

II Encontro anual de
INICIAÇÃO 
CIENTÍFICA DA UNESPAR

**UTILIZAÇÃO DA MORFOMETRIA GEOMÉTRICA NO ESTUDO DA FORMA DE
PORTUNÍDEOS**

Eliezer de Lima Correia (PIC, Fundação Araucária)
Unespar/Campus-Paranaguá, elliezerbiologia@gmail.com
Rafael Metri (Orientador)
Unespar/Campus-Paranaguá, rafael.metri@unespar.edu.br
Cassiana Baptista Metri (Coorientadora)
Unespar/Campus-Paranaguá, cassiana.metri@unespar.edu.br

Palavras-chave: Morfometria Geométrica. Portunídeos. Complexo estuarino de Paranaguá.

INTRODUÇÃO

O estudo da forma em organismos vem se destacando cada vez mais no cenário da pesquisa científica, o mesmo é de suma importância para o entendimento de caracteres evolutivos e ecológicos das espécies. Tal estudo fornece informações que possibilitam a compreensão da diversidade biológica e os mecanismos de adaptação ao ambiente dos organismos (FUTUYAMA, 2009), portanto, entendendo melhor a sua história de vida evolutiva. Esse estudo da forma foi definido como morfometria por Blackith em 1965 e consiste em métodos de diferenciação das formas entre espécies ou organismo. Morfometria é o estudo estatístico das mudanças e variações na forma e no tamanho (MONTEIRO;REIS,1999).

A morfometria pode ter duas abordagens distintas, sendo morfometria tradicional e a morfometria geométrica. A primeira analisa a variação e a covariação entre distancia de pares de pontos, e a segunda é a análise multivariada baseada em pontos anatômicos ou contornos (REIS, 1988), portanto a morfometria geométrica é mais abrangente e possibilita análise de regiões específicas onde há diferença de forma entre organismos. A morfometria geométrica também pode ser utilizada para diferenciação de espécies, e para diferenciar fases de desenvolvimento entre organismos e se há dimorfismo sexual ou não (REIS, 1988 *op cit.*).

A utilização de crustáceos decápodes no estudo de morfometria é um ótimo modelo, pois tais organismos possuem pontos bem específicos em sua carapaça que permitem uma análise abrangente de sua forma e a marcação de pontos homólogos nos indivíduos, todavia os estudos com crustáceos decápodes ainda são poucos, restringindo-se a poucas espécies como *Liocarcinus depurator* (RUFINO et al., 2006), *Carcinus maenas* (LEDESMA et al., 2010) e algumas espécies do gênero *Uca* (HOPKINS; THURMAN, 2010).

**II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.**

Os portunídeos são comumente conhecidos como caranguejos decápodes nadadores ou simplesmente siris, os mesmos se distribuem amplamente ao longo da costa atlântica ocidental (FAO 1993, MELLO 1999). No sudeste do Brasil algumas espécies de portunídeos são abundantes como *Callinectes ornatus* e *Callinectes danae*. Os mesmos habitam fundos de areia, lama e concha, principalmente em regiões estuarinas de salinidade moderada (MELLO, 1999), apesar dessas espécies terem grande abundância, são poucas utilizadas comercialmente e acabam sendo parte do rejeito da pescaria nas regiões costeiras (BAPTISTA ET AL, 2003). Na região estuarina do Paraná a atividade de extrativismo do siri ocorre com frequência e vem sendo impulsionada nos últimos anos (ANACLETO ET AL, 2015).

A aplicação da morfometria geométrica no estudo com portunídeos é de grande importância, podendo analisar a diferença de machos e fêmeas, análise entre populações e espécies próximas, e procurar por padrões populacionais de uma mesma espécie, sendo assim fornecendo um maior conhecimento sobre as espécies e sua dinâmica em diversos tipos de ambientes, e na observação de fatores que podem estar contribuindo para uma espécie dominar o ambiente.

O presente trabalho teve como objetivo a análise da forma entre grupos distintos de portunídeos do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e a diferença na forma entre os sexos, buscando entender quais aspectos ecológicos regem tais mudanças morfológicas nos indivíduos.

METODOLOGIA

Os exemplares de portunídeos foram obtidos através de uma parceria com o grupo de pesquisa da Dra.Cassiana Baptista Metri. As coletas foram realizadas em vários locais do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) ao longo de 2015 e 2016. Os siris eram coletados com uso de armadilhas tipo gaiolas iscadas e mantidos congelados. Coletas foram realizadas em todas as estações do ano mas, para este estudo, foram utilizadas amostras que continham número significativo de siris de uma espécie e um sexo. Os exemplares foram identificados, sexados, medidos e fotografados dorsalmente na região do cefalotórax.

Inicialmente foram realizadas imagens com distancia focal e iluminação variadas até definição da melhor metodologia para obtenção das imagens. A partir desta padronização todas imagens foram obtidas da mesma forma. As imagens do cefalotórax foram obtidas com o uso de uma câmera digital apoiada sobre um suporte móvel que permite uma distância focal fixa independentemente do tamanho do siri fotografado(Fig. 1). As imagens da vista dorsal dos siris foram salvas em formato JPEG (Joint Photographic Experts Group) e organizadas em lista pelo programa TPSUtil versão 1.46 (ROHLF, 2010).

Para a marcação dos pontos anatômicos foram utilizados marcos específicos da carapaça, facilmente reconhecíveis e homólogos entre todas as espécies analisadas. A marcação foi realizada utilizando o software TPSdig2 versão 2.12 (ROHLF, 2010). Para reduzir o erro de marcação cada

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

imagem foi marcada em triplicata. A média das coordenadas foi usada nas análises subsequentes. Foram marcados 21 pontos anatômicos homólogos em todas as imagens, como mostra a figura 2.

Os dados das coordenadas ortogonais de cada ponto anatômico foram organizados em planilha para posterior análise estatística. As análises dos dados foram realizadas com o programa MorphoJ (KLINGENBERG, 2010). O método de sobreposição utilizado para as análises de morfometria geométrica foi a sobreposição generalizada de Procrustes, que consiste em alinhar duas ou mais configurações em relação à forma média da população, de modo que a soma dos quadrados das distâncias entre os pontos correspondentes em ambas as configurações seja a menor possível, excluindo fatores de posição, orientação e tamanho (MONTEIRO; REIS, 1999).

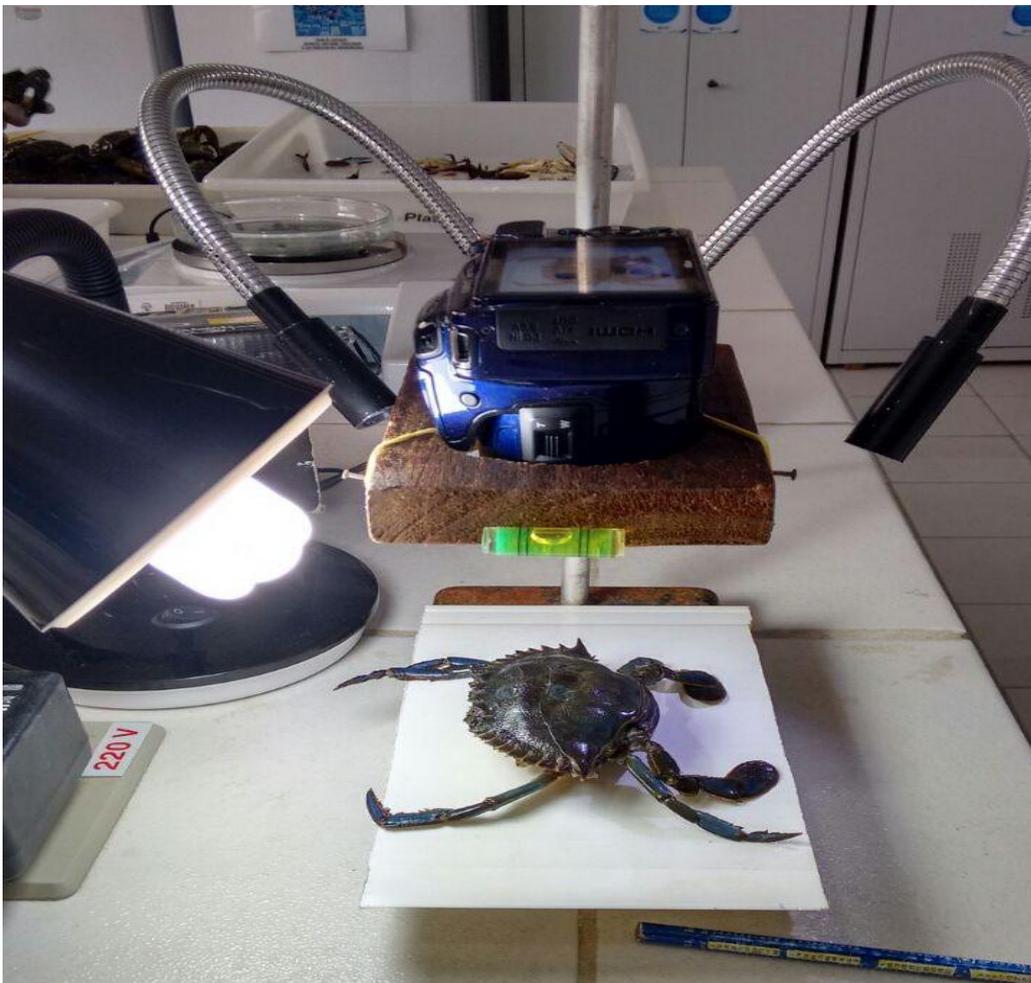


Figura 1. Suporte para fotografia, com distância focal fixa e iluminação adequada.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

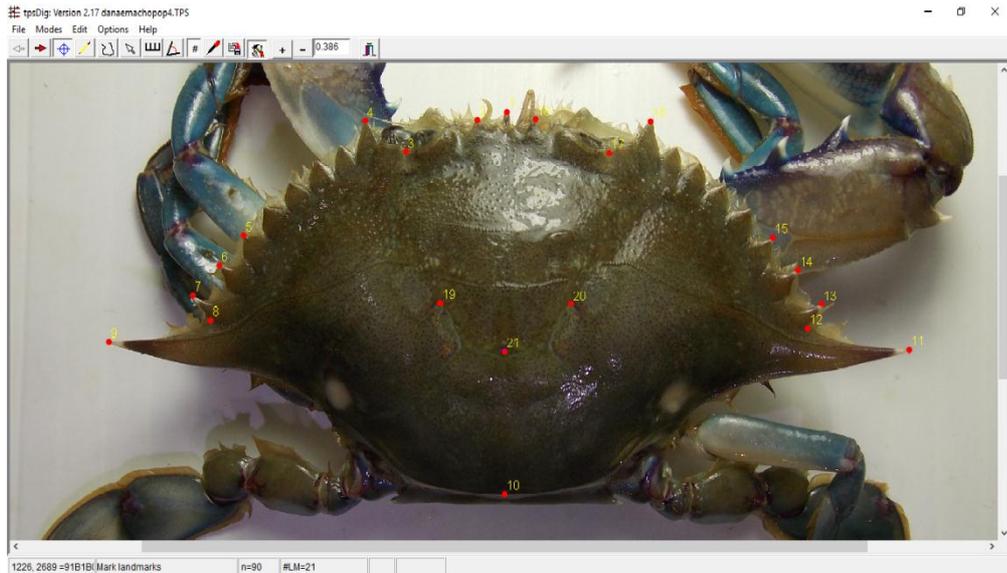


Figura 2. Pontos anatômicos homólogos e simétricos utilizados para as análises.

Foram realizadas comparações da forma entre grupos de siris de uma mesma espécie obtidos de pontos diferentes do CEP e comparações de forma entre os sexos de uma mesma espécie. A rotina de análises realizada após a sobreposição de Procrustes envolveu a exclusão de possíveis *outliers*, análises discriminantes da forma das carapaças e em seguida análises de variáveis canônicas, utilizadas para maximizar a diferenciação entre os grupos.

Análise 1

Foram comparados grupos de siris de uma mesma espécie entre locais diferentes. Vale ressaltar que não se tratam de populações verdadeiras das espécies pois não possuem origem genética distinta ou isolamento reprodutivo. Para estas análises foram utilizados machos adultos da espécie *Callinectes danae* de 4 locais do CEP e também fêmeas adultas da espécie *Callinectes exasperatus* de 2 áreas. Tal comparação foi realizada para testar a hipótese de que o ambiente induz a diferenciação da forma nos indivíduos, isto é, se houver diferenças significativas na forma dos grupos de uma espécie, é provável que as características de cada habitat induzam padrões de forma o que reflete uma possível fidelidade dos indivíduos a cada local. Por outro lado, a ausência de diferença pode indicar que os indivíduos transitam por diferentes pontos do estuário, não demonstrando fidelidade a certas áreas.

Análise 2

Foram comparadas as diferenças na forma entre machos e fêmeas da espécie *Callinectes danae* para verificar os padrões morfológicos entre os sexos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparação entre "grupos" da mesma espécie

Em relação a espécie *Callinectes danae* foram obtidas 30 fotos de machos adultos de cada "grupo", totalizando 4 locais distintos do CEP: Ilha da Cotinga, Iate Clube, TCP (Terminal de Contêineres de Paranaguá) e Ilha do Mel.

A análise de Procrustes mostrou os pontos anatômicos que possuíram maiores diferenças, esses foram os espinhos laterais (pontos 9 e 11), região central da carapaça (19, 20 e 21) e também a região anterior e posterior (1 e 10), como mostra a figura 3.

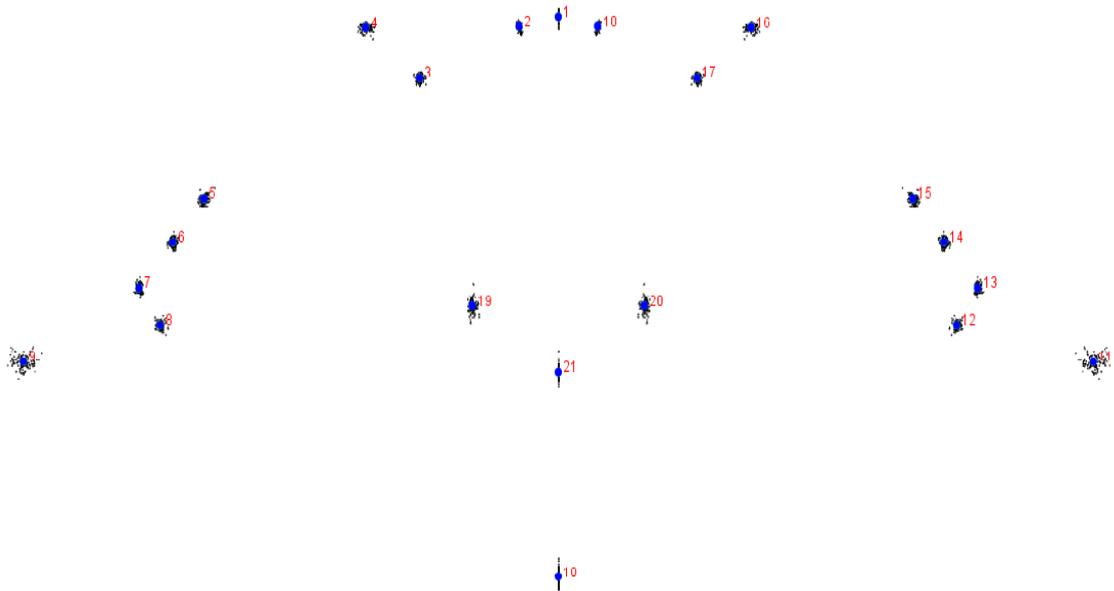


Figura 3. Análise de Procrustes mostrando a variação dos pontos de machos de *C. danae*.

A análise de variância canônica mostrou distinção entre a forma dos "grupos" analisados, sendo TCP e Ilha do Mel os grupos mais distintos na forma. Os dois "grupos" foram separadas pelo eixo 1 da análise como podemos observar na figura 4.

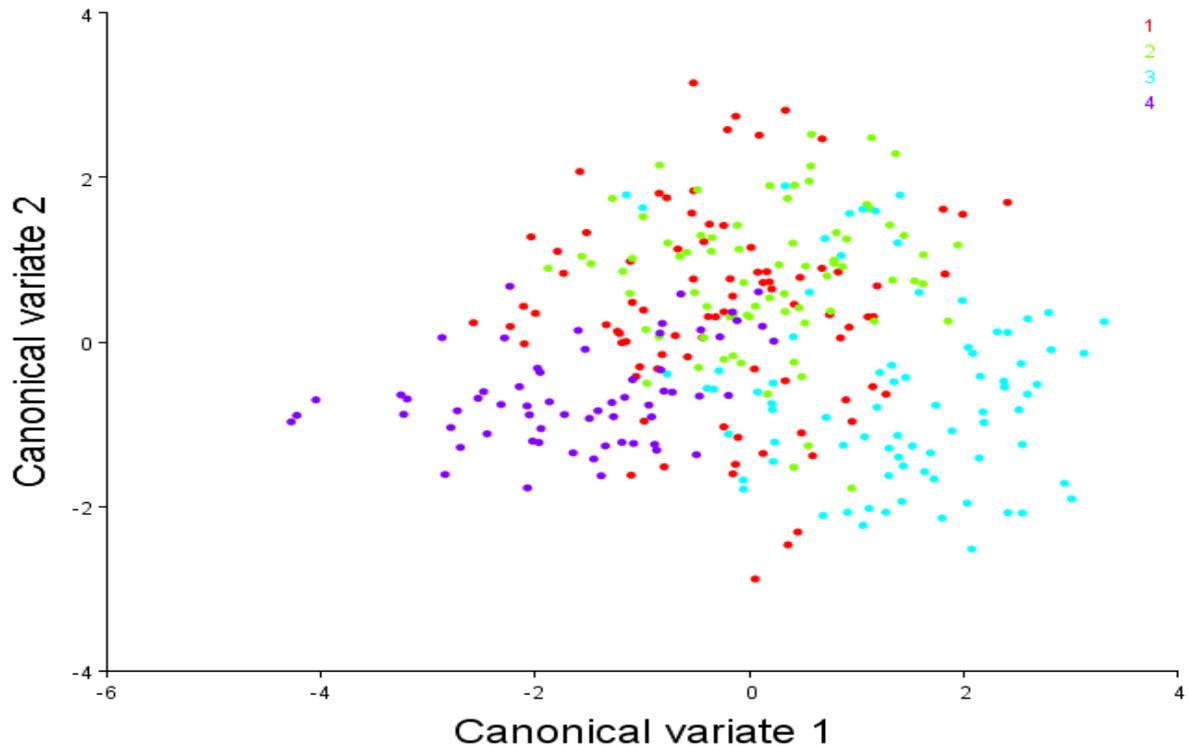


Figura 4. Análise de variância canônica, onde vermelho (Ilha da Cotinga), verde (Iate CLube), azul claro (TCP) e roxo (Ilha do Mel), sendo os dois últimos os mais distintos separados pelo eixo 1.

A análise discriminante corroborou que os "grupos" com mais distinção entre a forma foram a TCP e Ilha do Mel ($p < 0,05$), seguido por Ilha da Cotinga e Iate Clube com menos diferenças. De fato, entre os locais origem dos siris estudados, o TCP e a Ilha do Mel são os mais distantes entre si, o que pode ter relação com as maiores diferenças morfológicas observadas.

Os "grupos" da Ilha do Mel e TCP são separados pela diferença nos espinhos anterolaterais que são mais pronunciados e região posterior da carapaça mais projetada para o centro no TCP. Entre Ilha da Cotinga e Iate Clube as diferenças foram em relação aos espinhos laterais mais compridos e voltados para frente e com região orbital mais curvada no Iate Clube.

Em relação a espécie *Callinectes exasperatus* foram obtidas 25 fotos de fêmeas adultas de cada local do CEP totalizando 3 "grupos" sendo dois da Ilha da Cotinga e um da Ilha do Mel. Só foram analisadas fêmeas pois as mesmas eram maioria nas coletas feitas, sendo raros os machos desta espécie nos locais amostrados.

A análise de Procrustes permite observar os pontos que mais diferiram entre os indivíduos e, de modo similar a *C. danae*, os pontos que mais apresentaram diferença foram os espinhos laterais (9 e 11), região central da carapaça (19, 20 e 21) e também a região anterior e posterior (1 e 10), como mostra a figura 5.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

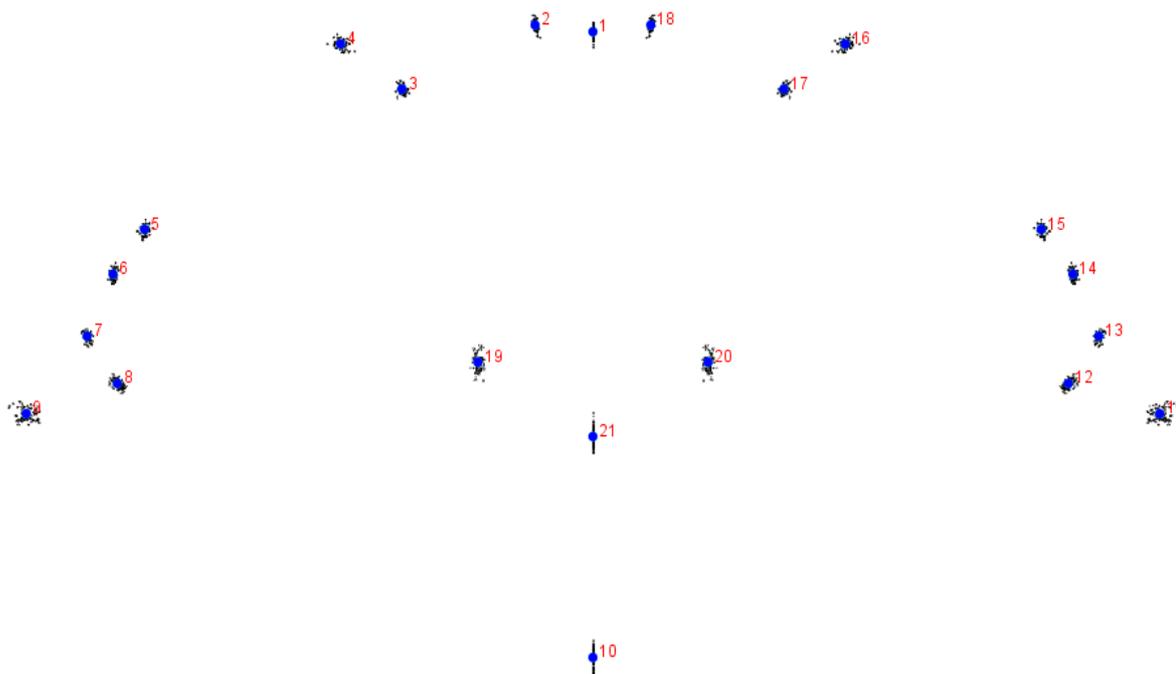


Figura 5. Análise de Procrustes mostrando a variação dos pontos de fêmeas de *C. exasperatus*.

A análise de variância canônica também mostrou diferença entre a forma das "grupos" analisados. O "grupo" Ilha do Mel diferiu significativamente dos outros. Os dois grupos da Ilha da Cotinga apresentaram forma mais semelhante entre si. Isto reforça a idéia de que animais de locais diferentes possuem padrões de forma diferentes. As diferenças entre os "grupos" Ilha da Cotinga e Ilha do Mel foram evidenciadas pelo eixo 1 da variável canônica como pode se observar na figura 6.

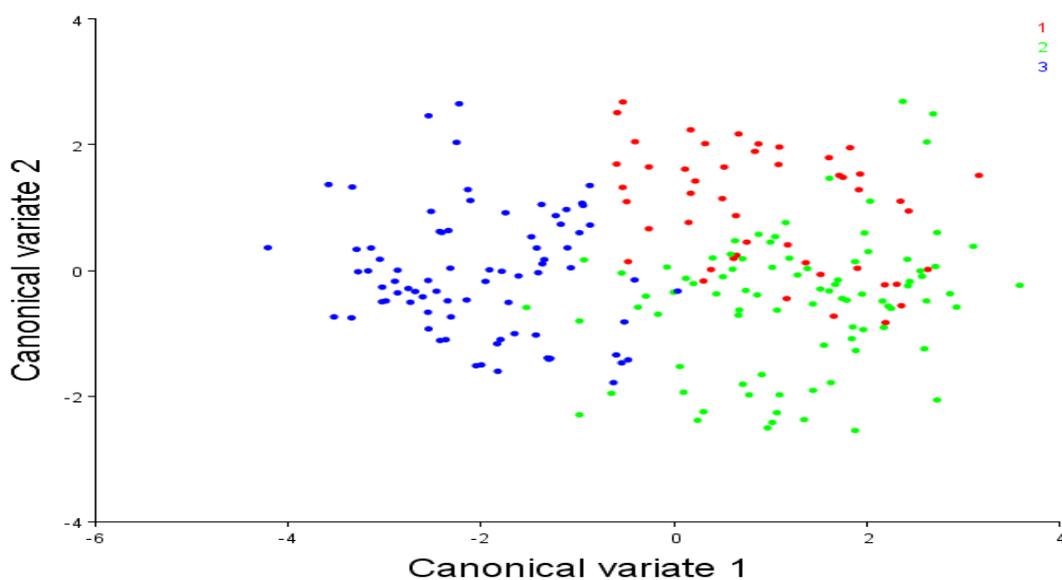


Figura 6. Análise de variância canônica onde vermelho (Ilha da Cotinga), Verde (Ilha da Cotinga) e azul (Ilha do Mel).

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

A análise discriminante corroborou com as diferenças observadas na análise de variáveis canônicas, mostrando quais regiões da carapaça foram as mais diferentes. Entre os "grupos" da Ilha da Cotinga as diferenças não foram tão evidentes, se restringindo aos espinhos laterais um pouco mais compridos na Ilha da Cotinga 2, e também região central e posterior mais afastadas entre si. Entre a Ilha da Cotinga e Ilha do mel houve uma diferença significativa nos espinhos laterais mais compridos e pronunciados para frente, região posterior mais direcionada para região central da carapaça no "grupo" Ilha do Mel, e região anterior menos pronunciada que na Ilha da Cotinga 1. E entre a Ilha do Mel e Ilha da Cotinga 2 as diferenças foram mais marcantes na região posterior da carapaça e central, onde na Ilha do Mel essas duas regiões são mais próximas, e também uma região posterior mais curvada.

Comparação entre os sexos de *Callinectes danae*

Foram obtidas 20 imagens de fêmeas adultas e 20 imagens de machos adultos de *C. danae*. Estes indivíduos não eram apenas de um local do estuário, assim foram sorteados indivíduos mesclados de todas as amostras não caracterizando apenas um local.

A análise de Procrustes detectou os pontos que mais exibiram diferenças entre os machos e as fêmeas. Novamente as regiões que tiveram maior diferença foram os espinhos laterais e a região central da carapaça(fig7).

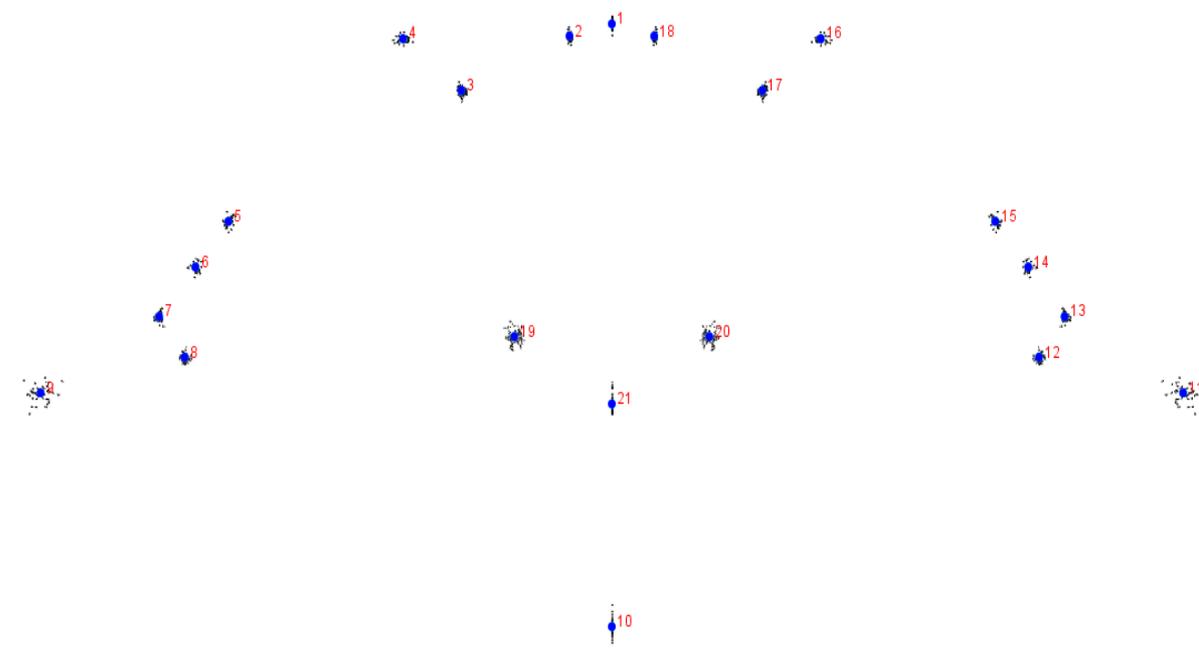


Figura 7. Análise de Procrustes mostrando a variação dos pontos de machos e fêmeas de *C. danae*.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

A análise discriminante mostrou diferença entre os sexos, onde os espinhos laterais dos machos são mais compridos que as fêmeas, provavelmente para disputas territoriais entre os machos. As fêmeas também possuem a região central da carapaça mais alargada que a dos machos, provavelmente devido ao espaço necessário para maturação gonadal e carregamento dos ovos no período reprodutivo (HARTNOLL, 1982).

Sabe-se que a interferência do ambiente no desenvolvimento de um dado organismo pode causar e induzir mudanças morfológicas nos indivíduos com mesmo genótipo (PERES-NETO & MAGNAN, 2004), o que conhecido como plasticidade fenotípica.

Apesar de ainda não se saber quais aspectos ecológicos específicos regem tais diferenças morfológicas, presume-se que um dos aspectos intimamente relacionados a forma é o tipo de substrato, pois em estudos feitos com caranguejos de diferentes tipos de habitat, foi evidenciado que o tipo de substrato interfere na forma do organismo, demonstrando adaptação do organismo ao seu habitat (MAROCHI & MASUNARI, 2016).

Para a espécie *Callinectes danae* que dentre suas características físicas possuem carapaça mais achatada dorsoventralmente, criando menos resistência para natação, este formato permite que seja uma predadora agressiva dos sistemas bentônicos (WRIGHT et al., 1996), assim a força da correnteza onde esses animais vivem pode também inferir diretamente na sua forma. A presença de predadores é também um fator que interfere no desenvolvimento da forma dos organismos, onde o risco de ser predado diminui com o aumento do tamanho (HARRISON & CRESPI, 1999).

É dito que as fêmeas dos portunídeos deslocam-se para águas mais salinas para a desova (WILLIAMS, 1974), portanto as fêmeas tendem a ter uma mobilidade maior no habitat que os machos, não sendo tão fiéis a apenas um local, no entanto as diferenças claras entre os grupos de fêmeas de *Callinectes exasperatus* observadas neste estudo, sugere que as fêmeas desta espécie possuem uma certa fidelidade ao seu local, mesmo que durante e após a desova possam se deslocar para outras áreas.

CONCLUSÃO

Os resultados gerados neste estudo permitem concluir que o ambiente interfere no desenvolvimento da forma dos portunídeos, exercendo influencia significativa no estabelecimento de padrões de forma diferenciados entre organismos de localidades diferentes.

Aspectos ecológicos como tipo de substrato, hidrodinamismo, presença de predadores e o comportamento das espécies apontam para serem os aspectos que regem tais mudanças na forma dos indivíduos.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos fornecem informações precisas para a compreensão de tais fatores que interferem na forma dos portunídeos, no entanto ainda são necessários estudos mais aprofundados na área, para se apontar corretamente como e quais aspectos ecológicos estão regendo tais mudanças na forma dos portunídeos.

REFERÊNCIAS

ANACLETO, A., BAPTISTA-METRI, C., GONÇALVEZ, T. P., NEVES, P. R. O extrativismo do siri com gaiolas no litoral paranaense: implicações socioeconômicas. Revista SODEBRAS, 10: 9-14, 2015.

BAPTISTA, C., PINHEIRO, M., BLANKENSTEIN, A., BORZONE, C. Estrutura populacional de *Callinectes ornatus* Ordway (Crustacea: Portunidae) no balneário Sangrilá, Pontal do Paraná, Paraná, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia 20(4): 661-666. 2003.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Guia de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobras de la costa septentrional de Sur America. Rome, FAO, Comisión de Comunidades Europeas y de NORAD, 1993. 149p.

FUTUYAMA, D. Biologia Evolutiva. 3.ed. Ribeirão Preto: Funpec, 2009.

HARRISON, M. F.; CRESPI, B. J. A Phylogenetic Test of Ecomorphological Adaptation in *Cancer* Crabs. Evolution, v. 53, n. 3, p. 961-965, 1999.

HARTNOLL, R. G. Growth, p. 11-196. In: Bliss, B. and Abele, A. (Eds). The biology of Crustacea: embryology, morphology and genetics. New York, Academic Press, 1982.

HOPKINS, M. J.; THURMAN, C. L. The geographic structure of morphological variation in eight species of fiddler crabs (Ocypodidae: genus *Uca*) from the eastern United States and Mexico. Biological Journal of the Linnean Society, v. 100, p. 248-270, 2010.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. Molecular Ecology Resources, advance online, 2010.

LEDESMA, F. M.; MOLEN, S. V.; BARÓN, P. J. Sex identification of *Carcinus maenas* by analysis of carapace geometrical morphometry. Journal of Sea Research, v. 63, p. 213-216, 2010.

MAROCHI, M. Z.; MASUNARI, S. Ecomorphology of crabs and swimming crabs (Crustacea Decapoda Brachyura) from coastal ecosystems. Brazillian Journal of Oceanography, v. 64, n. 2, p. 137-148, 2016.

MELO, G.A.S. 1999. Infraordem Brachyura. Siris e carangueijos: espécies marinhas e estuarinas, p. 415-485. In: L. Buckup & G. Bond-Buckup (Eds), Os crustáceos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Ed. da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 503p.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. Princípios de Morfometria Geométrica. Ribeirão Preto: Holos Editora, 1999. p198.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

- PERES-NETO, P. R.; MAGNAN, P. The influencing in swimming demand on phenotypic plasticity and morphological integration: a comparison of two polymorphic charr species. *Oecologia*, v.140, p.36-45, 2004.
- REIS, S. F. Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 5, n. 4, p. 571-580, 1988.
- ROHLF, F. J. TPSUtil, utilityprogram, version 1.46. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2010.
- RUFINO, M. M.; ABELLÓ, P.; YULE, A. B. Geografic and gender shape differences in the carapace of *Liocarcinus depurator* (Brachyura: Portunidae) using geometric morphometrics and the influence of a digitizing method. *Journal of Zoology*, v. 269, p. 458-465, 2006.
- WILLIAMS, A.B. The swimming crabs of the genus *Callinectes* (Decapoda, Portunidae). *Fish. Bull. Washington*, v. 72, n. 3, p. 685-798, 1974.
- WRIGHT, R. A.; CROWDER, L. B.; MARTIN, T. H. Selective predation by blue crabs on the gastropod, *Bittiumvarium*: confirmation from opercula found in the sediments. *Estuaries*, v. 19, n. 1, p. 75-81, 1996.