F, & LOY A. 2008. Size and shape variation of two freshwater crabs in Argentinean Patagonia: the influence of sexual dimorphism, habitat, and species interactions. *Journal of Crustacean Biology*. 28: 37-45. DOI: 10.1651/07-2824R.1

GRIFFIN DJG. 1968. Social and maintenance behaviour in two Australian ocypodid crabs (Crustacea: Brachyura). *Journal of Zoology*. 156: 291-305.

HARTNOLL RG. 1982. Growth. In: D.E. Bliss (Ed.) *The Biology of Crustacea: Embryology, Morphology and Genetic*, pp. 111-196. Academic Press, New York, NY.

HARTNOLL RG. 1983. Strategies of crustacean growth. p. 121–131. In: J.K. Lowry (ed), *Conference on the biology and evolution of crustacea*. Sydney, Australia Museum.

- Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...
- HERMA V, & SCHÖNE H. 1963. Balz und andere Verhaltenweisen der Mangrovekrabbe *Goniopsis cruentata* Latr. und das Winkverhalten der eulitoralen Brachyuren. *International journal of behavioural biology ethology*. 20: 641-656.
- KRISTENSEN E. 2008. Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. *Journal of Sea Research* 59: 30–43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seares.2007.05.004>.
- KLINGENBERG CP. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*. 11: 353-357.
- KODRIC-BROWN A, SIBLY RM, & BROWN JH. 2006. The allometry of ornaments and weapons. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 103: 8733–8738. DOI: 10.1073/pnas.0602994103
- LIMA-GOMES RC, COBO VJ, & FRANSOZO A. 2011. Feeding behaviour and ecosystem role of the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsoidea) in a subtropical estuary on the Brazilian coast. *Crustaceana*. 84: 735–747. DOI: 10.1163/001121611X579141
- LIRA JJPR, CALADO TCS, & ARAUJO MSLC. 2012. Condition factor of *Goniopsis cruentata* (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) from Mundaú/Manguaba estuarine complex, Alagoas, Brazil. *Iheringia, Série Zoologia*. DOI: 10.1590/S0073-47212012005000001.
- LIRA JJPR, & CALADO TCS. 2013. Reproductive aspects and adaptive relative growth of the tropical crab *Goniopsis cruentata*. *Animal Biological*. 63: 407–424. DOI: 10.1163/15707563-00002422.

LIRA JJPR, CALADO TCS, & ARAUJO MSLC. 2013. Breeding period in the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Decapoda: Grapsidae) in Northeast Brazil. *Revista de Biología Tropical*. 61: 29–38.

LIRA JJPR, SILVA JRF, REZENDE CF, MARTINS RP, FERREIRA TO, & SOUZA LP. 2014. Population biology of the crab *Goniopsis cruentata*: variation in body size, sexual maturity, and population density. *Animal Biological*. 64: 383–394. DOI: 10.1163/15707563-00002453

LIRA JJPR, CALADO TCS, REZENDE CF, & SILVA JRF. 2015. Comparative biology of the crab *Goniopsis cruentata*: geographic variation of body size, sexual maturity, and allometric growth. *Helgoland Marine Research*. 69:335-342 DOI: 10.1007/s10152-015- 0441-8.

LOBÃO VL, ROVERSO EA, LACE M, & HORTENCIO E. 1996. Ciclo de muda e crescimento em *Macrobrachium amazonicum* Heller, 1862 e *Macrobrachium rosenbergii* De Man (Decapoda, Palaemonidae). *Boletim Instituto da Pesca*. São Paulo. 23: 35-45.

LÓPEZ-GRECO LS, VIAU V, LAVOLPE M, BOND-BUCKUP G, & RODRIGUEZ EM. (2004). Juvenile hatching and maternal care in *Aegla uruguayana* (Anomura, Aeglidae). *Journal of Crustacean Biology*. 242: 309-313.

LÓPEZ MT. 1965. Estudios biológicos en *Aegla odebrechtii paulensis*, Schmitt (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Boletim de Zoologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras*. 25: 301-314. DOI: 10.11606/issn.2526-3382.bffclzoologia.1965.120683

MANTELATTO FLM, & FRANSOZO A. 1992. Relação peso/largura da carapaça no caranguejo *Hepatus pudibundus* (Herbst, 1785) (Crustacea, Decapoda, Callapidae) na região de Ubatuba, SP, Brasil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 35: 719- 724. DOI: 10.1590/S0101-81752005000400002

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...

MASUNARI S, MARTINS SB, MAROCHI MZ, SERRA WS, & SCARABINO F. 2017. Morphological variability in populations of the fiddler crab *Leptuca uruguayensis* (Nobili, 1901) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) from South America. *Brazilian Journal of Oceanography*. 65: 373–381. DOI: [10.1590/s167987592017136606503](https://doi.org/10.1590/s167987592017136606503).

MAROCHI MZ, COSTA M, LEITE RD, CRUZ LDC, & MASUNARI S. 2018. To grow or to reproduce? Sexual dimorphism and ontogenetic allometry in two Sesarmidae species (Crustacea: Brachyura). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 1: 1-14. DOI: 10.1017/S0025315418000048

MAYR E, ASHLOCK PD. 1991. Principles of systematic zoology, 2nd edn. McGraw-Hill Inc, New York.

MOURA NFO, COELHO FILHO, PA, & COELHO, PA. 2000. Population structure of *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) in the Paripe estuary, Brazil. *Nauplius*. Rio Grande. 8: 73-78.

MOURA NFO, & COELHO PA. 2003. Fecundidade de *Goniopsis cruentata* (latreille, 1803) (crustacea, brachyura, grapsidae) no manguezal do Rio Paripe – Pernambuco - Brasil. *Tropical Oceanography*. 31. DOI: 10.5914/tropocean.v31i2.5020

MOURA NFO, & COELHO PA. 2004. Maturidade sexual fisiológica em *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) no Estuário do Paripe, Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 21: 1011-1015. DOI: 10.1590/S0101-81752004000400039

MUTANEN M, & PRETORIUS E. 2007. Subjective visual evaluation versus traditional and geometric morphometrics in species delimitation: a comparison of moth genitalia. *Systematic Entomology*. 32:371–386. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2006.00372.x

- Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...
OLALLA-TÁRRAGA MA, DINIZ-FILHO JAF, BASTOS RP, & RODRÍGUEZ MA. 2009. Geographic body size gradients in tropical regions: water deficit and anuran body size in the Brazilian Cerrado. *Ecography* 32: 581–590. DOI: 10.1111/j.1600-0587.2008.05632.x
- PEIRÓ DF, PEZZUTO PR, & MANTELATTO FL. 2011. Relative growth and sexual dimorphism of *Austinixa aida* (Brachyura: Pinnotheridae): a symbiont of the ghost shrimp *Callichirus major* from the southwestern Atlantic. *Latin American Journal of Aquatic Research* 39: 261-270. DOI: 10.3856/vol39-issue2-fulltext-7
- PINHEIRO MAA. & FISCARELLI AG. 2009. Length-weight relationship and condition factor of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 52: 397-406.
- PINHEIRO MAA, & FRANSOZO A. 1993. Biometric relationship analysis of the wet weight by carapace width to the swimming crab *Arenaeus cribarius* (Lamarck, 1818) (Crustacea, Brachyura, Portunidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 36: 331-341.
- PINHEIRO MAA, SANTANA W, BEZERRA LEA, KRIEGLER N, & RIO JPP. 2016. Avaliação dos Caranguejos Grapsídeos (Decapoda: Grapsidae). Cap. 14: 182-191. In: PINHEIRO MAA, & BOOS H. (Org.). (Eds.), Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014. Porto Alegre (RS): Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC. p. 466.
- PONSSA ML, & CANDIOTI MFV. 2012. Patterns of skull development in anurans: size and shape relationship during postmetamorphic cranial ontogeny in five species of the *Leptodactylus fuscus* Group (Anura: Leptodactylidae). *Zoomorphology*. 131: 349-362. DOI: 10.1007/s00435-012-0164-1
- REIS, C. R., TADDEI, F. G., COBO, V. J. 2015. Growth and reproduction of the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803)(Crustacea: Decapoda: Grapsidae) in southeastern Brazil.

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...
Anais da Academia Brasileira de Ciências. 87: 699-711. DOI: 10.1590/0001-3765201520130387

ROHLF FJ, & MARCUS LF. 1993. A revolution in morphometrics. *TREE*. 8: 129-132.

RUFINO M, ABELLÓ P, & YULE AB. 2004. Male and female carapace shape differences in *Liocarcinus depurator* (Decapoda, Brachyura): an application of geometric morphometric analysis to crustaceans. *Italian Journal of Zoology*. 71: 79-83. DOI: 10.1080/11250000409356554

SANTOS MCF, & BOTELHO ERO. 2002. Estudos biológicos do aratu, *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) no estuário do rio Una, município de São José da Coroa Grande (Pernambuco – Brasil). *Boletim Técnico Científico do CEPENE, Tamandaré*.10: 171-186.

SANTOS MCF, BOTELHO ERRO, IVO CTC. 2001 Biologia populacional e manejo de pesca de aratu, *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) no litoral sul de Pernambuco-Brasil. *Boletim Técnico Científico CEPENE, Tamandaré*. 9: 87-123.

SCHENK SC, & WAINWRIGHT P. 2001. Dimorphism and the functional basis of claw strength in six brachyuran crabs. *Journal of Zoology*. 255: 105–119. DOI: 10.1017/S0952836901001157

SILVA LN, ALMEIDA PRS, & SHINOZAKI-MENDES RA. 2018. Dimorfismo sexual e alometria ontogenética em *Goyazana castelnaui* (Crustacea, Brachyura). *Iheringia*. DOI: 10.1590/1678-4766e2018008.

SILVA IC, & PAULA J. 2008. Is there a better chela touse for geometric morphometric differentiation in brachyuran crabs? A case study using *Pachygrapsus marmoratus* and *Carcinus maenas*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 88: 941-953. DOI: 10.1017/S0025315408001483.

- Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...
- SILVA ZS, & OSHIRO LMY. 2002. Crescimento em *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustácea, Decapoda, Grapsidae) no laboratório. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba.19: 915-923. DOI: 10.1590/S0101-81752002000300028
- SOUZA ALP, & PINHEIRO MAA. 2012. Relative growth and reproduction in *Achelous spinicarpus* (Crustacea: Portunidae) on the south-eastern continental shelf of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 1: 1-8. DOI: 10.1017/S0025315412000318
- SOUSA EC, ACIOLE SDG, & CALADO TCS. 2000. Considerações ecológicas do caranguejo *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) Complexo Estuarino-Lagunar Mundaú/Manguaba –Alagoas. *Boletim Nível Estudos Ciências Marinhas*, Maceió. 11: 143-164.
- TATSUTA H, MIZOTA K, & AKIMOTO SI. 2004. Relationship between size and shape in the sexually dimorphic beetle *Prosopocoilus inclinatus* (Coleoptera: Lucanidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 81: 219-233. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2003.00279.x
- YOUNG RE. 1973. Responses to respiratory stress in relation to blood pigment affinity in *Goniopsis cruentata* (Latreille) and (to a lesser extent) in *Cardisoma guanhumi* Latreille. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*, Amsterdam. 11: 91-102. [DOI: 10.1016/0022-0981\(73\)90020-8](https://doi.org/10.1016/0022-0981(73)90020-8)
- ZANDERS IP. 1978. Ionic regulation in the mangrove crab *Goniopsis cruentata*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 60: 293-302. DOI: 10.1016/0300-9629(78)90252-9
- ZANDERS IP, MARTELO MJ. 1986. Influence of temperature on ionic regulation in the mangrove crab *Goniopsis cruentata*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 78: 249-254. DOI: 10.1016/0300-9629(84)90140-3

- Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...
- ZELDITCH ML, & SWIDERSKI DLA. 2012. Practical Companion to Geometric Morphometrics for Biologists: Running analyses in freely-available soft-ware. 2nd ed. Amsterdam, *Elsevier*. 488p
- WARNER GF. 1970. Behaviour of Two Species of Grapsid Crab during Intraspecific Encounters. *Behaviour*. 36: 9-19.
- WARNER GF, CHAPMAN D, HAWKEY N, & WARING DG. 1982. Structure and function of the chelae and chela closer muscles of the shore crab *Carcinus maenas* (Crustacea: Brachyura). *Journal of Zoology*. 196: 431:438. DOI: 10.1111/j.1469-7998.1982.tb03514.x
- WELLENS S, SANDRINI-NETO L, GONZÁLEZ-WANGUEMERT M, & LANA P. 2015. Do the crabs *Goniopsis cruentata* and *Ucides cordatus* compete for mangrove propagules? A field-based experimental approach. *Hydrobiologia*. DOI 10.1007/s10750-015-2245-x
- WILLINER V, & COLLINS PA. 2013. Feeding ecology of the freshwater crab *Trichodactylus borellianus* (Decapoda: Trichodactylidae) in the floodplain of the Paraná River, southern South America. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 41: 781- 79. DOI: 10.3856/vol41-issue4-fulltext-15

Artigo a ser submetido a revista *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*

ARTIGO III: Os efeitos dos desastres ambientais no desenvolvimento ontogênico dos crustáceos: Um estudo de caso com a espécie *Goniopsis cruentata* capturada em área afetada por derramamento de óleo

Lucas N Silva ¹, Rosângela Paula Teixeira Lessa ², Mauro de Melo Júnior ³, Renata A Shinozaki-Mendes¹

- 1- Laboratório de Biologia Pesqueira - LAPeq;
- 2- Laboratório de Dinâmica de Populações Marinhas– DIMAR;
- 3- Laboratório de Ecologia de Plâncton - LEPLANC.

Resumo: Os padrões de distribuição de tamanho e forma de *G. cruentata* apresentaram diferenças perceptíveis, para técnicas de morfometria linear, no entanto, esse padrão não foi notado para a geométrica, entre os períodos pré e pós-derramamento. Na morfometria linear a análise dos componentes principais de cada grupo (FJ, MJ, FA e MA), as duas primeiras componentes somaram mais de 70,0% de explicação para todas as comparações (antes e depois) indicando uma variação morfométrica entre os períodos. Na morfometria geométrica ao comparar a distância de procrustes da vista dorsal através da análise de variável canônica (AVC), pré e pós derramamento, não foi observada diferença estatística significativa entre os pares: FA (a x d) ($p = 0,29$), FJ (a x d) ($p = 0,88$), MA (a x d) ($p = 0,60$) e MJ (a x d) ($p = 0,50$). Após o período de 48hs de exposição das larvas à FSA, durante o primeiro experimento para avaliar o efeito agudo do óleo, os percentuais de mortalidade variaram de 0 a 100% com média de $19 \pm 21\%$. Observou-se que concentração de 12,5% FSA apresentou a média mais elevada de mortalidade ($29\% \pm 26\%$), não diferindo da concentração controle ($17 \pm 18\%$) e os demais tratamentos (Dunn, $p > 0,05$). Assim vimos que contaminação por óleo não afeta a sobrevivência das larvas de caranguejo como um componente integral do zooplâncton, nem sua mobilidade o que pode ter um impacto adverso em outros organismos marinhos. No entanto surge como forte indício de impactos indireto provocando alterações morfológicas em regiões como quelipodo e abdome do *Goniopsis cruentata*.

PALAVRAS-CHAVES: Brachyura, morfometria linear, morfometria geométrica, hidrocarbonetos

ABSTRACT: The patterns of size and shape distribution of *G. cruentata* showed noticeable differences, for linear morphometric techniques, however, this pattern was not noticed for the geometric one, between the pre and post-shedding periods. In linear morphometry, the analysis of the principal components of each group (FY, MY, FA and MA), the first two components added up to more than 70.0% of explanation for all comparisons (before and after) indicating a morphometric variation between the periods. In geometric morphometry, when comparing the distance of procrustes from dorsal view through canonical variable analysis (CVA), pre and post spill, no statistically significant difference was observed between the pairs: FA (a x b) ($p = 0.29$), FY (a x b) ($p = 0.88$), MA (a x b) ($p = 0.60$) and MY (a x b) ($p = 0.50$). After a period of 48 h of exposure of the larvae to ASF, during the first experiment to evaluate the acute effect of the oil, the mortality percentages ranged from 0 to 100% with a mean of $19 \pm 21\%$. It was observed that a concentration of 12.5% FSA had the highest mean mortality ($29\% \pm 26\%$), not differing from the control concentration ($17 \pm 18\%$) and the other treatments (Dunn, $p > 0.05$). Thus we have seen that oil contamination does not affect the survival of crab larvae as an integral component of zooplankton, nor their mobility which can have an adverse impact on other marine organisms. However, it appears as a strong indication of indirect impacts causing morphological changes in regions such as the cheliped and abdomen of *Goniopsis cruentata*.

KEYWORDS: Brachyura, linear morphometry, geometric morphometry, hydrocarbons

INTRODUÇÃO

Milhares de derramamentos de óleo ocorrem nas águas do mundo a cada ano, embora a maioria seja de pequena dimensão espacial (Stacy *et al* 2019). Esses derramamentos, mesmo sendo classificados como relativamente pequenos, podem causar grandes danos ambientais e econômicos, dependendo da localização, época do ano, sensibilidade dos recursos ambientais, quantidade e tipo de óleo, duração da liberação e eficácia das ações de resposta (ou seja, limpeza e / ou contenção), afetando uma grande variedade de vida selvagem por esses derramamentos (White & Molloy 2001; Clifton 2014). A contaminação por óleo pode persistir no ambiente marinho por muitos anos após o derramamento e, em casos excepcionais, como manguezais, os efeitos podem ser mensuráveis por décadas após o evento (Kingston 2002).

Entre o final de agosto e início de setembro de 2019 foi observado um derramamento de petróleo bruto em mar aberto que alcançou as praias da costa tropical do Brasil. Devido à circulação oceânica na região o óleo se espalhou ao longo de mais de 3000 km da costa brasileira em aproximadamente 980 praias, tornando este incidente o mais extenso e severo desastre ambiental já registrados na história do Brasil, na bacia do oceano Atlântico Sul e em regiões costeiras tropicais em todo o mundo (Soares *et al.* 2020, Magalhães *et al.* 2021). Ainda segundo esses autores, o óleo foi provavelmente liberado na Corrente Sul Equatorial ou nas águas próximas à sua bifurcação. A Corrente Norte do Brasil, que flui para noroeste, transportou o óleo para o norte, já a Corrente do Brasil que flui para o sudoeste transportou o petróleo até o sul da região.

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos na área de incidência, onde foram encontrados fragmentos de óleo, com o intuito de quantificar a magnitude dos impactos ambientais em vários ecossistemas costeiros (manguezais, estuários, baías, praias) e de plataforma (recifes de coral, prados de ervas marinhas, leitos de rodolitos) (Escobar, 2019; Brum *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2020; Lourenço *et al.*, 2020; Nasri Sissini *et al.*, 2020; Disner e Torres 2020; Magris e Giarrizzo 2020; Soares *et al.* 2020a, b; Araújo *et al.*, 2021; Magalhães *et al.*, 2021; Magalhães *et al.* 2022) incluindo a Área de Proteção Ambiental (APA) dos Corais, local de estudo do presente trabalho

Os efeitos do óleo, especialmente quando associados a grandes derramamentos, nas populações e comunidades de organismos aquáticos têm recebido atenção considerável no último ano. Embora a maioria das mudanças documentadas para as populações e as comunidades afetadas tenham se concentrado na mortalidade como o principal impacto, ou ainda efeito direto. Segundo Schaefer *et al* (2015), tais efeitos podem ser classificados como

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... letais e subletais. O primeiro consiste na morte dos indivíduos como ação direta devido a exposição a composto tóxicos, para os níveis não letais ainda é necessário expandir o entendimento de mudanças menos óbvias para entender como os sistemas são alterados como resultado da poluição por óleo ou qualquer outra perturbação ambiental.

Ao avaliar os efeitos potenciais do desenvolvimento do petróleo no ecossistema marinho, é importante conhecer a sensibilidade relativa de várias espécies em diferentes estágios de vida ao petróleo. Esse conhecimento deve ajudar na identificação de nichos, estações ou áreas especialmente vulneráveis ao petróleo. Os estágios larvais de invertebrados marinhos têm sido considerados os mais sensíveis a estresses ambientais naturais. No entanto, evidências recentes sugerem que as larvas podem não ser tão sensíveis quanto os adultos a estresses causados pelo homem, como a poluição por óleo (Thonson, 1950; Brodersen, 1977).

Comumente conhecido no Brasil como aratu, maria-mulata ou aratu vermelho, o caranguejo vermelho do mangue *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) é uma espécie semiterrestre comum nos manguezais brasileiros e pode ser encontrada no Atlântico leste desde o Senegal a Angola e as ilhas de Cabo Verde, e no Atlântico oeste da Flórida, Golfo do México, Bermudas, Antilhas, Guianas e Brasil (Melo 1996). Esta espécie é um importante recurso pesqueiro para as comunidades tradicionais localizadas ao longo da costa nordeste do Brasil (Pinheiro *et al.* 2016), especialmente nos estuários de Pernambuco, Sergipe e Bahia, onde se destaca por seu valor econômico (Moura & Coelho 2004). O *G. cruentata* também desempenha um importante papel ecológico no manguezal, afetando a biogeoquímica do solo, as taxas de decomposição e a ciclagem de nutrientes (Kristensen 2008; Lima-Gomes *et al.* 2011).

Os estudos de caracteres morfológicos com o objetivo de definir e caracterizar populações são, desta forma, considerados uma das ferramentas mais importante para a avaliação dos estoques pesqueiros e entendimento da dinâmica populacional devido suas características: simples, econômica e comumente utilizada (Almeida *et al.* 2008). Os caranguejos constituem um grupo ideal para estudos morfométricos, cuja aplicação desses métodos podem trazer informações valiosas sobre o bem-estar de um animal, bem como outros aspectos sobre sua biologia (Mantelatto & Fransozo 1992).

Sendo assim, os estudos que fazem uso desta metodologia contribuem potencialmente para a avaliação do estoque de uma população, para seu melhor manejo e conservação ao longo das regiões costeiras e para inferir acerca de ações perturbadoras provocadas por alterações em condições ambientais (Weissing *et al.* 2011) ou em habitats diferentes, levando ao surgimento de vários ecótipos.

Sabendo das inúmeras lacunas existente na ciência sobre o efeito a curto prazo das manchas de óleos no que diz respeito a comunidades bentônicas, especificamente nos

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... Brachyura, o presente estudo objetiva investigar a influência na taxa de sobrevivência de larvas de caranguejos e os efeitos na taxa de deslocamento desses organismos, além de compreender como a presença de grandes quantidades de hidrocarbonetos de petróleo no manguezal atua sobre as relações morfométricas e morfológicas dos caranguejos, usando a espécie *Goniopsis cruentata* capturadas pré e pós derramamento como modelo de estudo de caso.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de coleta

O presente estudo foi realizado em um sistema de manguezal localizado no município Tamandaré, nordeste do Brasil, que faz parte de uma Área Marinha Protegida, a MPA “Costa dos Corais” (FIGURA 1), criada em abril de 1999 por meio de um decreto Federal. O clima é do tipo litorâneo, quente e úmido, com precipitação pluviométrica anual elevada, em torno de 2000 mm. Com marés semidiurnas com amplitudes médias de 2,4 m e temperatura da água do mar variando entre 24°C e 31°C (Moura 1991). A área estuarina é de planície alagada, recoberta em toda sua extensão por mangues das espécies *Rhizophora mangle* L. (mangue vermelho), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. F. (mangue branco), *Avicenia schaueriana* Stapf. & Leechman (mangue preto) e *Canocarpus erectus* L. (mangue de botão) (Duarte 1993).

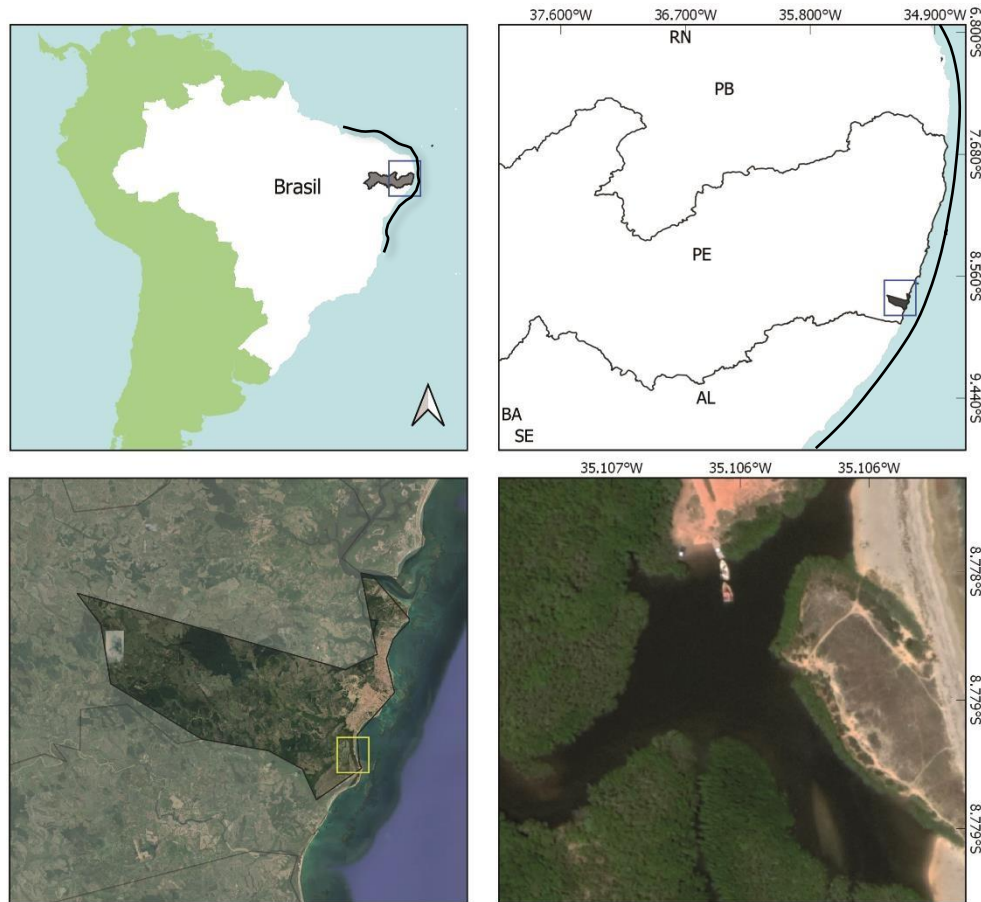


FIGURA 1: Mapa de localização do manguezal de estuário tropical, localizado em Tamandaré na cidade de Tamandaré (Nordeste do Brasil), local de coleta do caranguejo *Goniopsis cruentata*, entre fevereiro/2019 e janeiro/2020. —Derramamento de óleo. Fonte: Silva *et al.* 2022

Captura dos indivíduos e cultivo das larvas:

A amostragem dos indivíduos ocorreu durante o período de janeiro de 2019 a janeiro de 2020, sempre no período diurno, durante a maré baixa de sizígia. Os caranguejos foram capturados com o uso de linha de nylon e isca sem anzol, sempre no momento de “exibição” (fora de tocas de outros caranguejos ou tronco de árvores) e posteriormente acondicionados em recipientes plásticos. Os espécimes que não apresentaram todos os apêndices foram devolvidos ao ambiente. Foram ainda coletadas as variáveis abióticas: Temperatura da água e do ar, utilizando um termômetro de mercúrio e álcool, respectivamente e salinidade utilizando um refratômetro. Os indivíduos coletados entre fevereiro e julho de 2019 foram classificados como “pré derramamento” e os indivíduos coletados entre ago/2019 a jan/2020, foram classificados como “pós do derramamento”.

As flarvas utilizadas no experimento de efeito crônico e da sobrevivência larval obtidas

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... através de cultivo de fêmeas ovígeras capturadas em março de 2022. Após o período de 16 dias as larvas recém eclodidas foram imediatamente transferidas para beckers de 2L contendo água do mar filtrada (0.45µm) mantidos durante cerca de 24hs, nas condições de temperatura 28°C, salinidade 28, oxigênio > 6 mg L⁻¹, fotoperíodo de 12:12hs, pH 7,8.

Análise laboratorial

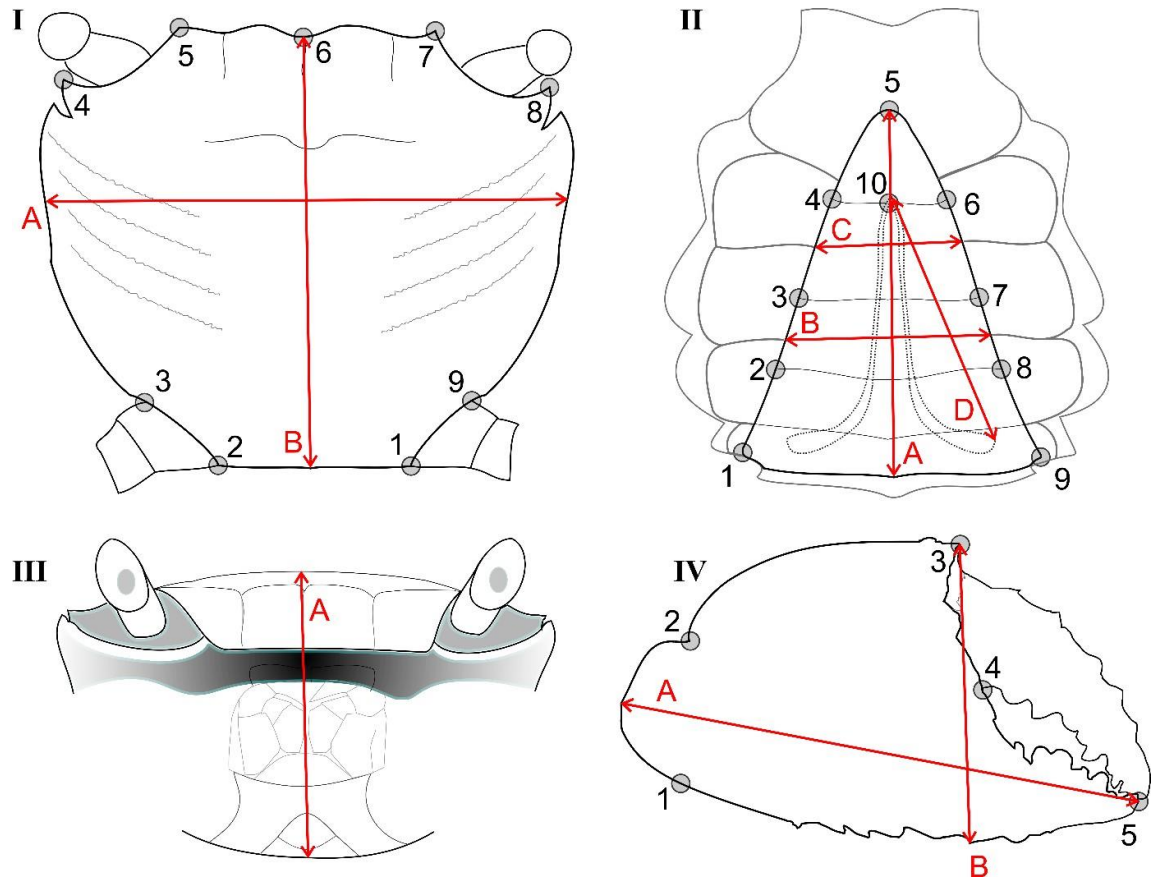
Após o processo de crioanestesia, os indivíduos foram inicialmente identificados quanto à espécie e ao sexo de acordo com Melo (1993). Posteriormente, foram medidos com um paquímetro de precisão 0,01 mm e pesados com precisão de 0,01 g. Após as medições, os espécimes foram acondicionados em uma cama modeladora (a fim de remover a influência do seu abaulamento no paralelismo da imagem) oposta a uma câmera acoplada a um tripé paralelo ao plano, com lente com distância focal de 50mm, e fotodocumentados em sua região dorsal, ventral e quelas (direita e esquerda) para posterior análise de morfometria geométrica (Figura 2), cujos marcos e semi marcos anatômicos estão ilustrados com precisão de 0,01 g. Em seguida, foram identificados quanto à maturidade morfométrica, em que machos a partir de 2,59 mm e fêmeas maiores que 2,69 mm de largura de carapaça foram considerados adultos, com base na análise prévia do ponto de máxima inflexão das retas na relação entre LC x L5 e LC x LP, para fêmeas e machos respectivamente. Para analisar a alometria de crescimento e maturidade morfométrica, foi utilizada a função linear $y = \beta_0 + \beta_1 x$ para as medidas lineares em que:

β_0 = intercepto no eixo das ordenadas;

β_1 = coeficiente angular de crescimento alométrico;

x = variável independente;

y = variável dependente.



I - **A** = carapace width (CW); **B** = carapace length (CL); 1, 2 - posterior margin, 3, 9 - posterolateral margin, 4, 8 - anterolateral margin, 5, 7 - front end, 6 - forehead center. **II** - **A** = abdomen length (AL); **B** = width of the fourth abdominal segment (W4); **C** = width of the fifth abdominal segment (W5); **D** = gonopod length (GL); 1 - anterior center margin of the abdomen, 1, 9 - anterior margin of the abdomen, 2 - 8 margin of the fourth abdominal somite, 3 - 7 margin of the fifth abdominal somite, 4 - 6 margin of the sixth abdominal somite, 5 - top of the telson, ten centers sixth abdominal somite. **III** - **A** = carapace height (CH). **IV** - **A** = right and left cheliped length (CLr and CLl); **B** = right and left cheliped height (CHr and CHl); 1 - lower attachment point of carpus with manus, 2 - upper attachment point of carpus with manus, 3 - upper point of dactylar joint with manus, 4 - lower point of dactylar joint with manus, 5 - polex tip.

FIGURE 2: Distribuição dos marcos anatômicos e medidas lineares de *Goniopsis cruentata* capturados entre fevereiro/2019 e janeiro/2020 em um manguezal estuarino tropical em Tamandaré-Pernambuco. I = região do quelípede, II = região da carapaça, III = região do pleon e IV = região frontal. FONTE: Silva *et al.* (2021).

Experimento larval

O experimento visou avaliar o efeito agudo do óleo sobre as larvas de *Goniopsis cruentata*, realizado pela exposição a FSA (função solúvel em água) durante 48hs (baseado, Damare *et al.*, 2018; Alloy *et al.*, 2015; ISO, 1999) a fim de determinar o efeito na sobrevivência

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... e o possível efeito crônico do óleo. Para o teste de sobrevivência o experimento foi composto por cinco tratamentos experimentais (1,56%, 3,12%, 6,25%, 12,5%, 25%) e um controle (livre da FSA), cada tratamento contou com quatro réplicas (recipientes de vidro contendo 100mL da solução-teste), já para o teste de efeito crônico larvas expostas a 3 tratamentos (FSA; 1,56%, 3,12%, 6,25%), também durante 48hs e cada tratamento possuiu 3 réplicas cada uma com 5 larvas (adaptado; Caracappa e Munroe, 2019).

Cada recipiente-teste recebeu cinco indivíduos que foram monitorados a cada 24hs e avaliados quanto a sobrevivência dos organismos por meio da sua mobilidade e seu deslocamento. Os organismos que apresentavam movimentação foram considerados como vivos. Além disso, também foi realizado o monitoramento das variáveis temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido, afim de garantir que essas variáveis estivessem dentro das faixas toleráveis para não afetar a saúde das larvas. Para o teste de efeito crônico, as larvas foram filmadas durante 30 segundos. Para obtermos a distância percorrida pelas larvas durante a natação foi utilizado o software DORIS (versão 20.3.4), desenvolvido pelo Department of Life Sciences and Systems Biology University of Torino – Italy (<https://doris.readthedocs.io/en/latest/>), por ter conseguido manter o melhor rastreamento das larvas em comparação com software mais usuais como Tracktor, Ctrax, ToxTrac. (APENDICE A).

Análise estatísticas

Inicialmente, os espécimes foram separados em quatro grupos quanto a seu sexo e estágio de maturação, sendo: fêmea jovem (FJ), fêmea adulta (FA), macho jovem (MJ), macho adulto (MA). Cada grupo foi posteriormente dividido em 2 categorias para comparações estatísticas, sendo, pré derramamento (a) e pós derramamento (d), totalizando dessa forma oito grupos: FJa, FJd, FAa, FAd, MJa, MJd, MAa e Mad.

Para comparação dos modelos, foi utilizado o teste W de comparação de parâmetros do modelo baseado na máxima verossimilhança e usa a distribuição de Chi-quadrado (Mendes, 1999). Foram analisadas através da regressão linear as seguintes relações: LC x CC, LC x L4, LC x CA, LC X AC, LC x Aqd, LC x Aqe, LC x CQd, LC x Cqe, LC x AM, LC x L5 (apenas fêmeas) e LC x LP (apenas machos) e; a relação LC x P foi comparada usando a regressão potencial. A primeira variável (LC) foi tida como variável independente para todas as relações. Foi observado ainda o coeficiente de determinação “R²”. Para avaliar a similaridade morfométrica entre os espécimes de diferentes grupos, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA). Para remover a influência da ontogenia nos dados, todas as

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... dimensões corporais foram tratadas como proporcionais ao LC. A LC foi escolhida como a dimensão de referência, uma vez que é considerada menos sensível à distorção entre classes de tamanho (Harrison & Crespi 1999). Para testar a existência de diferença estatística entre as separações dos grupos foi realizado um teste de PERMANOVA (One -way).

Para a exploração morfológica com a técnica de morfometria geométrica, foram analisadas 475 imagens da vista dorsal, 469 imagens da vista ventral e 861 imagens das quelas. Foi gerada uma matriz de covariância, contendo fatores referentes aos grupos e a análise de variação canônica foi realizada com 999 permutações. Para esta análise foi definida a Distância de Procrustes dentre os grupos, onde maiores valores correspondem ao grau de separação existente entre eles, a partir desta distância os espécimes foram classificados em cada grupo. Diferenças entre as formas foram testadas com aplicação de uma Análise Discriminante (DA) em conjunto com o teste de Hotelling (T^2) com correção de Bonferroni. Com auxílio do programa MorphoJ foram geradas funções da Flexão de Placas Finas (Thin-plate Splines Functions) (Klingenberg 2008) entre indivíduos capturados pré e pós derramamento.

Para o experimento larval de sobrevivência foi avaliado através de uma Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey, após os dados de proporção da mortalidade terem sido transformados para arcoseno da raiz. No experimento de desempenho crônico foi realizado um teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn, para identificar possíveis diferenças entre os tratamentos, ao passo que, os dados não apresentavam normalidade

RESULTADOS

Foram capturados 713 indivíduos, sendo 378 machos e 335 fêmeas, com carapaça variando entre 0,42 e 6,59 mm. A distribuição de indivíduos quanto aos períodos pré e pós-derramamento se deu como consta na Tabela 1.

TABELA 1: Número e tamanho (LC) de caranguejos *Goniopsis cruentata* capturados na praia de Tamandaré-PE, no período de fevereiro de 2019 a janeiro de 2020. FJ = fêmea jovem; FA = fêmea adulta; MJ = macho jovem; MA = macho adulto; a = antes do derramamento e d = depois do derramamento.

Grupo	Amplitude de LC	n°	Grupo	Amplitude de LC	n°
FJa	0,87 – 2,69 mm	70	MJ-a	1,47 – 2,56 mm	91
FJd	0,42 – 2,66 mm	44	MJ-d	2,19 – 2,59 mm	27
FAa	2,71 – 5,08 mm	70	MA-a	2,60 – 5,42 mm	105
FAd	2,71 – 6,13 mm	151	MA-d	2,61 – 6,59 mm	155

Morfometria linear

Na análise dos componentes principais de cada grupo (FJ, MJ, FA e MA), as duas primeiras componentes somaram mais de 70,0% de explicação para todas as comparações (antes e depois) indicando uma variação morfométrica entre os períodos. Para as fêmeas, as variáveis que apresentaram maior força de separação estão relacionadas às variações no abdômen (L5, L4 e CA) na primeira componente (57,0% e 59,2% para jovens e adultas respectivamente); e ao cefalotórax e abdômen (CC, CA e AC) na segunda componente principal para jovens (14,7%) e ao cefalotórax e abdômen e quelípodo (CC, AC e CQe) para adultas (13,2%). Nos machos jovens, as variáveis de maior influência para a primeira componente estão ligados à carapaça e quelípodo (CC, CQd e CQe) (58,9%), bem como nos adultos (AQd, AQe, CQd e CQe) (63,2%); repetindo-se para a segunda componente CC, AQd e AQe para os jovens (14,0%) e CC, CA e AC para os adultos (10,2%).

A separação dos grupos pré e pós derramamento ocorreu de maneira distinta para cada grupo etário e sexual. A separação (pré x pós derramamento) nos machos jovens ocorreu principalmente devido às variações na altura do corpo, comprimento e altura das quelas, enquanto a separação das fêmeas jovens foi mais influenciada pelo comprimento e largura do abdômen e o comprimento das quelas. Os machos adultos apresentaram a mesma resposta que os machos jovens, já as fêmeas adultas, além da influência da altura e comprimento das quelas, foram separadas pela variação do comprimento e largura do abdômen e da altura do corpo.

Apesar da separação identificada na PCA, as relações alométricas não apresentaram diferença estatística significativa, mantendo a alometria negativa ($\beta_0 < 1$), para todas as relações lineares e relação isométrica ($\beta_0 = 3$) na relação potencial (LC x P) nos machos jovens e adultos. Para as fêmeas jovens e adultas as alometrias das relações lineares também se mostraram negativas ($\beta_0 < 1$), no entanto, na relação potencial LC x PESO os indivíduos pertencentes ao grupo fêmea adulta (FA) da categoria pós derramamento (d) apresentaram alometria positiva ($\beta_0 > 3$), enquanto as jovens (antes e depois) apresentaram alometria negativa (Tabela 2).

TABELA 2: Relações morfométricas lineares da *Goniopsis cruentata* capturados na praia de Tamandaré-PE, no período de fevereiro de 2019 a janeiro de 2020. FJ = fêmea jovem; FA = fêmea adulta; MJ = macho jovem; MA = macho adulto; a = antes do derramamento e d = depois do derramamento. Quando não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) os grupos foram representados por uma única equação.

	MJa	MJd	p-valor	MAa	MAd	p-valor
LC x CC	$y = 0,9409x - 0,2663 R^2 = 0,7337$	$y = 0,7794x + 0,1028 R^2 = 0,8235$	<0,01	$y = 0,8565x - 0,0966 R^2 = 0,8586$	$y = 0,9328x - 0,3064 R^2 = 0,9577$	<0,01
LC x L4	$y = 0,3357x + 0,0279 R^2 = 0,7326$	$y = 0,3277x + 0,0462 R^2 = 0,5272$	0,03	$y = 0,2664x + 0,2418 R^2 = 0,815$	$y = 0,3072x + 0,1523 R^2 = 0,7563$	<0,01
LC x L5	$y = 0,344x - 0,1405 R^2 = 0,4307$	$y = 0,2778x + 0,0388 R^2 = 0,4667$	<0,01	$y = 0,2176x + 0,2276 R^2 = 0,7311$	$y = 0,2648x + 0,1068 R^2 = 0,9247$	<0,01
LC x CA	$y = 0,588x - 0,0626 R^2 = 0,7077$	$y = 0,6255x - 0,1457 R^2 = 0,7585$	<0,01	$y = 0,4333x + 0,4083 R^2 = 0,7934$	$y = 0,5543x + 0,1051 R^2 = 0,8645$	<0,01
LC X AC	$y = 0,4713x + 0,0123 R^2 = 0,7053$	$y = 0,4411x + 0,0868 R^2 = 0,6346$	<0,01	$y = 0,5283x + 0,168 R^2 = 0,8272$		0,12
LC x Aqd	$y = 0,4014x - 0,3812 R^2 = 0,4515$	$y = 0,3557x - 0,2154 R^2 = 0,378$	<0,01	$y = 0,4711x - 0,5264 R^2 = 0,822$	$y = 0,6269x - 1,0148 R^2 = 0,9226$	<0,01
LC x Aqe	$y = 0,3836x - 0,339 R^2 = 0,4324$	$y = 0,3497x - 0,2081 R^2 = 0,4327$	<0,01	$y = 0,4774x - 0,55 R^2 = 0,828$	$y = 0,6006x - 0,9509 R^2 = 0,9013$	<0,01
LC x CQd	$y = 0,5834x - 0,0622 R^2 = 0,4383$	$y = 0,7619x - 0,4824 R^2 = 0,5664$	<0,01	$y = 0,8923x - 0,9006 R^2 = 0,8445$	$y = 1,002x - 1,2107 R^2 = 0,9613$	<0,01
LC x Cqe	$y = 0,6393x - 0,1854 R^2 = 0,5335$	$y = 0,7528x - 0,4526 R^2 = 0,6858$	<0,01	$y = 0,8451x - 0,7689 R^2 = 0,8374$	$y = 0,9883x - 1,1953 R^2 = 0,9549$	<0,01
LC x P	$y = 1,0768x^{1,9024} R^2 = 0,6294$	$y = 0,5493x^{2,7367} R^2 = 0,6604$	<0,01	$y = 0,5264x^{2,7979} R^2 = 0,8259$	$y = 0,4367x^{3,0165} R^2 = 0,9346$	<0,01
LC x CG	$y = 0,3173x - 0,0704 R^2 = 0,3348$		0,19	$y = 0,2831x - 0,0069 R^2 = 0,707$	$y = 0,3027x - 0,0081 R^2 = 0,8258$	0,02
	FJa	FJd		FAa	FAd	
LC x CC	$y = 0,8409x - 0,0771 R^2 = 0,8309$		0,27	$y = 0,7423x + 0,2679 R^2 = 0,8939$	$y = 0,916x - 0,2775 R^2 = 0,9215$	<0,01
LC x L4	$y = 0,5933x - 0,4079 R^2 = 0,8318$	$y = 0,499x - 0,1431 R^2 = 0,8327$	<0,01	$y = 0,6593x - 0,356 R^2 = 0,7058$	$y = 0,8849x - 0,9931 R^2 = 0,8428$	0,02
LC x L5	$y = 0,5885x - 0,5155 R^2 = 0,7781$	$y = 0,4536x - 0,1515 R^2 = 0,7988$	<0,01	$y = 0,8169x - 0,908 R^2 = 0,7976$	$y = 0,9195x - 1,1598 R^2 = 0,9072$	<0,01
LC x CA	$y = 0,7285x - 0,3597 R^2 = 0,6915$	$y = 0,6142x + 0,043 R^2 = 0,8097$	<0,01	$y = 0,6905x - 0,2704 R^2 = 0,7769$	$y = 0,8651x - 0,6566 R^2 = 0,8872$	<0,01
LC X AC	$y = 0,5968x - 0,3187 R^2 = 0,7997$	$y = 0,4978x - 0,0701 R^2 = 0,9618$	<0,01	$y = 0,5345x - 0,1339 R^2 = 0,7957$		0,27
LC x Aqd	$y = 0,3206x - 0,1879 R^2 = 0,8347$	$y = 0,2728x - 0,0411 R^2 = 0,8415$	<0,01	$y = 0,3572x - 0,2557 R^2 = 0,8096$	$y = 0,3675x - 0,2511 R^2 = 0,5867$	<0,01
LC x Aqe	$y = 0,3085x - 0,1595 R^2 = 0,7431$	$y = 0,2605x - 0,0225 R^2 = 0,7363$	<0,03	$y = 0,3923x - 0,3465 R^2 = 0,7916$		0,07
LC x CQd	$y = 0,6437x - 0,262 R^2 = 0,8936$	$y = 0,5873x - 0,0738 R^2 = 0,9498$	<0,01	$y = 0,5405x + 0,0795 R^2 = 0,7101$	$y = 0,8685x - 0,8883 R^2 = 0,8619$	<0,01
LC x Cqe	$y = 0,6661x - 0,3042 R^2 = 0,8826$	$y = 0,6229x - 0,1607 R^2 = 0,806$	<0,01	$y = 0,5974x - 0,0678 R^2 = 0,785$	$y = 0,8564x - 0,8508 R^2 = 0,8459$	<0,01
LC x P	$y = 1,2559x^{1,8066} R^2 = 0,8429$	$y = 0,5943x^{2,5824} R^2 = 0,869$	<0,01	$y = 0,6162x^{2,6352} R^2 = 0,812$	$y = 0,3261x^{3,2098} R^2 = 0,8773$	<0,01

Embora exista semelhança na alometria entre os períodos para todos os grupos, ao realizar a análise de comparação de modelos (Tabela 2), houve diferença estatística entres os grupos pré e pós derramamento para a maioria das comparações (exceto: LC x CG de machos jovens, LC x AC de machos adultos, LC x CC de fêmeas jovens e LC x Aqe de fêmeas adultas).

Morfometria geométrica

Ao comparar a distância de procrustes da vista dorsal através da análise de variável canônica (AVC), pré e pós derramamento, não foi observada diferença estatística significativa entre os pares: FA (a x d) ($p = 0,29$), FJ (a x d) ($p = 0,88$), MA (a x d) ($p = 0,60$) e MJ (a x d) ($p = 0,50$). Para análise discriminante também não foi encontrado diferença estatística significativa na alocação correta para nenhuma interação, $p > 0,05$. As alocações corretas se deram com os seguintes valores: FAa = 58,13%; FAd = 53,71%; FJa = 57,69%; FJd = 52,17%; MAa 60,93%; MAd = 62,16%; MJa = 45,83%; MJd = 54,76% (Fig.3).

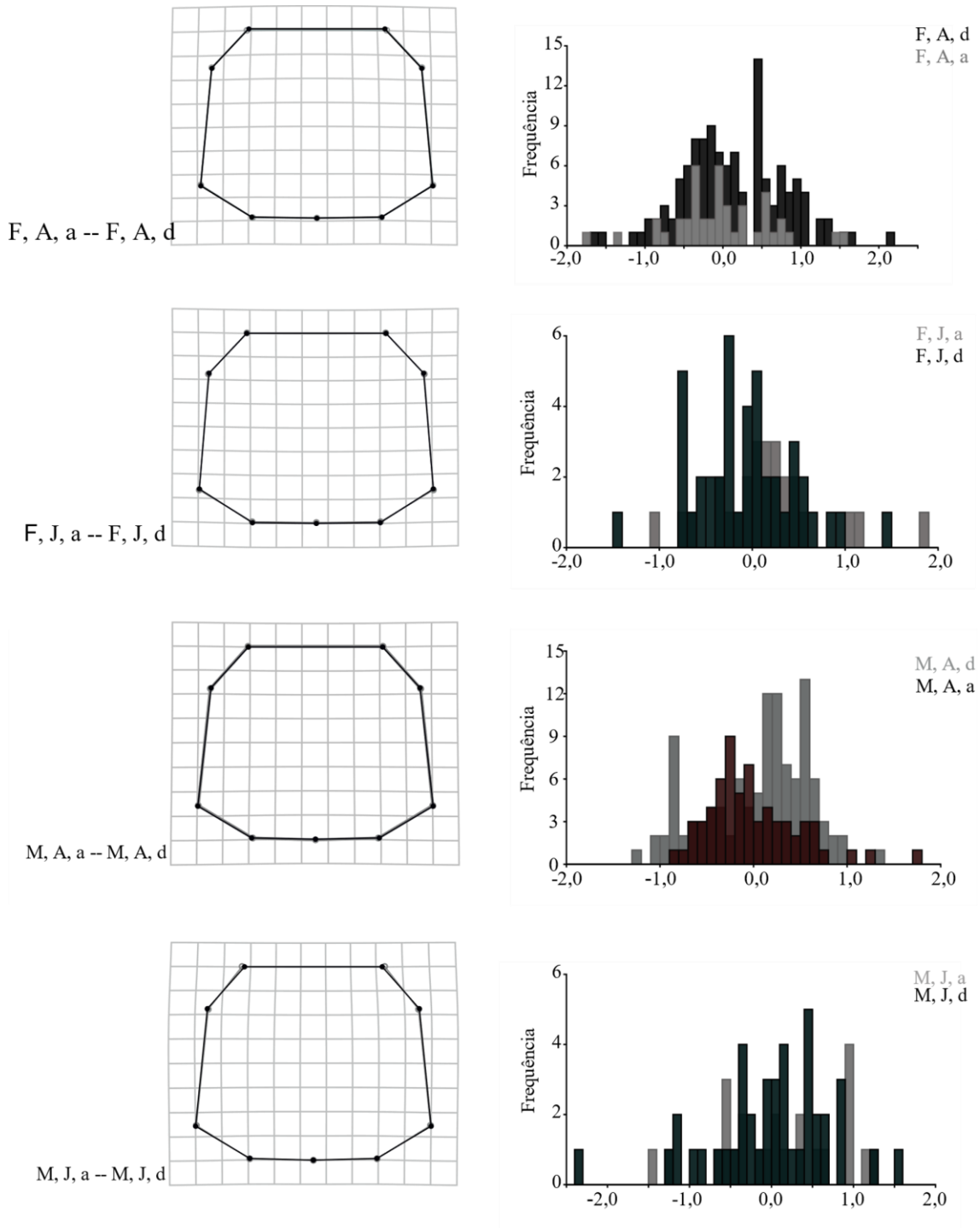


FIGURA 3: Gráfico de variação morfológica e deformação de grade da região dorsal e alocação correta dos espécimes através da análise discriminante para fêmeas e machos de *Goniopsis cruentata* capturados entre janeiro/2019 e janeiro/2020 na cidade de Tamandaré-PE.

A região abdominal das fêmeas jovens ($p < 0,01$) e adultas ($p < 0,01$) apresentou diferença significativa entre os grupos, provocando um estreitamento do 4º e 5º segmento

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... abdominal (marco 2 e 3 e seus respectivos homólogos), um alongamento da ponta do telson (marco 5) e um estreitamento da base do abdome (marco 1 e 9) para as fêmeas adultas. A alocação no grupo correto foi FAa = 76,5%, FAd = 68,5%, FJa = 81,1% e FJd = 77,2%. A morfologia da região abdominal dos machos também foi alterada, tanto nos jovens ($p=0,01$), com estreitamento do 4° e 5° segmento abdominal (marco 2 e 3 e seus respectivos homólogos), quanto nos adultos ($p < 0,01$) com o estreitamento da base do abdome (marco 1 e 9), o que provocou estreitamento no 4° segmento abdominal (marco 2 e 8), com porcentagens de alocação correta de MAa = 69,8%, Mad = 66,7% e MJa = 82,8% e MJd = 78,6%.

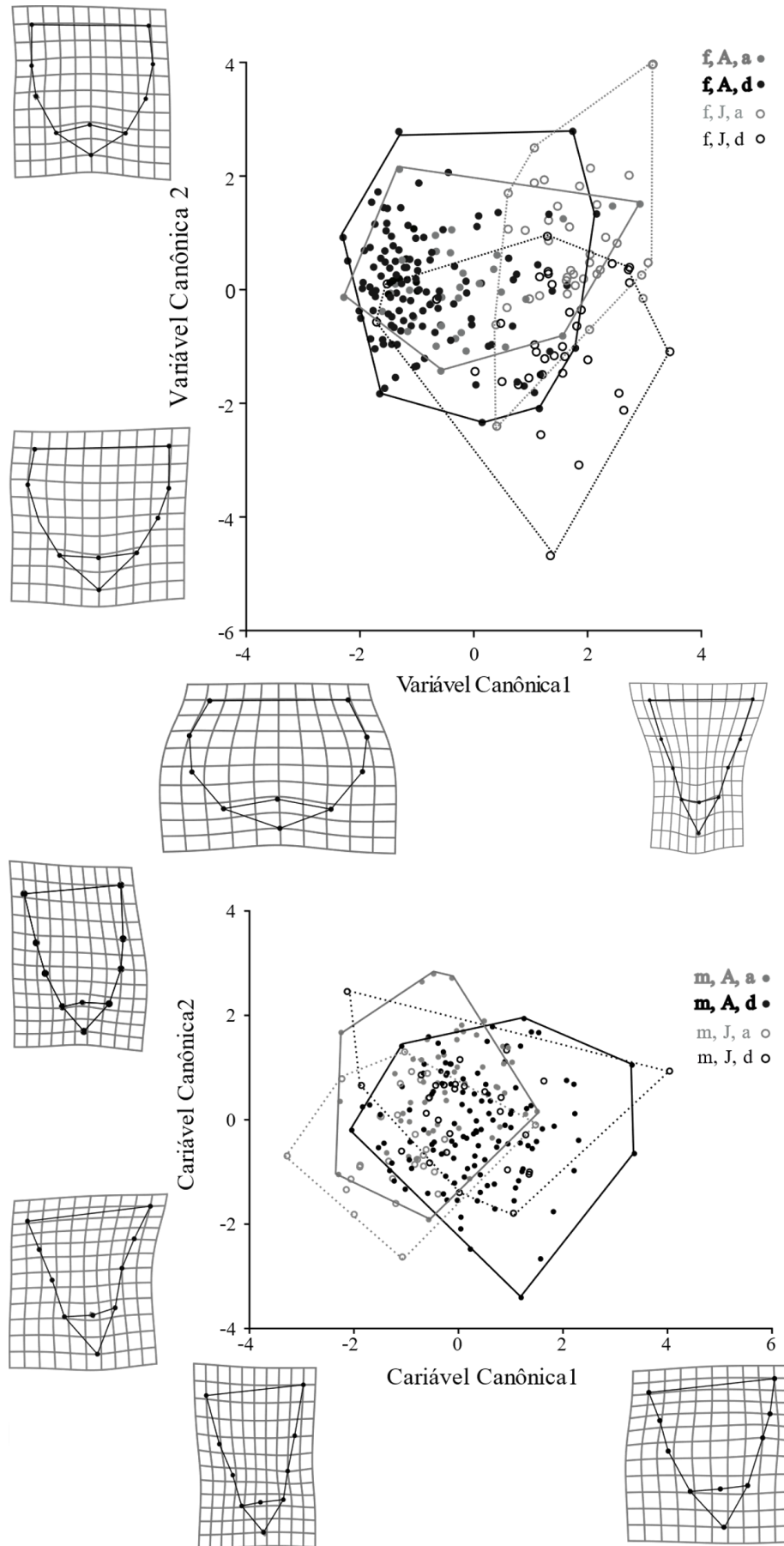


FIGURA 4: Gráfico de variação morfológica e deformação de grade da região do abdômen através da análise de variável canônica (AVC) e distribuição dos espécimes em relação ao eixo da AVC para fêmeas e machos de *Goniopsis cruentata* capturados entre janeiro/2019 e janeiro/2020 na cidade de Tamandaré-PE.

Ao analisar a morfometria geométrica das quelas fêmeas (Figura 4), foi possível observar separação morfológicas, através da análise de variável canônica, apenas para a comparação de indivíduos FJa -FJd ($p=0,004$), com alocação correta dos indivíduos de 65,9 % (FJa) e de 67,4% (FJd). Apesar de observar um índice de alocação correta nas fêmeas adultas (FAa = 55,3%; FAd=65,3), próximo ao das juvenis, não foi notada diferença estática para variação da forma ($p=0,0773$). Nos machos jovens também não foi possível observar diferença estatística na separação morfológicas (a – d) com alocação correta de 60,4% (MJa) e 58,9% para MJd. Nos machos adultos observou-se diferença estatística na análise discriminante ($p=0,0388$), variável canônica ($p=0,0814$) com alocação correta de 59,8% para MAa e de 57,2% para MAd.

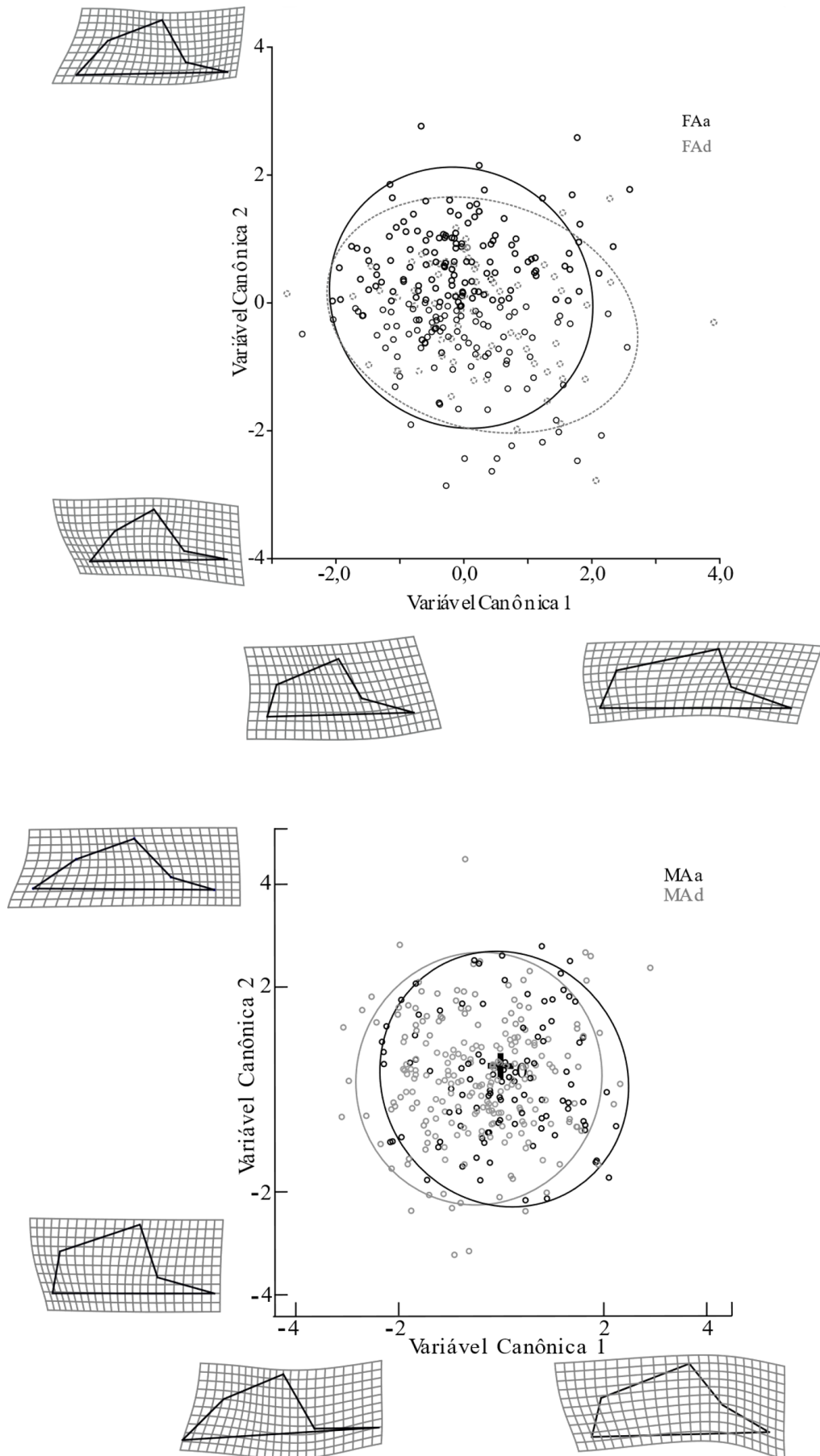


FIGURA 5: Gráfico de variação morfológica e deformação de grade da região do quelípodo dos machos e fêmeas adultos através da análise de variável canônica (AVC) e distribuição dos espécimes em relação ao eixo da AVC,

com elipse de 90% para *Goniopsis cruentata* capturados entre janeiro/2019 e janeiro/2020 na cidade de Tamandaré-PE. Círculo preto = Macho Adulto antes (MAa), Círculos cinza = Macho Adulto depois (Mad).

Sobrevivência larval e efeito crônico

Após o período de 48hs de exposição das larvas à FSA, durante o primeiro experimento para avaliar o efeito agudo do óleo, os percentuais de mortalidade variaram de 0 a 100% com média de $19 \pm 21\%$. Comparando os tratamentos, não foi possível encontrar diferenças entre eles, sendo assim, não foi observado nenhuma relação dose-resposta para as concentrações de FSA usadas no experimento (Kruskal-Wallis, $p=0,67$). Observou-se que concentração de 12,5% FSA apresentou a média mais elevada de mortalidade ($29\% \pm 26\%$), não diferindo da concentração controle ($17\pm 18\%$) e os demais tratamentos (Dunn, $p>0,05$). No possível efeito crônico do óleo sobre a locomoção das larvas após a exposição de 48hs à FSA, o deslocamento máximo foi de 187mm (30 segundos) a média foi de $70 \pm 42\text{mm}$. Através da comparação entre os diferentes tratamentos, observou-se que a concentração de 3,12% de FSA apresentou a média mais elevada de deslocamento ($83 \pm 30\text{mm}$). Entretanto, não apresentou diferença da concentração controle ($75 \pm 44\text{mm}$) indicando a falta de efeito da FSA sobre o deslocamento das larvas (ANOVA, $F=1,11$, $p=0,33$; Tukey, $p>0,05$) (Figura 6).

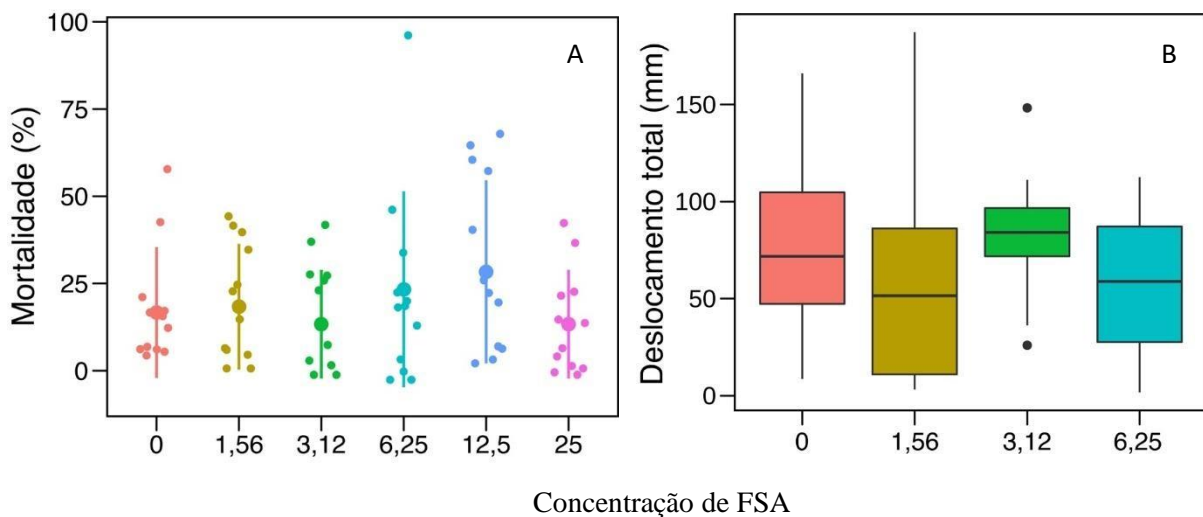


Figura 6. Gráficos de sobrevivência e efeito agudo do óleo sobre as larvas de *Goniopsis cruentata* capturada em um manguezal estuarino tropical (Tamandaré-PE). A = Percentuais de mortalidade das larvas (%) em diferentes concentrações de FSA. B = Deslocamento total das larvas (mm) durante o período de 30 segundos, em diferentes concentrações de FSA.

DISCUSSÃO

Os padrões de distribuição de tamanho e forma de *G. cruentata* apresentaram diferenças perceptíveis, para técnicas de morfometria linear, no entanto, esse padrão não foi notado para a geométrica, entre os períodos pré e pós-derramamento. Quando comparados os parâmetros lineares entre os indivíduos, nota-se que existe uma alteração na proporção de crescimento. Segundo a análise de principais componentes (PCA) os parâmetros que mais influenciaram estatisticamente na separação dos grupos foram os relacionados aos caracteres sexuais secundários. Tais resultados levantam a possibilidade de que tais regiões apresentam uma maior plasticidade de desenvolvimento, possivelmente intensificada pela alta relação com o tamanho dos espécimes, uma vez que as características de uma espécie estão correlacionadas com o tamanho e atuam como uma restrição nas taxas metabólicas e na assimilação de energia, influenciando toda a vida dos animais, incluindo seu crescimento, reprodução e sobrevivência (Reiss 1989).

O tamanho dos organismos, bem como suas relações morfométricas, é um fator central para os principais processos ecológicos, e as mudanças nas distribuições de tamanho podem ser induzidas pelo ambiente (Shin *et al.* 2005). Os espécimes capturados no período pós-derramamento apresentaram valores de LC maiores que os capturados no período pré-derramamento. Duas hipóteses podem ser formuladas para explicar esses resultados. A primeira é que ocorreu um alívio da pressão da captura nos organismos maiores (alvos da pesca), considerado como um possível mecanismo responsável pelo aumento do tamanho, um efeito indireto do derramamento. O possível bloqueio à continuidade do trabalho pesqueiro artesanal, por tempo indeterminado, nos lugares atingidos pelos vazamentos, proporcionou um maior tempo de crescimento aos caranguejos, como apresentado por Fodrie e Heck (2011), comparando assembleias de peixes no golfo do México em um período pré e pós derramamento de óleo.

A segunda é que os indivíduos mais velhos apresentam maiores aptidões para sobrevivência (deslocamento de áreas mais afetadas, direcionamento energético) podendo ficar menos tempo expostos às condições ambientais ou até mesmo sobreviver a esse tipo de incidente (poluição no caso). Os aratus apresentam comportamento arborícola e em geral, os indivíduos maiores, em sua grande maioria ocupam regiões mais altas raízes aéreas de árvores, esse comportamento pode ter reduzido ou amenizado seu contato direto com o óleo.

Esse aumento da duração da intermuda pode ser devido ao estresse causado pela exposição ao óleo, que pode diminuir a taxa de crescimento (mudança de tamanho por dia) dos

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... caranguejos causando diferenças. A diferença na alometria de crescimento (comportamento de crescimento) encontrada no aratu capturado em áreas afetadas pelo incidente do derramamento pode ser explicada pela sensibilidade a impactos antrópicos que pode variar de acordo com seu estágio de vida, como afirma Chiassona e Taylor, (2017). Além disso, O'Sullivan & Jacques (2001) reforça que que até mesmo baixos níveis de petróleo causam redução no sucesso de incubação, alterando ou atrasando o desenvolvimento, devido as perturbações ambientais. Esse atraso de desenvolvimento foi apontado por Giltz e Taylor (2016) onde o tempo para a primeira muda nos juvenis expostos ao óleo foi significativamente maior do que para os caranguejos não expostos ao óleo.

No presente trabalho foi possível observar que todos os indivíduos apresentaram variação na região abdominal (FJ, FA, MJ, MA). Essa variação morfológica encontrada na população de *G. cruentata* pode estar relacionada com uma maior elasticidade morfológica dessa região, provocada pelo aumento da duração do ciclo de intermuda, provocada presença de hidrocarbonetos, que resultou na diminuição e no incremento de crescimento por muda, como proposto por Weis *et al.* (1992). O crescimento (muda) constitui um processo fisiológico muito importante para os crustáceos porque não só permite o seu desenvolvimento, mas também está associada à metamorfose de crescimento (jovem) como na fase de reprodução (adulta) (Zou 2005). Portanto, a interrupção da muda pode ter resultado em crescimento prejudicado ou tardio provocando alterações morfológicas nas regiões do abdômen.

As variações encontradas nos machos adultos, no presente trabalho, como no caso da variação morfológica para a região da quela não são surpreendentes, uma vez que a poluição química e orgânica causa instabilidade no desenvolvimento, principalmente para a região da quela, uma vez que os indivíduos adultos (maior tamanho) apresentavam maior nível de exibição e busca por alimentos, bem como para momentos de combate, e acasalamento (Pinheiro & Fransozo 1999; Masunari & Dissenha 2005). Segundo (Cantelmo *et al.* 1981) a exposição a poluentes químicos pode ainda provocar retardo na taxa de regeneração do membro.

Animais que ocorrem em um gradiente de condições ambientais ou em habitats distintos, como no caso dos caranguejos, podem experimentar seleção perturbadora, levando ao surgimento e manutenção de vários ecótipos (Weissing *et al.* 2011). Com isso, os indivíduos de uma mesma espécie podem diferir marcadamente na relação de tamanho (morfometria) e da forma (morfologia) dentro e/ou entre as populações, o que pode afetar o seu desenvolvimento e sua manutenção (McCoy 2006). A exploração das relações morfométricas e morfológicas pode ajudar a entender diversos aspectos de uma população, servindo como indicadores de

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... condição, e, até mesmo utilizadas para calcular a biomassa e estimar a recuperação dos estoques ou até mesmo proteção temporária.

As variações morfológicas encontradas nos espécimes são inerentes a uma única população, indicando assim que tais variação pode ser devido ao incidente ambiental e tais informações servirão como auxílio no entendimento da funcionalidade da população de *G. cruentata* e suas respostas de curto prazo a perturbação ambientais de alto nível toxico. Nota-se que os derramamentos de óleo podem ser particularmente devastadores para os crustáceos chegando a afetar morfológicamente os indivíduos (O'Sullivan e Jacques 2001). Vale ressaltar que os impactos dos derramamentos de óleo variam com a localização e magnitude do derramamento, bem como com o estágio de vida dos invertebrados, habitat, sensibilidade, modo de alimentação e capacidade de evitar ou processar contaminantes. Os efeitos do petróleo nos invertebrados marinhos em geral incluem a degradação do seu habitat; incrustação de estruturas de guelras provocando sufocamento; reprodução prejudicada, desenvolvimento, alimentação, alteração na resposta imunológica e perturbação da teia alimentar (Blackburn *et al.* 2014).

Avaliações toxicológicas e efeitos crônicos realizadas nesse estudo determinaram que os estágios iniciais da vida dos caranguejos *G. cruentata* não apresenta sensibilidade a xenobióticos (como óleo derramado), em diferentes concentrações, apesar de trabalhos anteriores afirmarem que os primeiros estágios da história da vida são geralmente considerados os mais sensíveis a essas toxinas (Almeda *et al.* 2014). Resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho foram apresentados por Laughlin & Neff, (1981) que não relataram mortalidade nem influencia na taxa de desenvolvimento dos estágios larvais de *Rhithropanopeus harrisi*.

Outros experimentos demonstraram que óleo de derramamento altamente fototóxico para as larvas dos caranguejos violinistas em concentrações relativamente baixas de FSA (Damare, 2018). Estudos anteriores com outras espécies de caranguejo também relataram sensibilidade à toxicidade foto-induzida como as larvas de siri azul (*Callinectes sapidus*) (Peachey, 2015). Esta suposição é apoiada por Carls & Rice, (1984) que relataram que diferentes espécies de caranguejos apresentam diferentes níveis de tolerância à PAH, sendo as larvas de caranguejo real e de caranguejo Tanner as espécies mais tolerantes. Assim, diferentes espécies de caranguejos respondem de forma diferente à toxicidade dos xenobióticos.

Os resultados apresentados no presente trabalho em relação ao estágio inicial do *G. cruentata* são referentes a um momento pontual de sua vida em exposição a hidrocarbonetos, vale considerar que os diferentes estágios de vida em exposição a hidrocarbonetos pode atuar como variável determinante para o surgimentos de novos resultados, uma vez que os caranguejos têm diferentes níveis de resistência à toxicidade de hidrocarbonetos que podem ser

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ... atribuídos às diferenças de habitat (Chandy & Kolwalkar, 1984), sexo (Singer & Lee, 1977) e estágio de desenvolvimento (Laughlin *et al.*, 1978; Lively & McKenzie, 2014), no entanto tais hipóteses fogem do escopo do trabalho. Assim vimos que contaminação por óleo não afeta a sobrevivência das larvas de caranguejo no seu primeiro estágio, como um componente integral do zooplâncton, nem sua mobilidade o que pode ter um impacto adverso em outros organismos marinhos. Ainda existe um número apreciável de efeitos fisiológicos, comportamentais, genéticos e toxicológicos que não são bem compreendidos em caranguejos, mas os dados apresentados neste manuscrito ajudarão a entender o risco associado à toxicidade para os caranguejos, especificamente as espécies comestíveis, devido ao seu risco à saúde humana.

Nossos dados mostram que as técnicas de morfometria linear associada à morfometria geométrica se mostram eficazes na identificação de variações, ainda que não perceptíveis a olho nu, podendo ser uma ferramenta útil e de fácil acesso na inferência de possíveis desequilíbrios ambientais ou, de outra forma, das consequências locais advindas deste impacto, como o impacto indireto da proibição de pescarias e o próprio afastamento da população em relação aos pescados marinhos nesse período, além de auxiliar na quantificação de desastres provocados por incidentes, devendo ser usado na tomada de decisões políticas e no gerenciamento dos ambientes estuarinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEDA R, BONA S, FOSTER CR, & BUSKEY EJ. 2014. Dispersant Corexit 9500A and chemically dispersed crude oil decreases the growth rates of meroplanktonic barnacle nauplii (*Amphibalanus improvisus*) and tornaria larvae (*Schizocardium* sp.). **Marine Environmental Research** 99: 212–217, <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.06.007>.
- ALMEIDA D, ALMODOVAR A, NICOLA GG, & ELIVERA B. 2008. Fluctuations, asymmetry as a measure of susceptibility of pesticides in fishes. **Environmental Toxicology & Chemistry**, 18: 899–905.
- ALLOY MM, BOUBE I, GRIFFITT RJ, ORIS JT. & ROBERTS AP. 2015, Photo-induced toxicity of Deepwater Horizon slick oil to blue crab (*Callinectes sapidus*) larvae. **Environ Toxicol Chem**, 34: 2061-2066. <https://doi.org/10.1002/etc.3026>
- ANDERSON JW, NEFF JM, COX BA, TATEM HE, HIGHTOWER GM, 1974. Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish. **Marine Biology**. 27: 75–88.
- ARAÚJO KC, BARRETO MC, SIQUEIRA AS, FREITAS ACP, OLIVEIRA LG, BASTOS MEPA, ROCHA MEP, SILVA LA, FRAGOSO WD, 2021. Oil spill in northeastern Brazil: application of fluorescence spectroscopy and PARAFAC in the analysis of oil-related compounds. **Chemosphere** 267: 129-154
- ARRUDA-SANTOS RH, SCHETTINI CAF, YOGUI GT, MACIEL DC, & ZANARDI-LAMARDO E. 2018. Sources and distribution of aromatic hydrocarbons in a tropical marine protected area estuary under influence of sugarcane cultivation. **Science of the total environment**, 624: 935-944.
- BLACKBURN MC, MAZZACANO AS, FALLON C, & BLACK SH. 2014. Oil in our Oceans. A Review of the Impacts of Oil Spill on Marine Invertebrates. 125 pp. Portland, OR: The Xerces Society for Invertebrate Conservation.
- BLISS DE, & BOYER JR. 1964. Environmental regulation of growth in the decapod crustacean, *Gecarcinus lateralis*. **General and Comparative Endocrinology**. 4:15- 41.
- BRUM HD, CAMPOS-SILVA JV, OLIVEIRA EG, 2020. Brazil oil spill response: government inaction. **Science** 367, 155.
- CARACAPPA JC, & MUNROE DM. 2019. Variability in swimming behavior among broods of blue crab (*Callinectes sapidus*) zoeae. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 518: 151176.
- CARLS MG & RICE SD. 1984. Toxic contributions of specific drilling mud components to larval shrimp and crabs. **Marine Environmental Research** 12: 45–62.
- CHANDY JP & KOLWALKAR DG. 1984. Histological changes in the gill & hepatopancreas of the marine crabs *Charybdis lucifera* (Fabricius) and *Scylla serrata* (Forskål). **Indian Journal of Marine Sciences**. 13: 10–13.
- CANTELMO A, LAZELL R, & MANTEL L. 1981. The effects of benzene on molting and limb regeneration in juvenile *Callinectes sapidus*. **Marine Biology**. 2:333-343.

CHIASSONA SC, & TAYLOR CM. 2017. Effects of crude oil and oil/dispersant mixture on growth and expression of vitellogenin and heat shock protein 90 in blue crab, *Callinectes sapidus*, juveniles. **Marine Pollution Bulletin**. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.04.048

CLIFTON A. 2014. Oil Spills: Environmental Issues, Prevention and Ecological Impacts. **Nova Science Publishing**, New York, NY.

DAMARE LM, BRIDGES KN, & ALLOY MM. 2018. Photo-induced toxicity in early life stage fiddler crab (*Uca longisignalis*) following exposure to Deepwater Horizon oil. **Ecotoxicology** 27: 440–447 <https://doi.org/10.1007/s10646-018-1908-6>.

DISNER GR, TORRES M. 2020. The environmental impacts of 2019 oil spill on the Brazilian coast: overview. **Revista Brasileira Gestão Ambiental Sustentável**. 715: 193–209. <https://doi.org/10.21438/rbgas2020071518>.

DORIS (versão 20.3.4) - Department of Life Sciences and Systems Biology, University of Torino – Italy.

DUARTE RX. 1993. Mapeamento do quartenário costeiro do extremo sul de Pernambuco: Área 05 – Tamandaré. Relatório do curso de geologia. Curso de Geologia. UFPE. p. 86.

ESCOBAR H. 2019. Mystery oil spill threatens marine sanctuary in Brazil. **Science** 366, 672.

FODRIE FJ. & HECK KL. 2011. Response of coastal fishes to the Gulf of Mexico oil disaster. *PLoS (Public Library of Science) ONE* [online serial] 6:e21609.

GHARRED T, MABROUK L, & HELLAL AN. 2017. Effect of Pollution on The Fluctuating Asymmetry In The Grass Goby *Zosterisessor Ophiocephalus Pallas, 1811* As Contamination Indicator Of Eastern Tunisia. **SDRP Journal of Aquaculture, Fisheries & Fish Science**.

GILTZ SM, & TAYLOR CM. 2016. Sublethal Toxicity of Crude Oil Exposure in The Blue Crab, *Callinectes sapidus*, at Two Life History Stages. **Bull Environ Contam Toxicol**. DOI 10.1007/s00128-016-2000-7

HARRISON MF, & CRESPI B. 1999. A phylogenetic test of ecomorphological adaptation in Cancer crabs. **Evolution**. 53: 961-965.

JENNINGS S, PINNEGAR JK, POLUNIN NVC, & WARR KJ. 2002. Linking size-based and trophic analyses of benthic community structure. **Marine Ecology Progress Series**. 226: 77-85.

KELLY KL, & TAYLOR CM. 2018. Effects of crude oil on survival and development in embryonated eggs in *Callinectes sapidus* Rathbun, 1896 (Decapoda, Portunidae) **PeerJ**. <https://doi.org/10.7717/peerj.5985>

KINGSTON, P. F. 2002. Long-term environmental impact of oil spills. *Spill Science and Technology Bulletin* 7: 53–61.

KRISTENSEN E. 2008. Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. **Journal of Sea Research** 59: 30–43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seares.2007.05.004>.

- KLINGENBERG CP. 2010. Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. **Nature Reviews Genetics** 11: 623-635.
- LAUGHLIN RB, YOUNG LGL & NEFF JM. 1978. A long-term study of the effects of water-soluble fractions of No. 2 fuel oil on the survival, development rate, and growth of the mud crab *Rhithropanopeus harrisi*. **Marine Biology** 47: 87-95.
- LAUGHLIN RB, & NEFF JM. 1981. Ontogeny of respiratory and growth responses of larval mud crabs *Rhithropanopeus harrisi* exposed to diferente temperatures, salinities and naphthalene concentrations. **Marine Ecology Progress Series** 5: 319-332.
- LIMA-GOMES RC, COBO VJ, & FRANSOZO A. 2011. Feeding behavior and ecosystem role of the red mangrove crab *goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsoidea) in a subtropical estuary on the Brazilian coast. **Crustaceana**. 84: 735-747. <http://dx.doi.org/10.1163/001121611X579141>.
- LIVELY JAA & MCKENZIE J. 2014. Toxicity of the dispersant corexit 9500 to early life stages of blue crab, *Callinectes sapidus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 93: 649-653.
- LOURENÇO RA, COMBI T, ALEXANDRE MR, SASAKI ST, ZANARDI-LAMARDO E, YOGUI GT. 2020. Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019-2020): trying to find answers and filling data gaps. **Marine Pollution Bulletin**. 156: 111219.
- MACIEL DC, DE SOUZA JRB, TANIGUCHI S, BÍCEGO MC, & ZANARDI-LAMARDO E. 2015. Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in an urbanized tropical estuary and adjacent shelf, Northeast of Brazil. **Marine pollution bulletin**. 101: 429-433.
- MAGALHAES KM, BARROS KVS, LIMA MCS, ROCHA-BARREIRA CA, ROSA FILHO JS, SOARES MO, 2021. Oil spill + COVID-19: a disastrous year for brazilian seagrass conservation. *Sci. Total Environ*. 764: 142872.
- MAGALHAES KM, CARREIRA RS, FILHO JRS, ROCHA PP, SANTANA FM, YOGUI GT. 2022. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. **Marine Pollution Bulletin**. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113334>.
- MAGRIS RA, GIARRIZZO T. 2020. Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**. 153, 110961.
- MANTELATTO FLM, & FRANSOZO A. 1999. Reproductive biology and moulting cycle of the crab *Callinectes ornatus* (Decapoda, Portunidae) from the Ubatuba region, São Paulo, Brazil. **Crustaceana**, 72: 63-73.
- MASUNARI S, & DISSENHA N. 2005. Alometria no crescimento de *Uca mordax* (Smith) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. 22: 984-990.
- MCCOY MW, BOLKER BM, OSENBURG CW, MINER BG, & VONESH JR. 2006. Size correction: comparing morphological traits among populations and environments. **Oecologia**. 148: 547-554

- MELO GAS. 1996. Manual de Identificação dos Brachyura (Caranguejos e Siris) do Brasileiro. Plêiade, São Paulo.
- MOURA NFO, & COELHO PA. 2004. Maturidade sexual fisiológica em *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) no Estuário do Paripe, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 21:1011-1015.
- MOURA RT. 1991. Biomassa, produção primária do fitoplâncton e alguns fatores ambientais na Bahia de Tamandaré, Rio Formoso, Pernambuco, Brasil. Recife: Universidade Federal de Pernambuco. Dissertação de Mestrado. 290p
- NASRI-SISSINI M, BERCHEZ F, HALL-SPENCER J, GHILARDI-LOPES N, CARVALHO VF, SCHUBERT N, KOERICH G, DIAZ-PULIDO G, SILVA J, SERRÃO E, ASSIS J, SANTOS R, FLOETER SR, RORIG L, BARUFI JB, BERNARDINO AF, FRANCINI-FILHO, TURRA A, HOFMANN LC, AGUIRRE J, LE GALL L, PENA V, NASH MC, ROSSI S, SOARES M, PEREIRA-FILHO G, AMEGA F, HORTA PA, 2020. Brazil oil spill response: protect rhodolith beds. **Science** 367: 156-156.
- OLIVEIRA OM, QUEIROZ AFD, CERQUEIRA JR, SOARES SA, GARCIA KS, PAVANI FILHO A, ROSA MLS, SUZART CM, PINHEIRO LL, MOREIRA IT. 2020. Environmental disaster in the northeast coast of Brazil: forensic geochemistry in the identification of the source of the oily material. **Marine Pollution Bulletin**. 160, 111597 <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111597>.
- O'SULLIVAN AJ, & JACQUES TG. 2001. Effects of Oil in the Marine Environment: Impact of Hydrocarbons on Fauna and Flora. Community Information System for the Control and Reduction of Pollution. Internet edition.
- PEACHEY RBJ. 2005. The synergism between hydrocarbon pollutants and UV radiation: a potential link between coastal pollution and larval mortality. **Journal of experimental marine biology and ecology**. 315:103-114.
- PERRINE D. 1978. The mangrove crab on ponape. Marine resources division, ponape, eastern caroline islands marine resources division, ponape. Eastern caroline is. 66.
- PINHEIRO MAA, & FRANSOZO A. 1999. Reproductive behavior of the swimming crab *Arenaeus cribrarius* (Lamarck, 1818) (Crustacea, Brachyura, Portunidae) in captivity. **Bulletin Marine Science**. 64: 243-253.
- PINHEIRO MAA, SANTANA W, BEZERRA LEA, KRIEGLER N, & RIO JPP. 2016. Avaliação dos Caranguejos Grap-sídeos (Decapoda: Grapsidae). Cap. 14: 182-191. In: PINHEIRO MAA, & BOOS H. (Org.). (Eds.), Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014. Porto Alegre (RS): **Sociedade Brasileira de Carcinologia** - SBC. p. 466.
- REISS MJ. 1989. The Allometry of Growth and Reproduction. Cambridge University Press, Cambridge. 182 pp.
- SCHAEFER J, FRAZIER N, & BARR J. 2016. Dynamics of Near-Coastal Fish Assemblages following the Deepwater Horizon Oil Spill in the Northern Gulf of Mexico. **Transactions of the American Fisheries Society**. 145: 108-119. DOI: 10.1080/00028487.2015.1111253.

SHIN YJ, ROCHET MJ, JENNINGS S, FIELD JG, & GISLASON H. 2005. Using size-based indicators to evaluate the ecosystem effects of fishing. e ICES. **Journal of Marine Science**, 62: 384-396.

SOARES EC, BISPO MD, SANDES RDD, NARAI N, VASCONCELOS VC, COSTA SS. 2021. Oil impact on the environment and aquatic organisms on the coasts of the states of Alagoas and Sergipe, Brazil - a preliminary evaluation. **Marine Pollution Bulletin**.

SOARES MO, TEIXEIRA CEP, BEZERRA LEA, PAIVA SV, TAVARES TCL, GARCIA TM, ARAÚJO JT, CAMPOS CC, FERREIRA SMC, MATTHEWS-CASCON H, FROTA A, MONT'ALVERNE TCF, SILVA ST, RABELO EF, BARROSO C X, FREITAS JEP, MELO JÚNIOR M, CAMPELO RPS, SANTANA CS, & CARNEIRO PBM, MEIRELLES AJ, SANTOS BA, OLIVEIRA AHB, HORTA P, CAVALCANTE RM. 2020. Oil spill in South Atlantic (Brazil): Environmental and governmental disaster. *Marine Policy*, v. 115, <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2020.103879>.

THIAM N. 2004. Ecomorphologie de *Trisopterus luscus* (L. 1758), tacaud: adaptation a la température et l'asymétrie fluctuante, PhD thesis, department of Animal Biology, Université de Vigo, Spain: 174.

ZAR JH. 2010. Biostatistical Analysis, 5th ed. Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Prentice-Hall, 944 p.

ZOU E. 2005. Impacts of xenobiotics on crustacean molting: the invisible endocrine disruption. **Integrative and Comparative Biology** 45: 33-38. <https://doi.org/10.1093/icb/45.1.33>.

WEISSING FJ, EDELAAR P, & VAN DOORN GS. 2011. Adaptive speciation theory: a conceptual review. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 65: 461–480.

WHITE I, & MOLLOY F. 2001. Ships and marine environment. The International Tanker Owners Pollution Federation Limited (ITOPF), Maritime Cyprus.

ISO 14669. 1999. Water quality: Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea).

APENDICE A**Solução teste**

A Fração Solúvel em Água (FSW) do óleo, foi obtida a partir do óleo cru coletado em campo durante o aparecimento do material em áreas do litoral brasileiro. Para preparação da FSA seguimos o método sugerido por Anderson *et al.* (1974), de forma simplificada, foi usado uma parte do óleo para 9 partes de água do mar filtrada (0,45 µm), que foi agitada por 24hs em um Becker com auxílio de um agitador magnético e uso da barra magnética. Depois desse período foi retirado a fase aquosa que foi usada como solução-estoque de FSW (100%) que foi filtrada para retirar 0,47µm.

Uma amostra de 1L da solução estoque foi retirada para a análise das concentrações de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), que foi realizado pelo Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos (OrganoMAR) da Univesidade Federal de Pernambuco. Para a identificação e quantificação dos HPAs foi usado o cromatógrafo a gás (Sistema GC Agilent technologies 7820 A) acoplado em espectrômetro de massa (MSD série 5975 da Agilent) com o intuito de monitorar os ions selecionados (Maciel, 2015; Arruda-Santos *et al.*, 2018).

Analito	Anéis	Concentração (ng L⁻¹)
Naftaleno	2	134.01
C1-Naftalenos	2	168.69
C2-Naftalenos	2	734.31
C3-Naftalenos	2	752.24
C4-Naftalenos	2	378.65
Acenaftileno	3	10.88
Acenafteno	3	83.35
Fluoreno	3	81.25
C1-Fluorenos	3	480.66
C2-Fluorenos	3	415.73
C3-Fluorenos	3	222.25
Fenantreno	3	201.07
Antraceno	3	20.45
C1-Fenantrenos + C1-Antracenos	3	455.29
C2-Fenantrenos + C2-Antracenos	3	421.43
C3-Fenantrenos + C3-Antracenos	3	231.26
C4-Fenantrenos + C4-Antracenos	3	100.6
Fluoranteno	4	12.59
Pireno	4	105.9
C1-Fluorantenos + C1-Pirenos	4	222.2
C2-Fluorantenos + C2-Pirenos	4	198.71

Embriologia e ontogenia do aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) ...

C3-Fluorantenos + C3-Pirenos	4	126.8
Benzo[a]antraceno	4	17.87
Criseno	4	100.96
C1-Benzo[a]antracenos + C1-Crisenos	4	143.62
C2-Benzo[a]antracenos + C2-Crisenos	4	112.1
C3-Benzo[a]antracenos + C3-Crisenos	4	59.39
Benzo[b]fluoranteno	5	4.02
Benzo[k]fluoranteno	5	2.83
Benzo[a]pireno	5	13.31
Dibenzo[a,h]antraceno	5	< 1
Indeno[1,2,3-cd]pireno	6	nd
Benzo[ghi]perileno	6	4.15
Total	2-6	6016.57
