

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA

IDENTIFICAÇÃO BASEADA EM mtDNA,
RECRUTAMENTO E DINÂMICA
REPRODUTIVA DE *Callinectes sapidus*
(RATHBUN, 1896)

MARCOS ALANIZ RODRIGUES

Tese apresentada ao programa de Pós-
graduação em Oceanografia Biológica
da Universidade Federal do Rio
Grande, como requisito parcial à
obtenção do título de DOUTOR.

Orientador: Prof. Dr. Fernando D’Incao

RIO GRANDE

Janeiro 2012.

Somewhere, something incredible
is waiting to be known

Carl Sagan

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro durante as etapas nacional e internacional da tese.

Ao amigo e Professor Dr. Fernando D’Incao

Ao Professor David B. Eggleston, e todos na North Carolina State University, pela amizade e pela oportunidade do estágio Sanduíche.

A todos do Laboratório de Crustáceos da FURG, pela ajuda e alegria,

Ao amigo Fábio Lameiro Rodrigues, pelos momentos de mau humor que trouxeram bom humor nesses anos todos.

A todo o pessoal de Tramandaí, pela ajuda nas coletas durante o trabalho do recrutamento.

Ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) pela disponibilização de dados ambientais.

Aos membros avaliadores da tese, Dr. Carlos E. Bemvenuti, Dr. Wilson Wasielesky Jr., Dr. Luis F. F. Marins, ao amigo e agora Prof. Dr. Luiz Felipe Cestari Dumont e à Dra. Laura López-Greco pelas correções, sugestões e pelo tempo dispendido na leitura deste manuscrito.

Ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica da FURG, pela oportunidade concedida tanto no mestrado quanto no doutorado.

A todos da Universidade Federal do Rio Grande - FURG, que me acolheu desde 1999, quando iniciei meus estudos em Biologia, e que possibilitaram meu crescimento e minha formação como pessoa.

À toda minha família, por terem feito de mim a pessoa que sou agora.

À minha esposa Rúbia Tatiana Gattelli, por todo seu amor e apoio incondicional, mesmo nas horas mais difíceis.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO GERAL	5
OBJETIVOS E ESTRUTURA DA TESE	12
METODOLOGIA GERAL	16
CAPÍTULO 1	21
CAPÍTULO 2	23
CAPÍTULO 3	25
CAPÍTULO 4	27
DISCUSSÃO GERAL	29
CONCLUSÕES GERAIS	30
BIBLIOGRAFIA	31
ANEXOS	37
ANEXO I Two distinct subpopulations of <i>Callinectes sapidus</i> (Rathbun 1896) (DECAPODA: PORTUNIDAE) found on the Western Atlantic by the analysis of the COI subunit.	38
ANEXO II Distribuição espacial e abundância de juvenis de <i>Callinectes sapidus</i> no complexo estuarino lagunar Tramandaí-Armazém e na região estuarina da Lagoa dos Patos.	60

ANEXO III Maturação Sexual e Relações Gonadais de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA, BRACHYURA, PORTUNIDAE) na Lagoa dos Patos, RS.

..... 92

ANEXO IV Fecundity variation and abundance of females of Blue Crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA, BRACHYURA, PORTUNIDAE) on the

Patos Lagoon estuary, RS, Brazil. 115

ÍNDICE DE TABELAS

ANEXO I

Table 1. Summary of genetic diversity of *C. sapidus* COI subunit sequences obtained across its distribution area, including number of transitions and transversions, number of polymorphic sites (S), percentage of A+T nucleotides, haplotype diversity (Hd), nucleotide diversity (π) and average number of pairwise differences (k). Numbers within brackets represent sample sizes at each site. Página 47

Table 2. Frequency distribution of COI subunit haplotypes among *C. sapidus* populations from six different sites sampled for population structure analysis in Western Atlantic. Numbers within brackets represent sample sizes at each site. Numbers in italic bold shows the shared haplotypes.Página 47

Table 3. Fine scale pairwise F_{st} distances and levels of significance (within brackets) estimated from *C. sapidus* COI subunit sequences between six sites sampled. GM= Gulf of Mexico, CB=Chesapeake Bay, PS= Pamlico Sound, BT Bertioga (SP), IT= Itajaí (SC), TD= Tramandaí (RS), PL= Patos Lagoon (RS). Numbers within brackets represent sample sizes at each site. Numbers in black represent no significant differences (95%). Página 49

Table 4. Broad scale pairwise F_{st} distances and levels of significance (within brackets) estimated from *C. sapidus* COI subunit sequences between three sites sampled. US= United States, BR= Brazil. Numbers within brackets represent sample sizes at each site. Página 49

Table 5. Neutrality Test and Mismatch analysis for *C. sapidus* populations in Gulf of Mexico (GM) Chesapeake Bay (CB), Pamlico Sound (PS), Bertioga (BT), Itajaí (IT), Tramandaí (TD) and Patos Lagoon (PL). Distances are presented based on the Patos Lagoon estuary samples. Parameters of demographic expansion are presented, as well as the goodness of fit test of the model, sum of squared deviations (SSD), p-values for rejection of demographic expansion model and Tajima's test p-values.Página 50

ANEXO II

Tabela 1: Locais de coleta com rede de renfro, nos estuários da Lagoa dos Patos e Tramandaí.	Página 67
Tabela 2. Sumário da regressão múltipla realizada para os dados de abundância de <i>C. sapidus</i> no estuário de Tramandaí e os dados ambientais temperatura do ar, temperatura da água, salinidade e chuva.	Página 79
Tabela 3. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário de Tramandaí ($p < 0.005$) agrupadas por profundidade.	Página 79
Tabela 4. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário de Tramandaí ($p < 0.005$) agrupadas por ponto de coleta.....	Página 80
Tabela 5. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário de Tramandaí ($p < 0.005$) agrupadas por profundidade e por ponto de coleta.	Página 80
Tabela 6. Sumário da regressão múltipla realizada para os dados de abundância de <i>C. sapidus</i> no estuário da Lagoa dos Patos e os dados ambientais temperatura da água, salinidade e chuva.	Página 81
Tabela 7. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário da Lagoa dos Patos ($p < 0.005$) agrupadas por profundidade.	Página 81
Tabela 8. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário da Lagoa dos Patos ($p < 0.005$) agrupadas por ponto de coleta.	Página 82

Tabela 9. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário da Lagoa dos Patos ($p < 0.005$) agrupadas por profundidade e por ponto de coleta. Página 82

ANEXO III

Tabela 1. Estádios gonadais dos ovários do siri-azul *Callinectes sapidus* (adaptada de Mantelatto & Fransozo, 1999; Oliveira, 2005). Página 101

Tabela 2. Número de indivíduos amostrados e largura da carapaça (mm) de machos e fêmeas imaturos e maturos de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) coletadas no estuário da Lagoa dos Patos, RS, entre o outono de 2008 ao outono de 2010. (LC mín., largura mínima da carapaça; LC máx., largura máxima da carapaça; x, média; s, desvio padrão; n, número de indivíduos). Página 101

Tabela 3. Idade de primeira maturação calculada para machos e fêmeas de *C. sapidus* coletados no estuário da Lagoa dos Patos entre 2008 e 2010. Página 103

Tabela 4. Valores de CPUE total calculada para machos e fêmeas organizada sazonalmente. São apresentados também a frequência relativa de ocorrência (%) e os valores do teste de qui-quadrado calculado com g.l.=1. Valor crítico para estabelecer diferenças $> 3,84$ Página 105

ANEXO IV

Table 1. Comparison of the number of eggs (NE) and the dried egg mass weight (EW) on the size classes studied for *C. sapidus*. Página 123

Table 2. Age of *C. sapidus* calculated for the average carapace width of each of the four cohorts of ovigerous females collected. Página 123

Table 3. Regression analysis of *C. sapidus* fecundity. (r= correlation coefficient; NE = number of eggs; CW = carapace width; AW = Abdomen width; W = wet weight of ovigerous females; EW = dry weight of eggs). N=38. Página 124

Table 4. Comparison of fecundity between *C. sapidus* and other portunids also found in the Patos Lagoon estuary. Adapted from Mantelatto & Fransozo (1997).
..... Página 125

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Área de distribuição do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) no continente Americano desde Cape Cod (Estados Unidos) até Mar del Plata (Argentina) (área sombreada) (Santos, 2007). Página 7

Figura 2. *Callinectes sapidus* e as medidas utilizadas para a análise da estrutura populacional e análises de fecundidade, incluindo as duas medidas de largura de carapaça (LC1 e LC2) e a largura de abdômen (LA) (Modificado de Santos, 2007). Página 20

ANEXO 1

Figure 1. Distribution area of *C. sapidus* in the Americas. Sampling areas are marked with black dots and the solid black line represents distribution area. Página 45

Figure 2. MJ network describing the relationships among *C. sapidus* COI mtDNA 450-bp haplotypes. Samples are marked accordingly: C - Chesapeake Bay; P - Pamlico Sound; GM - Gulf of Mexico; B - Bertioga; I - Itajaí; T - Tramandaí; L - Patos Lagoon. Página 51

Figure 3. MP consensus tree produced from an alignment of COI region sequences with *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), with samples from the United States sampling sites (USA), and Brazil's sampling sites (Brazil). Bootstrap values are shown on the branches. The portunid *Scylla tranquebaricus* is used as an outgroup. Página 51

ANEXO 2

Figura 1. Complexo Estuarino Tramandaí-Armazém. Os pontos assinalados (01, 02, 03 e 04) fazem referência aos pontos de coleta realizados (fonte: Google Earth). Página 66

Figura 2. Estuário da Lagoa dos Patos. Os pontos assinalados (01, 02, 03 e 04) fazem referência aos pontos de coleta realizados (fonte: Google Earth). Página 67

- Figura 3. *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896). Medida da largura de carapaça utilizada. Página 68
- Figura 4. CPUE das quatro coortes de *Callinectes sapidus* juvenis coletados no estuário do rio Tramandaí, agrupado mensalmente, e acrescido de dados ambientais salinidade, temperatura e chuva. Página 71
- Figura 5. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário de Tramandaí agrupado por coortes e por profundidade. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Página 72
- Figura 6. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário de Tramandaí agrupado por coortes e por ponto de coleta. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Os pontos de coleta estão descritos na Tabela 1. Página 73
- Figura 7. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário de Tramandaí agrupado por coortes, por profundidade e por ponto de coleta. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Os pontos estão descritos no texto. Página 74
- Figura 8. CPUA das quatro coortes de *Callinectes sapidus* juvenis coletadas no estuário da Lagoa dos Patos, agrupado mensalmente, e acrescido de dados ambientais salinidade, temperatura e chuva. Página 76
- Figura 9. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos agrupado por coortes e por profundidade. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Página 76
- Figura 10. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos agrupado por coortes e por ponto de coleta. Média dos mínimos quadrados. Os pontos

centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Os pontos de coleta estão descritos na Tabela 1. Página 77

Figura 11. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos agrupado por coortes, por profundidade e por ponto de coleta. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Os pontos estão descritos no texto. Página 76

ANEXO 3

Figura 1. Locais de coleta da rede de Portas no estuário da Lagoa dos Patos. Os pontos de 1 a 9 representam amostras fora da barra do estuário, e os pontos de 10 a 20 representam amostras realizadas no interior do estuário. O círculo vazado representa arrastos com rede de portas, e o quadrado vazado representa arrastos com rede de renfro (fonte: Google Earth). Página 98

Figura 2. Fotografia de duas fêmeas de *C. sapidus* analisadas quanto ao estágio de maturação gonadal. A fêmea da esquerda está em estágio ED, enquanto a fêmea da direita está em estágio AV (Escala em centímetros). Página 100

Figura 3. Tamanho de primeira maturação para machos de *Callinectes sapidus* do estuário da Lagoa dos Patos, RS. . L50=108,0 mm. L100= 150,0mm. Página 102

Figura 4. Tamanho de primeira maturação para fêmeas de *Callinectes sapidus* do estuário da Lagoa dos Patos, RS. L50=115,0 mm, L100= 155.0mm. Página 102

Figura 5. Relação gonadossomática sazonal para fêmeas de *C. sapidus* coletadas entre 2008 e 2010 no estuário da Lagoa dos Patos. Página 103

Figura 6. Relação gonadal calculada sazonalmente para fêmeas de *C. sapidus* coletadas entre outono de 2008 e outono de 2010 no estuário da Lagoa dos Patos.
..... Página 103

Figura 7. Proporção dos estádios de maturação gonadal estimados para fêmeas de *C. sapidus* coletadas entre outono de 2008 e outono de 2010 no estuário da Lagoa dos Patos. Página 104

Figura 8. Proporção sexual total de machos e fêmeas coletados no estuário da Lagoa dos Patos e área oceânica adjacente e agrupados sazonalmente. Página 105

Figura 9. Proporção sexual total de machos e fêmeas coletados no estuário da Lagoa dos Patos e agrupados sazonalmente. Página 105

Figura 10. Proporção sexual total de machos e fêmeas coletados na área oceânica adjacente à Lagoa dos Patos e agrupados sazonalmente. Página 106

ANEXO 4

Figure 1: Frequency distribution of the carapace width of 245 ovigerous *Callinectes sapidus* females collected near the mouth of the Patos Lagoon estuary. The solid line represents the smoothed frequency distribution, with four modes present.
..... Página 121

Figure 2: Frequency distribution of the fecundity (number of eggs per individual) of 38 *Callinectes sapidus* females collected in the Patos Lagoon estuary spawning region. Página 121

Figure 3: Relation between carapace width (CW) and number of eggs (NE) of *C. sapidus*. Regression equation: $NE=26695.CW-1E+06$ ($r^2 =0.61$). The central line is the mean, while the secondary lines are the 95% confidence interval (inner lines) and the prediction interval (outer lines), respectively. Página 122

Figure 4: Average air and water temperature as well as salinity inside and outside the mouth of the Patos Lagoon estuary, with CPUE of females collected monthly in the spawning area. The black lines represent temperatures (thatched=water temperature, dashed=air temperature), grey lines are salinity (thatched=inside lagoon, dashed=outside). Página 122

RESUMO

O siri-azul *Callinectes sapidus* é um importante recurso explorado ao longo de toda a área de ocorrência, tanto pela pescaria industrial, quanto pela pesca artesanal. As hipóteses testadas neste trabalho foram: Existem diferenças genéticas entre os siris que habitam as duas porções de distribuição ao longo do Continente Americano. Também a hipótese de que o recrutamento de juvenis responde de maneira positiva às variáveis ambientais, e o assentamento ocorre nas áreas internas dos estuários. Por fim foram testadas as hipóteses de que a reprodução poderia ocorrer de forma contínua, e de que o número de ovos produzido por fêmea varia com o tamanho destas. Nesta tese foram identificadas duas populações de *Callinectes sapidus* no Atlântico Ocidental através do uso de DNA mitocondrial, além de realizados estudos sobre aspectos reprodutivos e da estrutura populacional de *C. sapidus* no litoral sudeste/sul do Brasil. Para os estudos genéticos foram feitas coletas em locais de ocorrência da espécie ao longo da Costa Atlântica das Américas do Norte e do Sul. As coletas para os estudos de recrutamento e reprodução foram mensais nos estuários de Tramandaí e da Lagoa dos Patos no período entre maio de 2008 e maio de 2010. A identificação de populações foi realizada com base no sequenciamento de 650pb da região da Citocromo Oxidase do DNA mitocondrial, a partir coletas em toda a área de ocorrência da espécie no Brasil e nos Estados Unidos. A diversidade nucleotídica (π) variou de 0,002 a 0,006 e os menores valores foram encontrados nos extremos de distribuição em cada um dos grupos de populações (EUA e BR). A diversidade haplotípica variou de 0,57 a 1,00 e não seguiu o mesmo padrão de menores valores perto dos limites de distribuição. As distâncias calculadas (F_{st}) mostraram que podem ser separadas duas subpopulações ao longo da área de distribuição, uma compreendendo indivíduos dos Estados Unidos, e outra compreendendo os indivíduos do Brasil. Com relação ao recrutamento de juvenis de *C. sapidus* nos estuários da Lagoa dos Patos e Tramandaí, o padrão de resposta às variáveis ambientais foi semelhante para ambos os estuários, onde a temperatura parece ser determinante para o assentamento dos juvenis, e estes parecem se concentrar mais nos pontos com maior concentração de matéria orgânica, e significativamente mais nas margens do que nas áreas mais profundas. Em ambos os estuários, foram encontrados dois picos de recrutamento, com o primeiro ocorrendo no início do outono, e o segundo durante o

inverno. Estes picos podem estar relacionados a condições ambientais favoráveis. As áreas internas do estuário são determinantes para o correto assentamento dos recrutas de siri-azul em ambos os estuários. Com relação à descrição do processo reprodutivo, através da determinação de parâmetros reprodutivos da espécie para o estuário da Lagoa dos Patos, conclui-se que a espécie apresenta reprodução anual, com machos maturando com tamanho menor do que as fêmeas. Na temporada reprodutiva de 2008 nota-se um equilíbrio entre o número de machos e fêmeas, o que não se repetiu na temporada de 2009, talvez pelo alto volume de chuvas registrado durante o período, que pode ter ocasionado a migração de fêmeas para áreas mais externas à saída do estuário. *Callinectes sapidus* é sensível a alterações ambientais, e longos períodos de chuva combinados com outros fatores ambientais como baixas salinidades podem comprometer futuras proles. Ainda com relação à variação na fecundidade e a abundância de fêmeas do siri-azul no estuário da Lagoa dos Patos, e a abundância das fêmeas ovíferas coletadas na área de desova relacionada com parâmetros ambientais, foi encontrada uma correlação positiva entre a fecundidade e a largura de carapaça. A abundância apresentou relação com a temperatura da água. A fecundidade da espécie para o estuário da Lagoa dos Patos parece ficar dentro dos limites encontrados em outros estuários de ocorrência, sugerindo que exista um padrão em seu potencial reprodutivo. A espécie apresenta um período de desova bem marcado durante o período que compreende o final da primavera e todo o verão. Futuros estudos em *Callinectes sapidus* deverão incluir ferramentas moleculares que possam definir a estrutura da população ao longo do gradiente brasileiro de distribuição, como microsatélites. A preferência dos juvenis pelas áreas internas de margem dos estuários torna evidente a preocupação com a proteção destas áreas, a fim de garantir a sustentabilidade do recurso. A proteção do estoque desovante deve ser continuada para todas as classes de tamanho, visto que todas contribuem para as futuras proles.

ABSTRACT

The blue crab *Callinectes sapidus* is an important resource, explored along its occurrence area, by the industrial fisheries, and by the artisanal fleet. The hypotheses tested in this work were: There are genetic differences between crabs that inhabit the two portions of distribution throughout the Americas. Also the hypothesis that recruitment of juveniles responds positively to environmental variables, and that settlement occurs in the internal areas of estuaries. Lastly we tested the hypothesis that reproduction could occur continuously, and that the number of eggs produced per female varies with the size of these. The aim of this work is to identify the population structure of *Callinectes sapidus* on the Western Atlantic with mtDNA, and study reproductive and population structure aspects of *C. sapidus* on the southeast/south of Brazil. Samplings were conducted monthly from May of 2008 to May of 2010. The genetic identification was analyzed based on the sequencing of 650 bp of the Cytochrome oxidase mtDNA region, from samplings along all the occurrence area of the species in Brazil and in the United States. Nucleotide diversity (π) ranged from 0.002 to 0.006 and smaller values were found on the extremes of distribution on each of the population groups (U.S. and Brazil). Haplotype diversity varied from 0.57 to 1.00 and did not follow the same pattern of smaller values close to the limits of distribution. The calculated distances (F_{st}) allow us to infer that can be separated two subpopulations along the distribution area, with the first with individuals from the United States, and the second one with the Brazilian crabs. Regarding the studies on recruitment of *C. sapidus* on the Patos Lagoon estuary and the Tramandaí river estuary the response pattern to the environmental conditions was similar to both estuaries, where the water temperature seems to be determinant to the settlement of juveniles, and there is a preference of juveniles for areas with more organic matter, and significantly more on the margins than in deeper areas. On both estuaries, two recruitment peaks were found, with the first at the beginning of autumn, and the second during winter. These peaks may be related to favorable environmental conditions. The internal areas of the estuary are determinant for the correct settlement of the blue crab cohorts on both estuaries. We also described the reproductive process through the determination of the reproductive period, of the species for the Patos Lagoon estuary, and concluded that *C. sapidus* presents annual reproduction, with

males reaching sexual maturity with smaller size than females. On the 2008 reproductive season there is a balance between number of males and females, but it didn't repeated for the 2009 season, perhaps because the high rainfall volume registered during the period. The species is sensitive to environmental conditions, and long periods of rainfall mixed with other factors like low salinities can compromise future breeds. We also studied the variation in fecundity and female abundance of the blue crab on the Patos Lagoon estuary. A positive correlation between number of eggs and carapace width was found. The abundance showed positive correlation with water temperature. Fecundity of the species in the Patos Lagoon estuary falls within the limits found in other estuaries, suggesting a pattern in the reproductive potential of *C. sapidus*. The species has a spawning season well known to occur during the late spring and summer, and as such it is necessary to protect the entire stock of spawning females, as these individuals allow for recruitment of juveniles during the next breeding season. Future studies in *C. sapidus* must include most accurate molecular tools, to define the population structure along the distribution gradient in Brazil. The preference for juveniles for the margin of the internal areas of the estuaries makes evident the concern with the protection of these areas, in a way of assure the sustainability of the resource. All size classes of the spawning stock should be protected, because they all contribute to future breeds.

INTRODUÇÃO GERAL

Classificação Taxonômica e distribuição do siri-azul *Callinectes sapidus* (Melo, 1996)

Subfilo Crustacea Pennant, 1777

Classe Malacostraca Latreille, 1806

Subclasse Eumalacostraca Grobben 1892

Superordem Eucarida Calman, 1904

Ordem Decapoda Latreille, 1903

Infraordem Brachyura Latreille, 1803

Seção Brachyrhyncha Borradaile, 1907

Superfamília Portunoidea Rafinesque, 1815

Família Portunidae Rafinesque 1815

Gênero *Callinectes* Stimpson, 1860

Callinectes sapidus (Rathbun, 1896)

A Importância mundial e distribuição geográfica

O siri-azul *Callinectes sapidus* é um braquiúro com alta importância ecológica e comercial que habita estuários, baías e lagoas, da área do entre-marés até 90 metros de profundidade. Distribui-se, no Atlântico ocidental em toda a costa leste dos Estados Unidos desde Cape Cod, em Massachusetts até a Flórida, no golfo do México, Antilhas, América Central, Venezuela, então com um hiato em sua distribuição, retornando no estado da Bahia, Brasil e Argentina (Cesar *et. al*, 2003, Williams, 1984), caracterizando um padrão de distribuição Virginiano Disjunto, segundo Santos (2007) (Figura 1). Também ocorre em outros estuários do mundo, no Atlântico Oriental, no Mar do Norte, Mediterrâneo, Mar Adriático, Mar Negro e Indo Pacífico (Japão), provavelmente por transporte por água de lastro (Melo, 1996, Santos, 2007). Historicamente o estuário da baía de Chesapeake nos Estados Unidos suporta uma grande pescaria deste recurso (Kennedy *et al*, 2007). Na região Sudeste/Sul do Brasil ocorre principalmente entre as latitudes de 23°S e 32°S e são encontrados geralmente no interior dos estuários, como na Lagoa dos Patos, no estuário de Tramandaí, e no estuário da Baía de São Francisco (Tavares, 1987). Achados arqueológicos levaram à conclusão de que a espécie já era habitante do sul

do Brasil há pelo menos dois mil anos, o que exclui sua ocorrência por água de lastro (Santos & D’Incao, 2004). A espécie é explorada ao longo da sua área de ocorrência como alimento humano, podendo ter alto valor econômico agregado em sua área de ocorrência (Oesterling, 1984). Das espécies de braquiúros portunídeos exploradas no Brasil, *C. sapidus* é a que concentra a maior parte dos esforços pesqueiros, embora seja, predominantemente, uma pesca considerada artesanal (Severino-Rodrigues *et al.*, 2001, Ferreira, 2007, Mendonça *et al.*, 2010). Declínios recentes no volume de captura levantaram importantes questões sobre o acesso ao recurso, e a proposição de medidas para a recuperação deste, como a criação de períodos de defeso (Mendonça *et al.*, 2010). A portaria que regula a pesca de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos (SUDEPE, 1983), também é utilizada para a regulação da captura da espécie em outros locais, como no estuário do rio Tramandaí. A espécie é frequentemente utilizada como alternativa de captura no período de defeso da pesca de camarão do local, muitas vezes capturada com artes de pesca proibidas (Ferreira, 2007).

A identificação de estoques, populações, e subpopulações

O conceito de estoques é fundamental para o gerenciamento de pescarias (Begg & Waldmann, 1999) Estoques são grupos arbitrários de organismos, grandes o bastante para serem essencialmente auto-reprodutivos, com membros de cada grupo tendo histórias de vida similares (Hillborn & Walters, 1992). Estoques podem se referir a mais de uma espécie, e o correto entendimento de sua estrutura é vital para o desenvolvimento de regulamentações apropriadas (Ricker, 1981).

Populações se referem a indivíduos de mesma espécie que habitam áreas que podem ser contíguas, ou delimitadas, havendo ou não interação entre estes indivíduos. Subpopulações se referem a estas porções delimitadas de indivíduos de mesma espécie, que podem ou não cruzar-se entre si e entre os outros grupos de subpopulações (Benzie, 2000).



Figura 1. Área de distribuição do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) no continente Americano desde Cape Cod (Estados Unidos) até Mar del Plata (Argentina) (área sombreada) (Santos, 2007).

Variações genéticas entre os estoques podem fornecer informações diretas sobre a estrutura dos grupos de uma mesma espécie ao longo de uma área de distribuição. Benzie (2000) demonstrou algumas aplicações importantes de técnicas moleculares para o estudo pesqueiro em camarões peneídeos. Identificação da variabilidade genética, estrutura da população e isolamento reprodutivo entre os grupos podem ser citados.

Variações fenotípicas podem ser utilizadas para identificação de estruturas populacionais, embora não possam fornecer evidências diretas de isolamento genético. Diferenças nas condições ambientais como temperatura e salinidade podem

gerar variações fenotípicas, mesmo sem uma contundente diferenciação genotípica (Swain & Foote, 1999).

Entre os métodos mais utilizados para investigação da estrutura populacional de espécies de crustáceos economicamente importantes está o sequenciamento do DNA mitocondrial (mtDNA) (Benzie, 2000). O mtDNA é uma molécula citoplasmática circular de herança materna, com aproximadamente 16000 a 20000 pares de bases. Duas regiões do mtDNA são utilizadas como marcadores com distintas funções em estudos de biologia molecular: a região controle (d-loop) e a citocromo oxidase (COI). A região controle é utilizada para investigar a estrutura populacional de crustáceos, e a citocromo oxidase é utilizada para investigações de identificação de espécies (Caccone *et al.*, 1996, Dumont *et al.* 2009).

O ciclo de vida

O ciclo de vida do siri-azul é um processo complexo que demanda coordenação precisa de processos fisiológicos, comportamentais e ecológicos para garantir o sucesso reprodutivo. Adultos de *Callinectes sapidus* exibem alta tolerância a uma ampla gama de condições ambientais e podem explorar habitats desde a água doce até áreas de toda a plataforma continental. Entretanto, estágios zoeais retêm as características estenotermais e estenohalinas de seus ancestrais, explicitando a dependência destes à água salgada (Epifanio, 2007). A cópula é controlada pela muda da puberdade, que é o momento em que os indivíduos passam da condição de juvenil para adulto (Hartnoll, 1969). O processo reprodutivo tem início nas zonas internas dos estuários, no final do inverno, quando ocorre a cópula. Esta tem lugar no momento em que as fêmeas estão em ecdise, quando apresentam o corpo não calcificado, o que facilita a introdução dos gonópodos do macho nos orifícios esternais das fêmeas, para a transferência dos espermátóforos. Neste momento as fêmeas também encontram-se mais vulneráveis à predação (Bliss, 1982). Os machos transferem esperma para as fêmeas, composto de fluido seminal, esperma, e o tampão que previne que outro macho insira seus espermátóforos, caso consiga libertar a fêmea do abraço copulatório. A quantidade destes componentes pode variar, especialmente se o macho tiver recentemente copulado com outra fêmea (Wolcott *et al.*, 2005). Entretanto, o fato de um macho ter copulado recentemente parece não afetar sua habilidade em conseguir outra cópula bem-sucedida, devido ao tempo de duração da guarda e do abraço de cópula (Kendall & Wolcott, 1999). Adicionalmente, o tamanho do macho

também não influencia diretamente na quantidade de esperma recebida pelas fêmeas (Kendall *et al.*, 2002). As fêmeas podem reter parte do conteúdo do espermatóforo para uma nova fecundação, no segundo ano após a cópula. As fêmeas inseminadas se dirigem então para a parte externa do estuário enquanto desenvolvem sua gônada, e realizam a postura dos ovos, que ficam aderidos nos pleópodos enquanto se desenvolvem até a eclosão (Aguilar *et al.*, 2005). Os machos se mantêm nas zonas internas do estuário, com tendência a migrar inclusive para zonas do alto-estuário, onde a salinidade é mais baixa (Buchanan & Stoner, 1988). Os indivíduos sofrem cerca de 20 ecdises durante sua vida, podendo alcançar limites estimados de vida de 3,5 anos (Rodrigues, 2006). Em águas tropicais, a espécie pode reproduzir-se durante todo o ano (Williams, 1974), enquanto que na Lagoa dos Patos a reprodução ocorre durante o verão, e é limitada pela temperatura (Rodrigues *et al.*, *in press.*), visto que temperaturas abaixo de 20° impedem a correta eclosão dos ovos e o desenvolvimento dos estádios larvais.

Sandoz & Rogers (1942) determinaram que com salinidades em torno de 20 as eclosões dos ovos são chamadas de “normais”, enquanto que em salinidades menores a porcentagem de eclosão diminui consideravelmente. Vieira (2006) observa ainda que salinidades superiores a 15 possam agir como um gatilho para a desova, possibilitando que essa ocorra mesmo no interior dos estuários. A fecundidade, em crustáceos, geralmente é definida como o número de ovos produzidos por uma fêmea, em uma estação de desova. O diâmetro dos ovos é o principal responsável pela variação da fecundidade entre os crustáceos de tamanho equivalente (Hines, 1988).

As larvas eclodem dos ovos em oceano aberto, onde passam por 7 ou 8 estágios de zoea, até que mudam para o estágio de pós-larva, ou megalopa (Costlow & Bookhout, 1959). Estas retornam ao estuário por transporte por seleção de corrente (selective tidal-stream) (Montú *et al.*, 1998, Barutot, *et al.*, 2001, Tankersley & Forward, 2007). No estuário da Lagoa dos Patos, as megalopas também entram com as cunhas salinas, que se formam a partir de ventos contrários à vazante (Garcia, 1998).

Segundo Epifanio (1988), as larvas de *C. sapidus* localizam-se próximas da superfície. A seleção de correntes e consequente transporte das larvas de volta ao estuário ocorre durante a noite, onde as larvas iniciam natação vertical até encontrar a corrente de retorno ao estuário, identificada por indicadores sensitivos (Sensory Cues - Forward *et al.*, 2003). Estas larvas então são transportadas para o interior dos

estuários. Quando a corrente de retorno ao estuário cessa, as larvas assentam no local em que estiverem, para esperar a próxima noite. A descida é iniciada pela diminuição da turbulência no final da maré. Megalopas localizam áreas de berçário por natação para dentro do estuário em resposta a odores da vegetação aquática. Entretanto, as larvas conseguem discriminar entre micro habitats, e evitar habitats de assentamento adversos, porque a orientação para as áreas de berçário pode ser revertida por odores liberados por predadores e amônia (Forward *et al.*, 2003, Tankersley & Forward, 2007).

A partir da metamorfose para juvenis, passam a habitar o a porção mais interna dos estuários, alimentando-se de detritos, moluscos, sementes, talos de macrófitas e outros crustáceos como isópodes, ostrácodes e decápodes, principalmente, nas pradarias de macroalgas, que fornecem o abrigo e o alimento necessários ao seu desenvolvimento (Epifanio *et al.*, 2003, Oliveira *et al.*, 2006).

Com relação à muda pubertal, sua natureza terminal é bem aceita e acredita-se que as fêmeas de *Callinectes sapidus* não sofrem mais ecdises após a cópula, exceto quando estimuladas pela ablação do pedúnculo ocular (Havens & McConaughy, 1990). Poucos registros de muda em fêmeas adultas existem e sugerem que quando isto ocorre, geralmente a fêmea morre, não completando o processo (Olmi, 1984). Entretanto, no estuário de Chesapeake bay nos Estados Unidos, uma pequena porcentagem 11% das fêmeas adultas tem membros regenerados (limb buds) sugerindo potencial para uma muda adicional. Um mecanismo para o controle da muda terminal (anecdise) em outros siris e caranguejos (especialmente os Majidea) é a degeneração do órgão Y, que produz a ecdisona, hormônio responsável por iniciar o processo de muda. Fêmeas adultas tem baixas concentrações de ecdisona no sangue após a muda terminal, mas altas concentrações nos ovários durante a vitelogênese, sugerindo que existe uma ligação fisiológica entre a muda terminal e o desenvolvimento ovariano. Outro mecanismo para o controle da anecdise terminal é a produção de um hormônio inibidor da muda que age no órgão Y para inibir a produção de ecdisona. O órgão X está localizado nos pedúnculos oculares, levando a hipótese de que algumas fêmeas adultas entrem em diapausa ao invés de uma anecdise terminal. Comparado com machos do mesmo instar de tamanho, fêmeas no período de anecdise crescem mais em largura de carapaça do que em comprimento, produzindo espinhos relativamente mais longos. Uma vantagem desta mudança

alométrica pode ser o aumento do volume interno para armazenar o ovário em desenvolvimento (Jivoff *et al.*, 2007).

Apesar do ciclo de vida estar bem documentado, a fase após a desova carece de informações. O recrutamento dos juvenis é pouco conhecido, sendo inclusive objeto de bastante controvérsia entre os pesquisadores, quanto ao retorno dos organismos ao local em que viveram seus pais, ou migrando para outras zonas (Lee, 1999, Natunewicz *et al.*, 2001, Vieira, 2006).

Para o entendimento da dinâmica reprodutiva da espécie é necessário que sejam amostradas as etapas críticas da vida do animal, desde a fase de megalopa até o assentamento juvenil e posterior chegada à idade adulta. O caminho percorrido pelas fêmeas após a desova também é pouco conhecido. As espécies que exportam suas larvas para a região costeira liberam suas zoés durante a maré vazante, ou então, a fêmea migra para a boca do estuário para liberar as larvas facilitando, assim, a dispersão rápida para o oceano (Zeng & Naylor, 1996; Queiroga *et al.*, 1997).

Entender o papel do movimento dos organismos na determinação da história de vida é necessário para um correto manejo de espécies exploradas, evidenciando a importância do conhecimento completo do ciclo de vida da espécie. Por isso estudos como a presente tese tornam-se uma ferramenta muito útil para futuras ações e planos de manejo.

OBJETIVOS E ESTRUTURA DA TESE

O presente trabalho reúne estudos relativos a diferentes aspectos da biologia do siri-azul *Callinectes sapidus* no Oceano Atlântico Oeste, com a intenção de aprimorar o conhecimento sobre sua estrutura populacional ao longo da área de ocorrência, recrutamento em dois estuários da área de ocorrência, e aspectos reprodutivos relevantes para o correto manejo pesqueiro da espécie.

Este trabalho está dividido em quatro capítulos, cada um deles no formato de artigo científico submetidos para publicação. Os resultados desses artigos encontram-se resumidos nos capítulos de 1 a 4 (escritos em português) e em sua versão completa (escritos em português e inglês) nos anexos correspondentes (Anexos I a IV). Procurou-se, na medida do possível, abordar questões em três esferas: Global, Regional e Local.

No item metodologia geral encontra-se a descrição da obtenção de amostras utilizadas no presente estudo, enquanto que a metodologia utilizada nas análises foi detalhada em cada um dos anexos (artigos científicos submetidos para publicação).

Os objetivos de cada capítulo são:

CAPÍTULO 1

Título em português: **Duas distintas subpopulações de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA: PORTUNIDAE) no Atlântico Ocidental.**

Título em inglês: Two distinct subpopulations of *Callinectes sapidus* (Rathbun 1896) (DECAPODA: PORTUNIDAE) found on the Western Atlantic.

Na esfera global, o primeiro capítulo procurou estabelecer se a espécie *Callinectes sapidus* encontrada no litoral do Brasil é a mesma encontrada no litoral norte-americano.

Objetivo geral

Identificar a estrutura populacional de *Callinectes sapidus* ao longo da área de distribuição no Oceano Atlântico Sul/Sudeste, utilizando como marcador a região da Subunidade 1 da Citocromo Oxidase, incluída no DNA mitocondrial.

Objetivos específicos

- a) Identificar a estruturação das populações ao longo da área de distribuição.

- b) Investigar o fluxo genético entre elas através de cálculos de medidas de distâncias genéticas (F_{st}).
- c) Avaliar a variabilidade nucleotídica e haplotípica em cada uma destas populações.
- d) Identificar a ocorrência de haplótipos compartilhados entre as populações analisadas.
- e) Estimar o grau de estabilidade das populações com base em uma análise demográfica.

CAPÍTULO 2

Título: “Distribuição espacial e abundância de juvenis de *Callinectes sapidus* no complexo estuarino lagunar Tramandaí-Armazém e na região estuarina da Lagoa dos Patos.”

Na esfera regional, o segundo capítulo intitulado: “Distribuição espacial e abundância de juvenis de *Callinectes sapidus* no complexo estuarino lagunar Tramandaí-Armazém e na região estuarina da Lagoa dos Patos.” procura elucidar questões referentes ao recrutamento de juvenis nos estuários de Tramandaí e da Lagoa dos Patos.

Objetivo geral

Estabelecer os padrões de assentamento de megalopas e juvenis de *C. sapidus* nos estuários do rio Tramandaí e da Lagoa dos Patos.

Objetivos específicos

- a) estabelecer os locais de maior abundância de megalopas e juvenis em ambos os estuários;
- b) comparar a abundância de megalopas e juvenis por estratos de profundidade;
- c) relacionar a abundância total de siris com os fatores ambientais;

CAPÍTULO 3

Título: “Maturação Sexual e Relações Gonadais de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA:PORTUNIDAE) no estuário da Lagoa dos Patos, RS.

Na esfera local, o terceiro capítulo intitulado: “Maturação Sexual e Relações Gonadais de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA:PORTUNIDAE) no

estuário da Lagoa dos Patos, RS.” pretende tratar de questões referentes ao estado reprodutivo do estoque da espécie no estuário da Lagoa dos Patos, nas temporadas reprodutivas de 2008/2009 e 2009/2010.

Objetivo geral

Investigar a dinâmica reprodutiva de *C. sapidus* na Lagoa dos Patos área adjacente nas temporadas reprodutivas de 2008/2009 e 2009/2010.

Objetivos específicos

- a) Estimar o tamanho e a idade de primeira maturação de machos e fêmeas de siri-azul;
- b) Estimar a relação gonadossomática das fêmeas de siri-azul;
- c) Estimar o fator de condição das fêmeas de siri-azul;
- d) Classificar o estágio de desenvolvimento das gônadas das fêmeas de siri-azul segundo sua coloração;
- e) Estabelecer a relação entre machos e fêmeas durante duas temporadas reprodutivas

CAPÍTULO 4

Título em português **“Variação da fecundidade e abundância de fêmeas do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA, BRACHYURA, PORTUNIDAE) no estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil”**

Título em inglês: “Fecundity variation and abundance of females of Blue Crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA, BRACHYURA, PORTUNIDAE) on the Patos Lagoon estuary, RS, Brazil”

Ainda na esfera local, o quarto capítulo intitulado: “Variação da fecundidade e abundância de fêmeas do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA, BRACHYURA, PORTUNIDAE) no estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil” pretende tratar de questões referentes ao estoque de fêmeas ovadas de siri-azul no estuário da Lagoa dos Patos, para uma melhor compreensão do processo de desova.

Objetivo geral

Estabelecer as relações entre tamanho de fêmeas de *C. sapidus* e seu potencial reprodutivo.

Objetivos específicos

- a) Obter o número de ovos produzidos em média por fêmea de *C. sapidus*;
- b) Estabelecer relações entre medidas (largura de carapaça, largura de abdômen, peso úmido, peso de ovos e número de ovos) para verificar a existência de relações;
- c) Estimar a abundância de fêmeas na área de desova, na área adjacente ao estuário da Lagoa dos Patos;
- d) Relacionar a abundância de fêmeas com fatores ambientais, para verificar quais teriam maior interação.

METODOLOGIA GERAL

O Local de Estudo

A plataforma *continental* do sul do Brasil encontra-se sob a influência da Convergência Subtropical (CST), com seus marcados deslocamentos latitudinais, que caracteriza, a região como uma zona de transição biogeográfica entre as grandes áreas neríticas da Patagônia e do Brasil Tropical. A dominância sazonal de diferentes massas de água sobre a plataforma e o talude continental molda a composição e a abundância das espécies, bem como a estrutura, a distribuição das comunidades e suas interações tróficas e sua produção biológica (Castello *et al.*, 1997). Na plataforma continental as características físicas e químicas das águas são resultado da interação entre as massas de água de origem sub-antártica da Corrente das Malvinas que flui para o Norte, das águas tropicais da Corrente do Brasil que fluem para o Sul e das águas de origem continental dos sistemas de descarga provenientes dos rios do Rio Grande do Sul (Castello & Möller, 1997). Na costa do Rio Grande do Sul, o gradiente sazonal de temperatura, o sistema de correntes marinhas e eólicas, a proximidade com a Convergência Subtropical e a influência do Sistema Patos-Mirim determinam características que a classificam como uma zona biogeográfica marinha de transição subtropical (Klein, 1997). As águas da margem continental sul do Brasil são influenciadas pela Convergência Subtropical (CST), que é formada pela Corrente do Brasil (CB) que flui para o sul, transportando Água Tropical, com temperatura média superior a 20° C e salinidade superior a 36. Também a corrente das Malvinas, fluindo para o norte em seu ramo costeiro, transportando água subantártica, com temperaturas entre 4 e 15° C, salinidade de 33 A corrente das Malvinas leva água fria da Argentina para o Brasil, enquanto que a corrente do Brasil traz água quente do equador para as maiores latitudes.

Caracterização dos estuários brasileiros que foram efetivamente amostrados durante os estudos de genética, reprodução e recrutamento

Estuários são ecossistemas de elevada importância biológica e sócio-econômica. Sua abundante e diversificada comunidade e capacidade de renovação periódica de suas águas faz com que ocorram intensas transformações da matéria orgânica,

tornando esses locais importantes elos de ligação entre os ecossistemas fluvial e marinho (Pereira Filho *et al.*, 2003).

Os sistemas estuarinos são os principais fornecedores de nutrientes para a região costeira, pois recebem e concentram todo o material originado de sua bacia de drenagem e podem vir a receber aportes significativos por ação antrópica. Todo esse aporte de nutrientes (matéria prima imprescindível para a produção primária) coloca os estuários entre os sistemas mais produtivos do mundo, com altas taxas de produção primária e teores de biomassa autótrofa e heterótrofa (Pereira Filho *et al.*, 2003).

O estuário da Lagoa dos Patos

A Lagoa dos Patos possui 250 km de extensão e até 60 km de largura, ocupa uma área de, aproximadamente, 10.360 km², e recebe grande contribuição de sedimentos de fundo trazidos pelos rios. A área estuarial da laguna representa cerca de 1/10 da área total da Lagoa dos Patos (900 km²), situa-se entre as latitudes de 31° 41'N; 32° 12'S e longitudes de 51°49'E e 52°15W (Calliari, 1980). As flutuações de salinidade em seu estuário estão associadas aos ventos do quadrante Sul que promovem a penetração de águas marinhas (cunha salina) e a pluviometria na sua bacia de drenagem que é responsável por grande aporte de águas continentais (Rosa-Filho & Bemvenuti, 1998). Os ventos longitudinais são considerados como a principal força de movimento, gerando um mecanismo de oscilação set-up/set-down. O período dessas oscilações coincide com as passagens de sistemas frontais por esta região. Os efeitos de maré são importantes somente perto da saída para o oceano, sendo fortemente reduzidos no interior da laguna. Especula-se que a descarga de água doce seja a responsável por variações no nível da água em regimes sazonais, e em um grau menor na escala de tempo de 8-15 dias (Möller *et al.*, 1991). A Lagoa dos Patos é do tipo “estrangulada”, onde as marés astronômicas são de importância reduzida e a circulação é movida pelo vento e descarga de água doce (Kjerfve, 1986). Grande parte dos baixios e áreas rasas (menores de 1,5m) próximas às margens do estuário da Lagoa dos Patos, com circulação reduzida e sedimento arenoso é colonizada por plantas superiores submersas, sendo que a principal espécie colonizadora é a fanerógama *Ruppia maritima* (Seeliger, 1997).

O estuário de Tramandaí.

O complexo estuarino Tramandaí-Armazém-Custódia, segundo maior do Rio Grande do Sul é composto pelas lagoas de Tramandaí e Armazém, as quais constituem um corpo lagunar com 18,4 km², sendo a superfície da Laguna de Tramandaí de 12,86 km² e da Laguna Armazém 5,54 km². A profundidade máxima das duas lagoas é de 1,5m. O estuário dá saída às águas da vertente oceânica da Serra Geral, ao norte, reunidas em numerosas lagoas adjacentes (Rambo *apud*. Ramos, 2005). Na lagoa de Tramandaí desembocam os braços norte e sul do Rio Tramandaí. Na lagoa Armazém, chegam dois cursos d'água: Rio do Camarão, que faz a ligação das Custódias à Laguna Armazém, e um outro, na região do Saco do Ratão. As lagoas comunicam-se com o mar através de um canal de 1,6 km de comprimento, por onde escoam a água doce proveniente dos canais que nelas desembocam e por onde entra a água do mar em condições de enchente (Zeltzer, 1976). Este complexo sofre forte influência dos ventos de NE, não só pela criação de correntes nas lagoas (que produzem o efeito de “esvaziamento” ou “enchimento”), mas também pela diminuição da umidade do ar que aumenta a evaporação, elevando a salinidade (Corsan, 1992; Tomazzelli *apud*. Ramos, 2005). Os efeitos de “esvaziamento” e “enchimento” alteram a profundidade média, que varia de 1,10 m nas áreas rasas a 2 m nas áreas de canal (Rosa Filho & Bemvenuti, 1998; Silva *apud* Ramos, 2005).

Fontes de dados

Para a realização desta tese, foram obtidas amostras de diferentes fontes, em pontos pré-determinados segundo seu potencial para comportarem populações da espécie ao longo do litoral do Continente Americano, incluindo cruzeiros a bordo de duas embarcações da frota oceanográfica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG): A Lancha Oceanográfica Larus e o bote Moralles. Também coletas a bordo do bote do Centro de estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos (Ceclimar) em Tramandaí, e compra de material proveniente das pescarias artesanais, nos locais onde não foi possível realizar embarques.

As amostragens para as análises de fecundidade foram realizadas com a LOc. Larus dentro do estuário da Lagoa dos Patos, e na região adjacente, nos anos de 2008 a 2010. Esta embarcação possui comprimento total de 15,3 metros, calado máximo de 1,4 metros e dois motores centrais de 240 hp's cada. A rede de portas utilizada para as

coletas possui tamanho de malha de 13 mm entre nós opostos. O tempo de arrasto em cada uma das estações foi padronizado em 5 minutos. Foram escolhidos três transects na região adjacente à Barra de Rio Grande, com estações nas isóbatas de 5, 10 e 20 metros de profundidade (Anexo 3, Figura 1). Também seis pontos de coleta no interior do estuário, de modo a contemplar toda a extensão deste, nas profundidades de 2 a 5 metros.

As coletas para o estudo de recrutamento foram realizadas com o bote Moralles e com o bote do CECLIMAR nas margens do estuário da Lagoa dos Patos, e no estuário do rio Tramandaí. A rede utilizada foi do tipo Renfro (Renfro, 1969), que é formada por uma panagem com malhas de 5mm entre nós opostos, de um ensacador e copo coletor com malhas de 500 μ . Esta rede tem uma tralha inferior rígida que mantém invariável sua abertura de 1,8m. Além das amostragens biológicas, também foram coletados dados ambientais como temperatura e salinidade, e foram obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET www.inmet.gov.br) séries temporais de temperatura do ar, direção e velocidade do vento e precipitação para os estuários de Tramandaí e Lagoa dos Patos.

Para as análises moleculares indivíduos de *Callinectes sapidus* foram obtidos por meio de compra direta dos pescadores de amostras frescas, nos locais onde não puderam ser obtidas por amostragem (estuários de Itajaí e Bertioga no Brasil, e estuários de Pamlico Sound e de Chesapeake Bay, nos Estados Unidos).

Processamento das amostragens biológicas

Todas as amostras foram levadas integralmente ao laboratório para análise, não necessitando de quarteamento. As medidas tomadas foram a largura de carapaça ao nível do maior espinho lateral (LC1), a largura de carapaça ao nível do primeiro par de espinhos ântero-laterais (LC2) e a largura do abdômen de fêmeas imaturas e maduras (LA) (Figura 2). Para as análises genéticas foi retirado tecido dos pereiópodos, fixado em álcool 95% e armazenadas a 4° C até o processamento total.

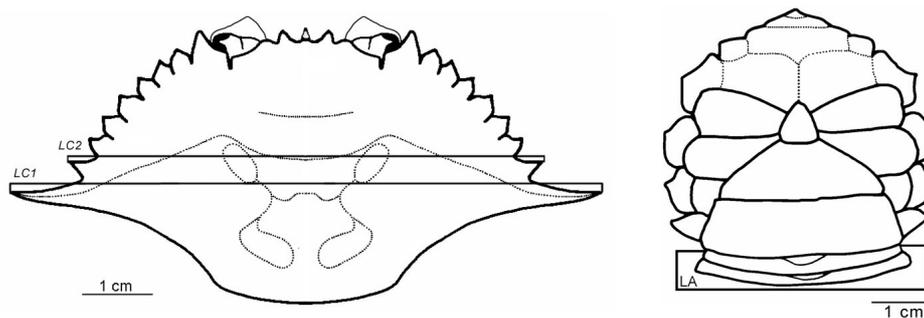


Figura 2. *Callinectes sapidus* e as medidas utilizadas para a análise da estrutura populacional e análises de fecundidade, incluindo as duas medidas de largura de carapaça (LC1 e LC2) e a largura de abdômen (LA) (Modificado de Santos, 2007).

CAPÍTULO 1

SEPARAÇÃO DE DUAS SUBPOPULAÇÕES DO SIRI-AZUL *CALLINECTES SAPIDUS*, (RATHBUN, 1896), (DECAPODA PORTUNIDAE) NO ATLÂNTICO OESTE, PELA ANÁLISE DA CITOCROMO OXIDASE

Artigo a ser submetido para revista internacional:

Rodrigues, M.A., Dumont, L.F.C., Santos, C.R.M & D’Incao, F. **Two distinct subpopulations of *Callinectes sapidus* (Rathbun 1896) (DECAPODA: PORTUNIDAE) found on the Western Atlantic by the analysis of the COI subunit.**

A forma integral deste artigo encontra-se no anexo I

Resumo

O siri-azul *Callinectes sapidus* é um braquiúro explorado comercialmente nos locais em que ocorre, se distribui na parte Norte do Atlântico Oeste desde a Venezuela até a Nova Escócia no Canadá, na parte Sul do Atlântico Oeste, desde São Paulo no Brasil até Mar del Plata na Argentina, onde a ocorrência é ocasional. Apesar de estar presente nos hemisférios Norte e Sul, um hiato na ocorrência de *Callinectes sapidus* nas latitudes equatoriais levanta a hipótese de que a separação geográfica destas populações possa se refletir em um isolamento genético. A estrutura da população foi investigada pelo sequenciamento de 650pb da região da subunidade 1 da Citocromo oxidase (COI - HCO/LCO). Cento e dezessete sequências de sete diferentes locais foram analisadas. A diversidade nucleotídica (π) variou de 0,002 a 0,006 e os menores valores foram encontrados nos extremos de distribuição em cada um dos grupos de populações (EUA e BR). Ocorreram 3 haplótipos compartilhados entre CB e PS e três haplótipos entre os quatro locais amostrados no Brasil (BT, IT, TD, e LP). A diversidade haplotípica variou de 0,57 a 1,00 e não seguiu o mesmo padrão de menores valores perto dos limites de distribuição. A investigação baseada na citocromo oxidase sugere que existe uma estruturação na população de *Callinectes sapidus* ao longo da área de ocorrência ao longo do Atlântico Oeste. As distâncias calculadas (F_{st}) mostraram que podem ser separadas duas subpopulações ao longo da área de distribuição, uma compreendendo indivíduos dos Estados Unidos, e outra compreendendo os indivíduos do Brasil. A análise demográfica sugere que os grupos localizados perto dos limites de distribuição passaram por fenômenos importantes de retração ou expansão, tanto nos hemisférios Norte e Sul.

CAPÍTULO 2

DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E ABUNDÂNCIA DE JUVENIS DE *CALLINECTES*
SAPIDUS NO COMPLEXO ESTUARINO LAGUNAR TRAMANDAÍ-ARMAZÉM
E NA REGIÃO ESTUARINA DA LAGOA DOS PATOS.

Artigo a ser submetido para periódico Nacional:

Rodrigues, M.A. & D’Incao, F. Distribuição espacial e abundância de juvenis de *Callinectes sapidus* no complexo estuarino lagunar Tramandaí-Armazém e na região estuarina da Lagoa dos Patos.

A forma integral deste artigo encontra-se no anexo II

Resumo

O objetivo do trabalho foi determinar áreas de concentração e preferência de juvenis do siri-azul *Callinectes sapidus* nos estuários do Rio Tramandaí e da Lagoa dos Patos. Para isso, foram realizadas amostras mensais de novembro de 2008 a abril de 2010, com rede de renfro em duas profundidades em quatro pontos em cada estuário, juntamente com coleta de dados ambientais salinidade e temperatura. Também foram obtidos dados de precipitação e temperatura atmosférica do INMET. As amostras foram analisadas por regressão múltipla, para verificação de relação entre a CPUA e os dados ambientais, e ANOVA de medidas repetidas para estimar a relação entre a abundância por coorte de tamanho as profundidades e os pontos de coleta. O padrão de resposta às variáveis ambientais foi semelhante para ambos os estuários, onde a temperatura parece ser determinante para o assentamento dos juvenis, e estes parecem se concentrar mais nos pontos com maior quantidade de detritos, e significativamente, mais nas margens do que nas áreas mais profundas. Em ambos os estuários, foram encontrados dois picos de entrada de indivíduos, com o primeiro ocorrendo no início do outono, e o segundo durante o inverno. Estes picos podem estar relacionados a aumentos de temperatura fora de época. As áreas internas do estuário são determinantes para o correto assentamento das coortes de siri-azul nos dois estuários, tornando evidente a preocupação por sua proteção.

Palavras-Chave: siri-azul, *Callinectes sapidus*, recrutamento, estuário de Tramandaí, estuário da Lagoa dos Patos.

CAPÍTULO 3

MATURAÇÃO SEXUAL E RELAÇÕES GONADAIS DE *CALLINECTES SAPIDUS* (RATHBUN, 1896) (DECAPODA:PORTUNIDAE) NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS, RS.

Artigo a ser submetido para periódico Nacional:

Rodrigues, M.A. & D’Incao, F. Maturação Sexual e Relações Gonadais de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA:PORTUNIDAE) no estuário da Lagoa dos Patos, RS.

A forma integral deste artigo encontra-se no anexo III

Resumo

Neste trabalho foram determinados o estado reprodutivo e definidas as relações gonadais de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), no estuário e área oceânica adjacente da Lagoa dos Patos, RS, a partir de dados de captura por unidade de esforço e fecundidade. São determinados a relação gonadossomática, o estágio de maturação gonadal e a relação sazonal entre machos e fêmeas, a fim de verificar possíveis relações com os parâmetros ambientais. Foram realizadas coletas mensais entre abril de 2008 e abril de 2010. Os animais coletados foram levados para o laboratório para biometria e análise do período reprodutivo. Foram coletados 1802 indivíduos. O tamanho de primeira maturação (LC_{50}) do siri-azul foi estimado em 108 mm para machos e 115 mm de largura de carapaça para fêmeas. Houve um aumento na relação gonadossomática durante os meses de inverno, e uma diminuição durante os meses de verão. A relação gonadal permite inferir que o período de cópula e desenvolvimento gonadal está delimitado entre o inverno e a primavera. Pela proporção dos estágios de desenvolvimento das gônadas, a maior parte das fêmeas do início do inverno se apresenta com a gônada imatura, enquanto que no verão, a maioria das fêmeas analisadas possuía gônada em repouso, indicando desova. A espécie apresenta reprodução anual, com machos maturando com tamanho menor do que as fêmeas. Na temporada reprodutiva de 2008 nota-se um equilíbrio entre o número de machos e fêmeas no interior do estuário, o que não se repetiu na temporada de 2009, com diminuição do número de fêmeas, talvez pelo alto volume de chuvas registrado durante o período causando a migração de fêmeas em busca de salinidades mais elevadas para desova. *Callinectes sapidus* é sensível a alterações ambientais, e altos períodos de chuva combinados com outros fatores ambientais podem comprometer o estoque.

Palavras-Chave: siri-azul, *Callinectes sapidus*, reprodução, índices gonadais, estuário da Lagoa dos Patos.

CAPÍTULO 4

FECUNDITY VARIATION AND ABUNDANCE OF FEMALES OF BLUE CRAB
CALLINECTES SAPIDUS (RATHBUN, 1896) (DECAPODA, BRACHYURA,
PORTUNIDAE) ON THE PATOS LAGOON ESTUARY, RS, BRAZIL

Artigo submetido para revista Nacional:

Rodrigues, M.A. Heberle, M.F. & D’Incao, F. Fecundity variation and abundance of females of Blue Crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (DECAPODA, BRACHYURA, PORTUNIDAE) on the Patos Lagoon estuary, RS, Brazil. Revista Atlântica. (*in press.*).

A forma integral deste artigo encontra-se no anexo IV

Resumo

Neste trabalho foram estudadas a variação na fecundidade e a abundância de fêmeas do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) na área de desova, próximo à saída do estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil. Foram realizadas coletas junto à barra da Lagoa dos Patos entre novembro de 2008 e outubro de 2009. Os ovos das fêmeas foram retirados, pesados, contados e relacionados com as medidas morfométricas. Também foi relacionada a abundância das fêmeas ovígeras coletadas na área de desova com parâmetros ambientais. A fecundidade variou de 152.799 a 2.573.576 ovos por fêmea, e foi encontrada uma correlação linear positiva entre a fecundidade e a largura de carapaça. Foram encontradas fêmeas ovígeras de novembro de 2008 a maio de 2009, e em outubro de 2009. A fecundidade da espécie para o estuário da Lagoa dos Patos parece ficar dentro dos limites encontrados em outros estuários de ocorrência, sugerindo que exista um padrão em seu potencial reprodutivo. O siri-azul, no estuário apresenta um período de desova bem marcado durante o período que compreende o final da primavera e todo o verão. Faz-se necessária a proteção do estoque de fêmeas com potencial para desova no estuário da Lagoa dos Patos, visto que delas depende o recrutamento da espécie na temporada reprodutiva seguinte.

Palavras-chave: Decapoda, Portunidae, *Callinectes sapidus*, fecundidade, abundância.

DISCUSSÃO GERAL

As diferenças na diversidade haplotípica indicam que as subpopulações de *C. sapidus* que habitam o hemisfério Norte e os que habitam o hemisfério Sul sejam distintas.

A identificação de estoques de *Callinectes sapidus* ao longo da área de distribuição no Brasil sugere que as populações que habitam os extremos de distribuição (Populações de São Paulo e Rio Grande do Sul) apresentam maior instabilidade genética, devendo este fato ser levado em conta quando da formulação de planos de manejo e de avaliação de estoques. A temperatura pode atuar como uma barreira para a distribuição da população nos limites do Brasil, como foi provado para o aparecimento de fêmeas ovígeras no estuário da Lagoa dos Patos, bem como para o recrutamento dos juvenis (Anexo III, Rodrigues *et al.*, *in press.*).

O uso de marcadores genéticos como a região controle do mtDNA e o marcador nuclear 18s, além do uso de microsatélites, podem fornecer dados importantes para o entendimento dos processos de estruturação populacional da espécie, ao longo do gradiente de distribuição no Brasil, o que ainda não foi feito.

Os juvenis de *C. sapidus* assentam nas margens das áreas mais internas dos estuários de Tramandaí e Lagoa dos Patos, ficando longe das áreas com maior dinâmica. A proteção destas áreas é fundamental para a manutenção do estoque nestas áreas, e esforços devem ser feitos a fim de evitar a degradação destas áreas.

Os adultos de *C. sapidus* apresentam reprodução anual, com machos maturando com tamanho menor do que fêmeas. A flutuação na proporção sexual nas temporadas reprodutivas de 2008/09 e 2009/10 reflete a necessidade da sincronização do processo reprodutivo com os fatores ambientais, visto que deles depende a entrada de zoeas e megalopas nos estuários.

Tanto juvenis quanto fêmeas de *C. sapidus* na área de ocorrência se relacionam positivamente com a temperatura, e o número de ovos produzido varia com o tamanho destas, com fêmeas maiores produzindo maior número de ovos.

A proteção da espécie deve passar pela manutenção das zonas de desova, bem como das zonas de berçário, tão importantes para o correto assentamento e futuro recrutamento da espécie.

CONCLUSÕES GERAIS

- Foram encontradas diferenças que indicam que a subpopulação de *Callinectes sapidus* que habita a área de distribuição nos Estados Unidos não seja a mesma que habita a área do Brasil.
- As diferenças encontradas estão a nível molecular, e ainda não se manifestaram na morfologia.
- Os juvenis de *C. sapidus* necessitam de temperaturas mais altas para realizar o assentamento, o que pode fazer com que esse parâmetro atue como limitador para processos de reprodução contínua nos estuários da Lagoa dos Patos e de Tramandaí.
- Os locais de assentamento preferencial para *C. sapidus* nos estuários da Lagoa dos Patos e Tramandaí são as margens do interior dos estuários, preferencialmente áreas que sofrem menores impactos da dinâmica de movimentação das águas do estuário e com maior disponibilidade de alimento.
- Foram encontrados dois picos de entrada de juvenis nos estuários da Lagoa dos Patos e Tramandaí, um no verão e outro no inverno, que podem ser oriundos de duas desovas, a primeira no início da temporada reprodutiva, e a segunda no final.
- O tamanho médio de primeira maturação foi estimado em 108 e 115 mm de largura de carapaça para machos e fêmeas, respectivamente, atingidos com 8,8 meses para machos e 10,6 meses para fêmeas no estuário da Lagoa dos Patos.
- Os valores encontrados para a relação gonadossomática e o fator de condição gonadal no estuário da Lagoa dos Patos foram altos durante os meses de inverno, indicando o período em que as fêmeas estão desenvolvendo as gônadas para processos reprodutivos.
- A fecundidade das fêmeas de *C. sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos variou de 152.799 a 2.573.576 ovos.
- Existe uma correlação positiva entre o número de ovos produzidos por fêmea e a largura de carapaça.
- Foram encontradas, no estuário da Lagoa dos Patos, fêmeas ovígeras de novembro de 2008 a maio de 2009, e novamente a partir de outubro de 2009, indicando que a desova não ocorre de forma contínua.

BIBLIOGRAFIA

-
- Aguilar R., Hines A.H., Wolcott T.G., Wolcott D.L., Kramer M.A. & Lipcius R.N., 2005. The timing and route of movement and migration of post-copulatory female blue crabs, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) from the upper Chesapeake Bay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 319:117–128.
- Barutot, R. A.; Vieira, R. R. R. & Rieger. P. J., 2001. Desenvolvimento juvenil de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Crustacea: Decapoda: Portunidae), em laboratório, a partir de megalopas coletadas no plâncton. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia PUCRS, Série Zoológica*, Porto Alegre, 14(1): 23-42.
- Begg, G.A. & Waldman, J.R. 1999. A holistic approach to fish stock identification. *Fish. Res.*, 43: 35-44.
- Benzie, J.A.H. (2000). Population genetic structure in penaeid prawns. *Aquaculture Research*, 31: 95-119.
- Bliss, D. E., 1982. Shrimps, Lobsters and Crabs, their fascinating life story. New Jersey: New Century Publishers. 242p.
- Buchanan, B.A. & Stoner, A.W. 1988. Distributional Patterns of Blue Crabs (*Callinectes* sp.) in a Tropical Estuarine Lagoon. *Estuaries*, 11(4): 231-239.
- Caccone, A., B. A.Garcia and J. R. Powell 1996. Evolution of the mitochondrial DNA control region in the *Anopheles gambiae* complex. *Insect Molecular Biology* 5: 51-59.
- Calliari, L. 1980 Aspectos sedimentológicos e ambientais na região estuarial da Lagoa dos Patos. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Pós-Graduação em Geociências, 190p.
- Castello, J.P. & O.O. Möller. 1997. On the oceanographic conditions in the Rio Grande do Sul. *Atlântica*, 2(2): 25-110.
- Castello, J.P., Haimovici M., Odebrecht C. & Vooren, C.M. 1997. The continental shelf and slope. In: Seeliger U, C. Odebrecht & J.P. Castello (eds.). Subtropical convergence environments. Springer-Verlag, Berlin, pp 171-178.
- Cesar, I.I., Armendáriz, L.C., Olalla, N. & Tablado, A., 2003. The Blue Crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda Portunidae) in the Rio de La Plata, Argentina. *Crustaceana* 76(3): 377-384.

- CORSAN. 1992 Assessoria para a preservação de recursos hídricos. Relatório Técnico: Recursos hídricos e abastecimento de água no litoral norte do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. 41p.
- Costlow JR, J.D. & Bookhout, C.G. 1959. The larval development of *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), reared in the laboratory. *Biol. Bul.*, 116(3): 373-396.
- Dumont, L.F.C., Hwang, G. & Maclean, N. 2009. The mtDNA control region of the barba-ruça shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda:Penaeidae) and its potential use as a marker for population analysis. *Atlântica*, Rio Grande, 31(2) 199-207.
- Epifanio, C.E., 1988. Dispersal strategies of two species of swimming crab on the continental shelf adjacent to Delaware Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 49: 243-248.
- Epifanio C. E., Dittel A. I., Rodriguez, R. A. & Targett, T. E. 2003. The Role Of Macroalgal Beds As Nursery Habitat For Juvenile Blue Crabs, *Callinectes sapidus*. *Journal of Shellfish Research*, 22(3): 881–886.
- Epifanio, C.E. 2007. Biology of Larvae. *in*. V.S. Kennedy & L.E. Cronin, The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant College, Maryland, United States of America, pp. 513-534.
- Ferreira, L.S. 2007. Pesca Artesanal do Siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Crustácea: Decapoda: Portunidae) no estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Dissertação de Mestrado, FURG, Rio Grande, 82p.
- Forward, R.B., Jr., R.A. Tankersley, K.A. Smith & J.M. Welch. 2003. Effects of chemical cues on orientation of blue crab, *Callinectes sapidus*, megalopae in flow: implications for location of nursery habitat. *Marine Biology*, 142:747-756.
- Governo Federal. INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Brasil. Disponível em www.inmet.gov.br. Acessado em : August, 5th, 2011.
- Hartnoll, R. G. 1969. Mating in Brachyura. *Crustaceana*, 16:161-181.
- Havens, K. J. & McConaughy, J. R., 1990. Molting in the mature female blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896). *Bulletin of Marine Science*, 46(1): 37-47.
- Hilborn, R., Walters, C.J., 1992. Quantitative Fisheries Stock Assessment. Choice, Dynamics and Uncertainty. Chapman & Hall, New York, 570 pp.
- Hines A.H. 1988. Fecundity and Reproductive Output in two species of deep-sea crabs, *Geryon fenneri* and *Geryon quinquegens* (Decapoda: Brachyura). *Journal of Crustacean Biology*. 8(4): 557-562.

- Jivoff, P., Hines A.H. & Quackenbush L.S., 2007. Reproduction Biology and Embryonic Development. Chapter 7 *in*: Kennedy, V.S. & Cronin, L.E. (eds). The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant.
- Kendall, M.S. & Wolcott, T.G. 1999. The Influence Of Male Mating History On Male-Male Competition And Female Choice In Mating Associations In The Blue Crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 239: 23-32.
- Kendall, M.S., Wolcott, D. L., Wolcott, T.G. & Hines, A. H., 2002. Influence of male size and mating history on sperm content of ejaculates of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 230:235-240.
- Kennedy, V.S., Oesterling, M. & van Engel, W.A. 2007. History of Blue Crab Fisheries on the U.S. Atlantic and Gulf Coasts. *in*. V.S. Kennedy & L.E. Cronin, The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant College, Maryland, United States of America, pp. 655-709.
- Kjerfve, B., 1986. Comparative Oceanography of Coastal Lagoons. *In* Wolfe D.A. (ed) Estuarine variability. Academic Press, new York, pp. 63-81.
- Klein, A.H.F. 1997 Clima Regional. *In*: Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. U. Seeliger, C. Odebrecht & J.P. Castello (Eds.) Editora Ecocientia, Rio Grande, RS, pp. 5-7
- Lee, J. T., 1999. Padrões Sazonais e Diários da Distribuição e Abundância das Megalopas de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) no estuário da Lagoa dos Patos e Região Costeira Adjacente. Dissertação de Mestrado, FURG, Rio Grande, 77p.
- Melo, G. A. S., 1996. Manual de identificação dos Brachyura (Caranguejos e Siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Plêiade/Fapesp, 604p.
- Mendonça, J.T., Verani, J.R. & Nordi, N., 2010. Evaluation and management of blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda - Portunidae) fishery in the Estuary of Cananéia, Iguapé and Ilha Comprida, São Paulo, Brazil. *Braz. J. Biol.* 70(1): 37-45.
- Miranda, L. B.; B. M. Castro, F. & Kjerfve, B.; 1998. Circulation Mixing Due to tidal forcing in the Bertioga Channel, São Paulo, Brazil. *Estuaries*, 21(2):204-214.
- Möller, O. O. Jr., Paim, P.S.G. & I. D. Soares. 1991. Facteurs et mecanismes de la circulation des eaux dans l'estuarie de la lagune dos Patos (RS, Bresil). *Bull. Inst. Geol. Basin Aquitaine (Bordeaux)*, 49:15-21.

- Montú, M., Duarte, A.K. & Gloeden, I.M. 1998. Zooplâncton. *In: Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil*. U. Seeliger, C. Odebrecht & J.P. Castello (Eds.) Editora Ecoscientia, Rio Grande, RS, pp 43-46.
- Natunewicz C. C., Epifanio C. E. & Garvine, R. W. 2001. Transport of crab larval patches in the coastal ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 222: 143–154.
- Oesterling, M. J., 1984. Manual for Handling and Shedding Blue Crabs (*Callinectes sapidus*), Virginia Sea Grant Program: 91pp.
- Oliveira, A.R. de, Pinto, T. K., Santos, D. P. D. & D’Incao, F. 2006. Dieta natural do siri-azul *Callinectes sapidus* (Decapoda, Portunidae) na região estuarina da Lagoa dos Patos, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre*, 96(3):305-313.
- Olmi, E. J., 1984. An Adult Female Blue Crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Portunidae), in *Proecdysis. Crustaceana*, 46(1): 107-109
- Pereira Filho, J., Spillere, L.C. & Schettini, C.A.F., 2003. Dinâmica de nutrientes na região portuária do estuário do rio Itajaí-açu, SC. *Atlântica*, 25(1): 11-20.
- Queiroga, H, Costlow J.D. & Moreira, M.H., 1997. Vertical migration of the crab *Carinus maenas* first zoea in a estuary: implications for tidal stream transport. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 149: 121-132.
- Ramos, L.A.; Vieira, J.P., 2001. Composição específica e abundância de peixes de zonas rasas dos cinco estuários do Rio Grande do Sul, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 27(1): 109 – 121.
- Renfro, W.C., 1963. Small Beam for Sampling Postlarval Shrimp. Circular. *U.S. Department of Fisheries and Wildlife Service*, 161: 86-87.
- Ricker, W.E., 1981. Changes in the average size and average age of Pacific salmon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1636-1656.
- Rodrigues, M.A., Heberle, M.F. & D’Incao, F. Fecundity Variation and Abundance of Female Blue Crabs *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Brachyura, Portunidae) in the Patos Lagoon Estuary, RS, Brazil. *Atlântica*, *in press*.
- Rodrigues M.A., 2006. Crescimento e Ciclo de Mudanças de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) no estuário da Lagoa dos Patos. Dissertação de Mestrado, FURG, Rio Grande, 83p.
- Rosa-Filho, J.S. & C.E. Bemvenuti, 1998. Caracterización de las comunidades macrobentónicas de fondos blandos en regiones estuarinas de Río Grande do Sul (Brasil). *Rev. Cienc. Mar Thalassas*, 14:43-56.

- Sandoz, M. & Rogers, R. 1944. The Effect of environmental factors on hatching, moulting and survival of zoea larvae of the blue crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun). *Ecology*, 25(2): 216-228
- Santos, C.R.M. & D'Incao, F., 2004. Crustáceos no Cerrito Ariano Souza, Rio Grande, Rio Grande do Sul e distribuição de *Callinectes sapidus* (Brachyura, Portunidae) *Iheringia, Ser. Zool.*, 94(1):73-76.
- Santos, C.R.M., 2007. Biogeografia, sistemática e filogenia de Portunidae ocorrentes no Oceano Atlântico Ocidental (Crustacea: Decapoda). Tese de Doutorado, FURG, Rio Grande, 308p.
- Schettini C.A.F., 2002. Caracterização Física do Estuário do Rio Itajaí-Açu, SC. *Ver. Bras. De Rec. Hídr.*, 7(1):123-142.
- Schettini, C.A.F., Kuroshima, K.N., Pereira Filho, J., Rorig, L.R. & Resgalla, C., 1998. Oceanographic and Ecological Processes Aspects of the Itajaí-Açu River Plume During a High Discharge Period. *An. Acad. Bras. De Ciências*, 70:325-334.
- Seeliger, U. 1997. Environment and Biota of the Patos Lagoon Estuary. Submersed spermatophytes. *In: U. Seeliger, C. Odebrecht & J.P. Castello (eds.) Subtropical Convergence Environments. The Coast and Sea in the Southwestern Atlantic.* Springer-Verlag, Berlin, 27-29 pp.
- Severino-Rodrigues, E., Pita, J. B., Graça-Lopes, R. da. 2001. Pesca artesanal de siris (Crustácea: Decapoda: Portunidae) na região estuarina de Santos e São Vicente (SP), Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 27 (1): 7-19.
- Sudepe, Portaria nº N-24, 26 de julho de 1983.
- Swain, D.P. & Foote, C.J., 1999. Stocks and chameleons: the use of phenotypic variation in stock identification. *Fish. Res.*, 43: 113-128.
- Tankersley, R.A. & Forward, R.B., 2007. Environmental Physiology. *in*. V.S. Kennedy & L.E. Cronin, The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant College, Maryland, United States of America. Pp.451-484.
- Tavares, L. J., 1987. Estudo populacional, crescimento e distribuição do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) no estuário de Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brasil (Crustacea, Decapoda, Portunidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 162p.
- Vieira, R. R. R. 2006. Identificação, abundância e distribuição das fases larvais das espécies de Brachyura (Crustacea, Decapoda) no estuário da Lagoa dos Patos e

- região costeira adjacente. Tese, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 203p.
- Williams, A. B. 1974. The swimming crabs of the genus *Callinectes* (Decapoda: Portunidae). *Fishery Bulletin*, 72(3):685-798.
- Williams, A. B., 1984. Shrimps, Lobsters and Crabs of the Atlantic Coast of the Eastern United States, Maine to Florida. Smithsonian Institution, Washington, 550p.
- Wolcott, D. L., Hopkins, C. W. B., & Wolcott, T. G. 2005. Early events in seminal fluid and sperm storage in the female blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun): Effects of male mating history, male size, and season. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 319: 43-55.
- Zeltzer, F., 1976. Geologia e paleogeografia da restinga da Lagoa dos Patos, RS. Tese de Mestrado, Univ. Fed. Rio Grande Sul, Brasil, 118p.
- Zeng, C & E Naylor. 1996. Synchronization of endogenous tidal vertical migration rhythms in laboratory-hatched larvae of the crab *Carcinus maenas*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 198: 269-289.

ANEXOS

ANEXO I

Two distinct subpopulations of *Callinectes sapidus* (Rathbun 1896) (DECAPODA: PORTUNIDAE) found on the Western Atlantic by the analysis of the COI subunit.

RODRIGUES, M.A.^{1,2}, DUMONT, L.F.C.¹ SANTOS, C.R.M.¹ & D'INCAO, F.¹

¹Universidade Federal do Rio Grande – Instituto de Oceanografia - Laboratório de Crustáceos Decápodos – Caixa Postal 474, CEP 96201-900 – Rio Grande – RS – Brasil.

²alanizmarcos@gmail.com

Abstract

The blue crab *Callinectes sapidus* is a brachyuran commercially exploited in the places where it occurs, and its distributed in the western North Atlantic from Venezuela to Nova Scotia in Canada, and in the southwest Atlantic, from São Paulo in Brazil to Mar del Plata in Argentina, where the occurrence is occasional. Despite being present in northern and southern hemispheres, a gap in the occurrence of *Callinectes sapidus* in equatorial latitudes raises the hypothesis that the geographical separation of these populations may be reflected in a genetic isolation. The population structure was investigated by the sequencing 650bp of the Cytochrome oxidase subunit 1 (COI - HCO/LCO). One hundred and seventeen sequences from seven different sites were analyzed. The nucleotide diversity (π) ranged from 0.002 to 0.006 and the lowest values were found at the extremes of distribution in each of the population groups (U.S. and Brazil). The haplotype diversity ranged from 0.57 to 1.00 and did not follow the same pattern of lower values near the limits of distribution. The cytochrome oxidase-based survey suggests that there is a structure in the population of *Callinectes sapidus* throughout the area of occurrence along the Western Atlantic. The estimated distances (F_{st}) showed that can be separated two subpopulations along the distribution area, one comprehending individuals from the United States, and other with individuals from Brazil. The demographic analysis suggests that the groups located closer to the limits of distribution have experienced important population retraction or expansion, whether in the northern or southern hemisphere.

Keywords: *Callinectes sapidus*, mtDNA, COI, population genetics.

Resumo

O siri-azul *Callinectes sapidus* é um braquiúro explorado comercialmente nos locais em que ocorre, se distribui na parte Norte do Atlântico Oeste desde a Venezuela até a Nova Escócia no Canadá, na parte Sul do Atlântico Oeste, desde São Paulo no Brasil até Mar del Plata na Argentina, onde a ocorrência é ocasional. Apesar de estar presente nos hemisférios Norte e Sul, um hiato na ocorrência de *Callinectes sapidus* nas latitudes equatoriais levanta a hipótese de que a separação geográfica destas populações possa se refletir em um isolamento genético. A estrutura da população foi investigada pelo sequenciamento de 650pb da região da subunidade 1 da Citocromo oxidase (COI - HCO/LCO). Cento e dezessete sequências de sete diferentes locais foram analisadas. A diversidade nucleotídica (π) variou de 0,002 a 0,006 e os menores valores foram encontrados nos extremos de distribuição em cada um dos grupos de populações (EUA e BR). Ocorreram 3 haplótipos compartilhados entre CB e PS e três haplótipos entre os quatro locais amostrados no Brasil (BT, IT, TD, e LP). A diversidade haplotípica variou de 0,57 a 1,00 e não seguiu o mesmo padrão de menores valores perto dos limites de distribuição. A investigação baseada na citocromo oxidase sugere que existe uma estruturação na população de *Callinectes sapidus* ao longo da área de ocorrência ao longo do Atlântico Oeste. As distâncias calculadas (F_{st}) mostraram que podem ser separadas duas subpopulações ao longo da área de distribuição, uma compreendendo indivíduos dos Estados Unidos, e outra compreendendo os indivíduos do Brasil. A análise demográfica sugere que os grupos localizados perto dos limites de distribuição passaram por fenômenos importantes de retração ou expansão, tanto nos hemisférios Norte e Sul.

Palavras-chave: *Callinectes sapidus*, mtDNA, COI, genética de populações

Introduction

Callinectes sapidus is a key benthic predator in estuaries and coastal waters throughout its distribution area. The blue crab is estuarine-dependent at some stage of his life, in such a way that females actively swim to marine coastal waters for spawning, while males search for the upper estuarine region avoiding intraspecific competition. The hatched meroplanktonic larvae experience metamorphosis to megalopae when, through selective tidal-streams, penetrate the estuaries to settle and finish their development to juvenile and adult stage (Kennedy & Cronin, 2007).

Melo (1996) established the distribution limits of *Callinectes sapidus* in coastal Western Atlantic: Bermuda, Florida, Gulf of Mexico, Central America, Antilles, northern South America, Brazil (Bahia to Rio Grande do Sul) and Argentina. Williams (1974), however, states that the distribution of *Callinectes sapidus* extends to the south of Nova Scotia, northern North America. The occurrence in Argentina is considered sporadic and episodic (Cesar *et al.*, 2003). While all species of the genus *Callinectes* have a continuous distribution on the Atlantic coast of the Americas, *C. sapidus* is the only one with disjunct distribution (Santos & D’Incao, 2004).

The existence of subpopulations with different gene pools implies in differences in management decisions regarding protection of the population, and also in scientific investigations (Lester, 1979, Begg & Waldmann, 1999, Dumont *et al.*, 2009). Population depletion may result in loss of the genetic pool of a species, and is of great concern, making evident the importance of the correct understanding of the population structure (Benzie, 2000; Chu *et al.*, 2003, McMillen-Jackson & Bert, 2004). According to worldwide trend in catches, *Callinectes sapidus* represents a stock in decline, and effort should be made to recover this important resource (Kennedy & Cronin, 2007).

Studies using proteins polymorphism (allozymes) were developed during the 1970’s and 1980’s, with samples from the northern distribution area, showing a single and panmitic population with similar gene frequencies in almost all populations (Cole & Morgan 1978, Burton & Feldman, 1982).

New investigations were conducted in the 1990’s, in an attempt to determine the population structure of *C. sapidus* by using allozyme electrophoresis of 750 individuals collected in 16 estuaries of the United States. Results obtained suggested that there is substantial gene flow between populations from New York to Texas. However, despite of this high level of gene flow, two striking patterns of geographic

differentiation were observed: genetic isolation and clinal variation, which can reveal processes of larval retention and low long-distance migration of adults (McMillen *et al.*, 1994).

The *C. sapidus* population structure for North America was investigated by using RFLP of mtDNA genes. Results show that populations inhabiting the U.S. coast have undergone a period of rapid expansion, and the relationship between mtDNA haplotypes is complex and may represent lineages mixed pre- and post-expansion. The authors also states that in North America, blue crabs present a significant gradient of variation in the diversity of haplotypes along the coastal waters of the Atlantic Ocean (with the diversity of haplotypes decreases with increasing latitude), and with a diversity of haplotypes distinctly lower in samples over upstate New York (McMillen-Jackson & Bert 2004).

Place *et al.* (2005) in an effort to solve the problem of scarcity of information regarding the molecular ecology of this species initiated the development of genetic markers for both the nuclear and the mitochondrial genome of the blue crab of North Atlantic. Their investigations resulted in the entire sequence for the blue crab mitochondrial genome (mtDNA), with 16,263 base pairs in length, circular and rich in A + T (69.1%) and the gene order and its arrangement are similar to other Arthropods (e.g. *Artemia*). Steven *et al.* (2005) also produced 34 microsatellite loci, in an effort to fulfill the gaps in information, what makes them a good tool for population structure research.

However, the genetic structure of the Southern Atlantic population of *C. sapidus* has received surprisingly little attention, given the ecological and commercial importance of the species. The few studies to date, dealing with the *Callinectes* genera establish the genetic relationships among the most common swimming crabs of southern Brazil, and determine the close relation of *C. danae* and *C. ornatus*, and also states that the two forms in which *C. sapidus* appear (*C.s. sapidus* and *C. s. acutidens*) are the same genetic unit (Weber *et al.*, 2003). Another study with *C. danae*, suggests a moderate structuring in the species, joining populations with less than 250km apart (Weber & Levy, 2000).

Santos (2007) studying the morphology of the Portunidae group did not encountered morphological differences between specimens of *Callinectes sapidus* collected in the United States and in Brazil, and suggests that they present a single species, with disjunction.

Because of maternal inheritance, high rates of evolutionary change and apparent lack of genetic recombination, mtDNAs have been a good source for studies on population structure, phylogeography and phylogenetic relationships at various taxonomic levels (Avice, 2000).

In animals, the mitochondrial genome is usually small (15 to 20 kb), with the circular mtDNAs containing 37 genes plus a single large noncoding region, which contains the control elements for replication and transcription. The cytochrome oxidase (COI) gene region is especially useful in phylogeographic investigations (Caccone *et al.*, 1996). Both ends of the COI gene appear to be appropriate molecular markers in different taxonomic scales, but particularly in the range of species. The final portion of the gene COI is the most frequently used in the Barcode of Life Data System (Ratnasingham & Hebert, 2007).

Despite of being present in northern and southern hemispheres, a gap in the occurrence of *Callinectes sapidus* in equatorial latitudes raises the hypothesis that the populations of *Callinectes sapidus* throughout the western Atlantic constitute two separate groups.

Material and Methods

One hundred and seventeen individuals were collected from seven sites along the distribution area of *C. sapidus* (Figure 1), from the United States to Brazil. In the United States (US), samples were obtained from Annapolis and Crisfield in Maryland, on the Chesapeake Bay estuary complex (n=17) (CB - 38°57'N-76°24'W), Pamlico Sound estuary (n=7) (PS - 35°21'N-75°46'W) and seven sequences were obtained from the Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov) for seven localities on the Gulf of Mexico (Places and accession numbers: Brownsville, TX: AY682079.1; New Iberia, LA: AY682078.1; Ocean Springs, MS: AY682077.1; Apalachicola, FL: AY682076.1; Port Charlotte, FL: AY682075.1; Naples, FL: AY682074.1; Davis Bay, MI: NC_006281.1). In Brazil (BR), twenty three crabs were collected on the Bertioga estuary (BT - 23°51'S-46°08'W), eighteen crabs on the Itajaí estuary (IT - 26°54'S-48°38'W), twenty crabs on the Tramandaí river estuary (TD - 29°58'S-50°09'W), and twenty-five crabs were collected on the Patos Lagoon estuary (PL - 32°00'S-52°04'W).

Fresh or recently preserved muscle samples from pereopods were collected, fixed in ethanol 95% and stored at 4°C. The total DNA was extracted using a phenol-

chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1), after a sodium dodecylsulfate (SDS) – proteinase K digestion of each individual (Sambrook and Maniatis, 1989). The total DNA was precipitated using 2/3 ethanol, followed by a 70% ethanol bath and air dry, followed by TE buffer resuspension.

Amplification reactions were conducted using an Perkin-Elmer PCR machine and each 30 μ l of PCR contained 1 μ l of DNA template, 5.25 μ l of 10x buffer, 0.75 μ l of MgCl₂, 0.3 μ l of dNTP (20mM), 4.5 μ l of Q-solution (Qiagen®), 0.3 μ l of each primer (100pM), 0.75 μ l of Taq DNA polymerase (5U/ μ l), and Miliq-water to complete the 30 μ l final reaction volume.

The primers were used to amplify approximately 651 bp of the Cytochrome Oxidase subunit 1. Forward oligonucleotide primer sequence used was (COIa): 5'-CCTGCAGGAGGAGGAGAYCC-3' and reverse (COIf) 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3' (Palumbi & Benzie, 1991).

The PCR profile conditions were 1 minute at 94°C, then 35 cycles of: 94° for 10 seconds, 50° for 45 seconds and 1 minute at 72°C, and finally 5 minutes at 72°C. The PCR products were checked for correct size and amount of DNA on 1.0% agarose gel. Products were then purified using PEG-Solution to remove nucleotide excess and primers as well as concentrate PCR products. The purified amplification products were sequenced at Macrogen Inc., Seoul, Korea.

Sequences were aligned using the routine CLUSTALW included in BIOEDIT (Hall, 1999), followed by visual reading of the sequencing chromatogram in the software 4PEAKS (Griekspoor & Groothuis, 2004) when necessary. Only readings that did not contained failures in the spectrum of the chromatogram were used. Phylogenetic analysis was performed in DNAsp (Rozas *et al.*, 2003), MEGA 5.0 (Tamura *et al.*, 2001) and Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006).

Nucleotide composition and estimates of sequence diversity, such as nucleotide diversity (*Pi*), haplotype diversity (*Hd*), number of transversions and transitions and number of polymorphic sites were obtained. Data on haplotypes were also used in the median joining (MJ) network analysis (Bandelt *et al.*, 1999) to depict the relationships between U.S. and Brazil haplotypes, as implemented in the Network 4.6 software (<http://www.fluxus-engineering.com>).



Figure 1. Distribution area of *C. sapidus* in the Americas. Sampling areas are marked with black dots and the solid black line represents distribution area.

Tajima's D (Tajima, 1989) was estimated to test for selective neutrality of samples. Measures of genetic distance (standard F_{st} and Slatkin linearized F_{st}) were used to test significant differences between populations and to perform Mantel's test of isolation by distance (Mantel, 1967). This analysis was used to estimate the significance of correlation between pairwise genetic distance among sample sites using Slatkin's linearized F_{st} and the \log_{10} straight line of geographic distance among sites. Least squared procedure was used to fit genetic differences to geographical distances. Pattern of isolation by distance is accepted when significant correlation

between genetic differentiation and geographical distance is obtained (Hurwood *et al.*, 2005).

Mismatch analysis, was used to assess stability of populations over time. This method can differentiate from populations that have remained stable and those that have experienced recent expansions or retractions (Rogers, 1995).

Majority consensus tree with phylogenetic relationships between COI mtDNA sequences of *C. sapidus* were estimated using the maximum parsimony method (MEGA package) with Bootstrap and 1000 replicates. We used the sequence of the portunid purple mud crab *Scylla tranquebaricus* (Fabricius, 1798) as the outgroup (Genbank accession no. FJ827759)

Results

One hundred and seventeen sequences from seven different sites were analyzed for 648 nucleotides. The A + T composition ranged from 61.7% in the United States, to 60.7% in Brazil. The transition/transversion rate remained low for samples of CB, PS, PL and TD and higher in the samples of IT. GM individuals are not shown because they represent individuals from different places inside the Gulf of Mexico.

The nucleotide diversity (π) ranged from 0.002 to 0.006 and the lowest values were found at the extremes of distribution in each of the subgroups in the population (U.S. and BR). The haplotype diversity ranged 0.57 to 1.00 and did not follow the same pattern of lower values near the limits of distribution, but showed the highest values in samples from the United States, and the lowest values in samples from Brazil.

The average number of pairwise differences was higher in the US samples than in the BR samples, with both limits of distribution in the US (CB and PS) and BR (BT and LP) with lower values (Table 1). Shared haplotypes occurred between Chesapeake Bay and Pamlico Sound, and between the four Brazilian sites (Table 2). The median joining network analysis haplotype map constructed separated the U.S. and Brazil samplings (Figure 2).

The cytochrome oxidase-based research suggests that there is a structuring in the population of *Callinectes sapidus* throughout West Atlantic area of occurrence. The calculated distances (F_{st}) showed clearly that exists a separation between samples collected in the U.S. and in Brazil. Within the groups of samples taken at each of the sites (CB, PS, and GM on the United States, and BT, IT, TD and PL on Brazil), the calculated F_{st} between the sampling sites was low, and did not allow the group separation (Table 3). When all the sampling places are grouped into U.S. and Brazil samplings, it is clear the separation between the two groups (Table 4). The phylogeny reconstruction also separated both the outgroup and US and Brazil subpopulations (Figure 3).

Mismatch analysis, used to detect sudden population expansion, suggested instability in the distribution extremes of both U.S. and Brazil subpopulation (Table 5), with higher p-values in the middle of the distributions (PS and IT).

Table 3. Fine scale pairwise F_{st} distances and levels of significance (within brackets) estimated from *C. sapidus* COI I subunit sequences between six sites sampled. GM= Gulf of Mexico, CB=Chesapeake Bay, PS= Pamlico Sound, BT Bertioga (SP), IT= Itajaí (SC), TD= Tramandaí (RS), PL= Patos Lagoon (RS). Numbers within brackets represent sample sizes at each site. Numbers in bold represent no significant differences (95%).

Site	GM (7)	CB (17)	PS (7)	BT (23)	IT (18)	TD (20)	PL (25)
1- GM		0.02 (0.22)	-0.03 (0.90)	0.21 (0.00)	0.18 (0.00)	0.24 (0.00)	0.22 (0.00)
2- CB	0.02 (0.22)		0 (0.99)	0.22 (0.00)	0.18 (0.00)	0.25 (0.00)	0.22 (0.00)
3- PS	-0.03 (0.90)	0 (0.99)		0.22 (0.00)	0.18 (0.00)	0.25 (0.00)	0.22 (0.01)
4- BT	0.21 (0.00)	0.22 (0.00)	0.22 (0.00)		-0.02 (0.92)	-0.02 (0.99)	-0.02 (0.99)
5- IT	0.18 (0.00)	0.18 (0.00)	0.18 (0.00)	-0.02 (0.92)		-0.02 (0.81)	-0.02 (0.86)
6- TD	0.24 (0.00)	0.25 (0.00)	0.25 (0.00)	-0.02 (0.99)	-0.02 (0.81)		-0.02 (0.99)
7- PL	0.22 (0.00)	0.22(0.00)	0.22 (0.01)	-0.02 (0.99)	-0.02 (0.86)	-0.02 (0.99)	

Table 4. Broad scale pairwise F_{st} distances and levels of significance (within brackets) estimated from *C. sapidus* COI subunit sequences between three sites sampled. US= United States, BR= Brazil. Numbers within brackets represent sample sizes at each site.

Site	US (31)	BR (86)
US		0.13 (0.00)
BR	0.13 (0.00)	

Table 5. Neutrality Test and Mismatch analysis for *C. sapidus* populations in Gulf of Mexico (GM) Chesapeake Bay (CB), Pamlico Sound (PS), Bertioga (BT), Itajai (IT), Tramandai (TD) and Patos Lagoon (PL). Distances are presented based on the Patos Lagoon estuary samples. Parameters of demographic expansion are presented, as well as the goodness of fit test of the model, sum of squared deviations (SSD), p-values for rejection of demographic expansion model and Tajima's test p-values.

Neutrality tests												
Ewens-Watterson test												
Distance	17200 km	16848 km	14300 km	1158km	712km	290 km						
Parameters	CB	PS	GM	BT	IT	TD	LP	LP	LP	LP	LP	Mean
Sample size	17	7	7	7	23	18	20	25	25	25	25	16.7
No. of alleles	13	7	7	7	8	7	6	8	8	8	8	8
Tajima's D test												
Sample size	17	7	7	7	23	18	20	25	25	25	25	16.7
S	17	10	10	14	9	13	8	8	8	8	8	11.28
Pi	2.61	3.14	3.14	4.38	1.57	2.58	1.30	1.47	1.47	1.47	1.47	2.43
Tajima's D	-1.86	-1.23	-1.23	-1.28	-1.17	-1.18	-1.41	-0.96	-0.96	-0.96	-0.96	-1.30
Tajima's D p-value	0.02	0.13	0.13	0.10	0.11	0.13	0.07	0.17	0.17	0.17	0.17	0.10
Mismatch analysis												
Demographic expansion												
Parameters	CB	PS	GM	BT	IT	TD	LP	LP	LP	LP	LP	Mean
Tau	1.88	3.29	3.29	4.35	0	5.12	0	0	0	0	0	2.09
Theta0	0.75	0	0	0.003	0	0	0	0	0	0	0	0.10
Theta1	99999	99999	99999	99999	99999	99999	99999	99999	99999	99999	99999	85713
SSD	0.01	0.007	0.007	0.02	0.49	0.05	0.42	0.52	0.52	0.52	0.52	0.21
Model (SSD) p-value	0.34	0.87	0.87	0.58	0	0.29	0	0	0	0	0	0.29

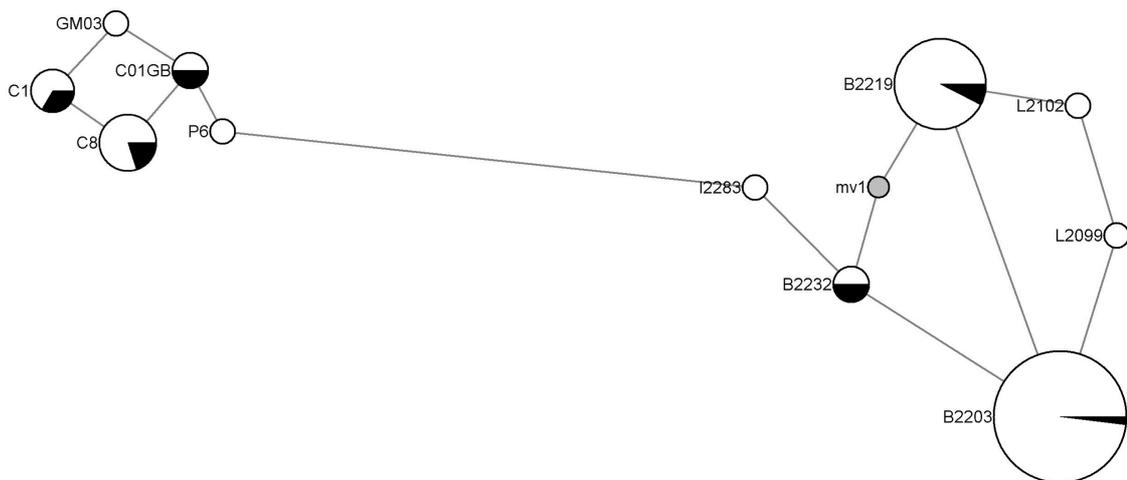


Figure 2. MJ network describing the relationships among *C. sapidus* COI mtDNA 450-bp haplotypes. Samples are marked accordingly: C - Chesapeake Bay; P - Pamlico Sound; GM - Gulf of Mexico; B - Bertioga; I - Itajaí; T - Tramandaí; L - Patos Lagoon.

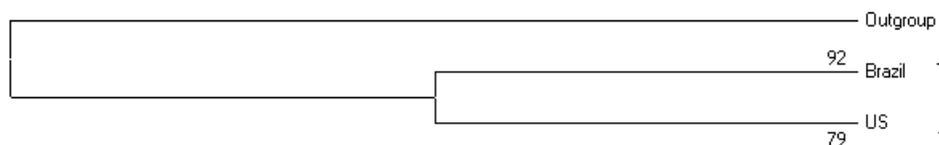


Figure 3. MP consensus tree produced from an alignment of COI region sequences with *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), with samples from the United States sampling sites (US), and Brazil's sampling sites (Brazil). Bootstrap values from 1000 pseudoreplicates are shown on the branches. The portunid *Scylla tranquebaricus* is used as an outgroup.

Discussion

The mtDNA is widely known as a polymorphic marker (Avise, 1994). Taylor & Schuster (2010) used the COI region along with morphological analysis to confirm the occurrence of a new species of crayfish in the Tennessee River, in the United States.

The analysis of the COI region allowed for the separation of two *Callinectes sapidus* subpopulations along the distributional gradient on the Western Atlantic. Santos (2007) studying the morphology of the Portunidae group found no morphological differences between specimens of *Callinectes sapidus* collected in the United States and in Brazil. Differences in genetic structure probably didn't yet

reflected a morphological change, or changes are still cryptic and not yet visible (Santos, *op cit.*).

Values of nucleotide diversity (π) in literature for shrimps range from 0.002 to 0.058, and main factors affecting variation are historical events, life cycle strategy and geographical isolation (Benzie, 2000). Roman & Palumbi (2004) encountered for the portunid *Carcinus maenas* values between 0.000 to 0.01, sampling in several places in Europe, and suggested that the marine fauna of Europe may be generally subdivided into the areas of Mediterranean, Western Europe and Northern Europe. The values encountered for the blue crab population from the United States population in this study was higher than in the Brazilian population, suggesting that the latter is subjected to a reduction of genetic variability.

Reduced variation in population within the limits of the Southern distribution may be related with bottleneck effects occurred in the past or reinvasion after extinction on the South populations (Benzie, 2000). Population inhabiting limits of distribution in Brazil are more likely to experience bottleneck effects through adverse conditions, or by an increase in fishing effort.

The combination of high haplotype diversity with low nucleotide diversity in marine organisms has frequently been attributed to expansion after a period of small effective population size (Awise *et al.*, 1984, Dumont, 2008). From 46 haplotypes encountered for the COI gene in this survey, none are shared between all subpopulations. Only three are shared between two North American subpopulations, and three are shared between all the Brazilian subpopulations, indicating haplotype isolation. The haplotype diversity was higher in the US population (0.94 – 1.0), and show considerably lower values for the Brazilian population (0.57 – 0.68), with the higher value on the Itajaí Estuary (0.68), considered being the central area of the South Atlantic distribution.

Both fine scale and broad scale F_{st} values encountered also supports the separation of the two subpopulations: one in the United States and other in Brazil. Within the US population, the GM samples were not significantly different than the PS and CB populations, but a marginally significant low p-value implies some differentiation between this population and the other two. Samplings from GM were taken from the Genbank, and are from different sites in the GM, which might explain the low level of significance. In the Brazil's population, we find no subpopulations

structure by using the F_{st} distance. That may be explained by the fact that the COI gene is more conserved, and does not show that level of resolution.

The occurrence of a hiatus of the species is probably due to preference of the species for the Temperate Zone (Santos, 2007). In Brazil the species is found as far North as the Bahia state and might be occasional, probably during favorable conditions, as well as the Southern distribution, as related by Coelho & Santos (2004) and Boschi *et al.* (1992).

Santos & D’Incao (2004) identified crustaceans found at a archaeological site, in Rio Grande do Sul state, South of Brazil, and identified remains of *C. sapidus*, rejecting hypothesis of ships ballast water transport as an answer to the occurrence of the species at the local. The authors discuss the several hypotheses that may have lead to the disjunction of the species, like the presence of temperature isotherms or the idea that disjunction species may be relicts of the cosmopolitan biota from the inferior Tertiary period. Also the raising of the Panama’s isthmus, along with sea level regressions and expansions from the glaciations can be used as an explanation.

The blue crab cycle comprises migration of females to external zones (0 - 10m) in the spawning period, and the subsequent return of larvae to the estuaries to grow (Jivoff *et al.*, 2007). Larvae are subjected to coastal transport on near shore zones by Coastal Waters (CW - Piolla *et al.*, 2005). The CW in the Southwestern Atlantic is mainly influenced by the freshwater discharge from mainly two sources: La Plata river (with discharges up to $60,000\text{m}^3/\text{s}^{-1}$) and the Patos Lagoon estuary (with discharges up to $30,000\text{m}^3/\text{s}^{-1}$). This water can reach areas as north as the São Paulo coast (23°S), but generally reaches the latitude of Itajaí (26°S) (Piolla *et al.*, 2004). Therefore, larval transport could explain the shared haplotypes encountered along the distribution gradient on the Southwestern Atlantic.

From our data, little can be said about the population structure of *C. sapidus* for the US samples without increasing the number of sequences, but the data shows that the CB subpopulation shares haplotypes with PS, but not with GM.

Weber (2000) studying the dynamics and genetic structure of *C. sapidus* on the South Region of Brazil using enzymatic locus, encountered differences between the Tramandaí and Patos Lagoon estuaries. The enzymatic locus technique shows more variation than the use of COI, what can explain why the present study found no significant difference between the two groups.

Demographic structure

Results obtained by mismatch analysis suggest that the extremes of distribution may be under stress. A population that is relatively stable can retain genetic signature of a sudden population expansion for a long time, despite of more recent or more gradual expansions and minor short-term population reductions (Rogers, 1995; Lavery *et al.*, 1996). The more stable population in the Southwestern Atlantic seems to inhabit IT, with that estuary becoming the central point of distribution. Populations in BT, TD and LP seem to be under the stress of being at the extremes of the dispersion and losing genetic variability. Temperature can act as a barrier for the southern distribution in Brazil, as it is proven that act as a limitation factor for the appearance of ovigerous females, as well as the recruitment of juveniles (Rodrigues *et al.*, *in press.*).

Lefébure *et al.* (2006) suggests a limit to the use of taxonomic morphology and molecular divergence in the Crustacea group. The analysis of crustaceans' mtDNA revealed a general correlation between molecular divergence and taxonomy. This correlation is particularly high for more basal taxonomic levels, allowing them to propose a general COI to help define the species level in crustaceans. At higher taxonomic levels, this correlation decreases, particularly when comparing different families. These results support the use of DNA in taxonomy and suggest an operational method to help species delimitation attached to the definition of phylogenetic species. It is expected that this tool do the fine-tuning of the existing classification, and not, as some believe, destroy it. The COI gene has been successfully used in works of systematic identification (Barcoding of Life).

Our results suggest that in Brazil there is genetic exchange between populations of the four estuaries sampled, despite using a moderately conserved region of DNA. Haplotypes of Rio Grande do Sul were found in São Paulo, which may be the result of northward migration of adults or larvae probably carried by CW (coastal waters). Similarly, other fish stocks (such as shrimp *Artemesia longinaris* and fish *Pomatomus saltatrix* and *Sardinella brasiliensis*) also use CW to migrate toward the North in the South West Atlantic (Dumont, 2008). Further investigations with more variable markers like the control region of the mtDNA, along with additional sampling can be useful in assembling a more detailed structuring of blue crab populations in these locations.

Conclusions

The results suggest that there is a clear separation between the populations of Brazil compared with the populations studied in the United States. Although populations still cannot be morphologically separated, differences appeared when it was used a conserved gene (COI).

Further studies to give the definitive answer regarding the populations' separation can include artificial reproduction with individuals from both US and Brazil. Karyotype analysis also can be used to establish differences between both subpopulations.

The management of this species should focus on keeping the local populations and habitats of blue crab, to ensure long term sustainability of the species.

Literature Cited

- Avise, J.C. (1994). *Molecular markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York.
- Avise, J.C. (2000). *Phylogeography: The history and Formation of the Species*. Cambridge, Mass: Harvard University Press.
- Avise, J.C., Neigel, J.E. and Arnold, J. (1984). Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. *Journal of Molecular Evolution*, 20: 99-105.
- Begg, G.A., & Waldman, J.R. 1999. An holistic approach to fish stock identification. *Fish. Res.*, 43:35-44.
- Begg, G.A., Friedland, K.D. & Pearce, J.B., 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fish.Res.*, 43: 1-8.
- Benzie, J.A.H. (2000). Population genetic structure in penaeid prawns. *Aquaculture Research* 31: 95-119.
- Boschi, E. E.; Fischbach, C. E. & Iorio, M. I. 1992. *Catálogo ilustrado de los crustáceos estomatópodos y decápodos marinos de Argentina*. Montevideo, Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo, 10, 94p.
- Burton, R.S., Feldman, M.W., 1982. Population genetics of coastal and estuarine invertebrates: does larval behavior influence population structure? In: Kennedy, V.S. (Ed.) *Estuarine Comparisons*. Academic Press, New York, pp. 537–551.

- Caccone, A., Garcia, B.A., and Powell, J.R. (1996). Evolution of the mitochondrial DNA control region in the *Anopheles gambiae* complex. *Insect Molecular Biology* 5: 51-59.
- Cesar, I.I. Armendáriz, L.C., Olalla, N. Tablado, A. 2003. The Blue Crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Portunidae) in the Río de la Plata, Argentina. *Crustaceana*, 76(3): 377-384.
- Chu, K.H., Li, C.P. Tam Y.K. & Lavery, S. 2003. Application of mitochondrial control region in population genetic studies of the shrimp *Penaeus*. *Molecular Ecology Notes*, 3: 120-122.
- Coelho, P. A. & Santos, M. C. F. 2004. Siris do estuário do Rio Una, São José da Cora Grande, Pernambuco - Brasil (Crustacea, Decapoda, Portunidae). *Boletim Técnico Científico do Cepene*, 12(1):187-194.
- Cole, M.A., Morgan II, R.P., 1978. Genetic variation in two populations of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Estuaries* 1, 202 – 205.
- Dumont, L.F.C., 2008. Identificação de Estoques e Aspectos Pesqueiros do Camarão Barba-Ruça (*Artemesia longinaris* Bate, 1888 – Decapoda, Penaeidae). Tese de Doutorado, FURG. 240p.
- Excoffier, L. and H.E. L. Lischer (2010) Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- Griekspoor A., & Groothuis T., 2004. 4Peaks. www.mekentosj.com.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids. Symposium Series* 41:95-98.
- Hurwood, D.A., Heasman, M.P., Mather, P.B. (2005). Gene flow, colonization and demographic history of flat oyster *Ostrea angasi*. *Marine and Freshwater Research* 56: 1099-1106.
- Jivoff, P, Hines A.H. & Quackenbush, L.S. 2007. Reproduction Biology and Embryonic Development. Chapter 7 in: Kennedy, V.S. & Cronin, L.E. (eds). The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant.
- Kennedy, V.S. & Cronin, L.E. (eds). 2007. The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant 800p.

- Lavery, S., Chan, T.Y., Tam, Y.K., and Chu, K.H. (2004). Phylogenetic relationships and evolutionary history of the shrimp *Penaeus* s. l. derived from mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31: 39-49.
- Lefébure, T., Douady, C.J., Gouy, M. and Gibert, J. (2006). Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: Proposal of a molecular threshold to help species delimitation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40: 435–447
- Lester, L.J. (1979). Population genetics of penaeid shrimp from the Gulf of Mexico. *J. Hered.*, 70:175-180
- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.*, 27, 209–220.
- McMillen, A.L., Bert, T.M. & Steele, P. 1994. Population genetics of the blue crab *Callinectes sapidus*: modest population structuring in a background of high gene flow. *Marine Biology*, 118:53-65.
- McMillen-Jackson A.L. & Bert, T.M., 2004. Mitochondrial DNA variation and population genetic structure of the blue crab *Callinectes sapidus* in the eastern United States. *Marine Biology*, 145:769-777.
- Melo, G. A. S. 1996. Manual de Identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral Brasileiro. São Paulo, Plêiade/FAPESP. 604p.
- Palumbi S.R., & Benzie J. (1991) Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar Penaeid shrimp. *Mol Mar Biol Biotechnol* 1, 27–34.
- Piola, A.R., Möller., O.O.Jr., and Palma, E.D. (2004). El impacto del Plata sobre el Océano Atlántico. *Ciencia Hoy*, 14(2): 20-37.
- Piola, A.R., Matano, R.P., Palma, E.D., Möller, O.O.Jr., and Campos, E.J.D. (2005). The influence of the Plata River discharge on western South Atlantic shelf. *Geophys. Res. Lett.*, 32:1-4.
- Place A.R., Feng, X., Steven, C.R., Fourcade, H. M., Boore, J.L. (2005) Genetic markers in blue crabs (*Callinectes sapidus*) II. Complete mitochondrial genome sequence and characterization of genetic variation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 319: 15-27.
- Ratnasingham, S., & Hebert, P.D.N. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System ([www. barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)). *Molecular Ecology Notes*: 10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x

- Roman, J. & Palumbi, S.R. 2004. A global invader at home: population structure of the green crab, *Carcinus maenas*, in Europe. *Molecular Ecology* 13: 2891-2898.
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X., and Rozas, R. (2003). DNAsp. DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Rogers, A.R. (1995). Genetic evidence of for Pleistocene population explosion. *Evolution* 49: 608- 615.
- Sambrook, J.E.F., and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor, N.Y, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Santos, C.R.M. dos. 2007. Biogeografia, sistemática e filogenia de Portunidae Rafinesque, 1815 do Oceano Atlântico Ocidental (Crustacea, Decapoda): ênfase em *Callinectes* Stimpson, 1860 e *Portunus* Weber, 1795. Tese de doutorado, FURG, 308p.
- Santos, C.R.M. & D’Incao, F., 2004. Crustáceos no Cerrito Ariano Souza, Rio Grande, Rio Grande do Sul e distribuição de *Callinectes sapidus* (Brachyura, Portunidae) *Iheringia, Ser. Zool.*, 94(1):73-76.
- Steven, C.R., Hill, J., Masters, B. & Place, A.R., 2005. Genetic markers in blue crabs (*Callinectes sapidus*) I: Isolation and characterization of microsatellite markers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 319: 3-14.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585-595.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M and Kumar S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* (submitted).
- Taylor, C.A. & Schuster, G.A. 2010. Monotypic no more, a description of a new crayfish of the genus *Barbicambarus* Hobbs, 1969 (Decapoda: Cambaridae) from the Tennessee River drainage using morphology and molecules. *Proceeding of the Biological Society of Washington*, 123(4):324-334.
- Weber, L.I. & Levy, J.A. 2000. Genetic population structure of the swimming crab *Callinectes danae* (Crustacea:Decapoda) in southern Brazil. *Hydrobiologia*, 420: 203-210.

- Weber, L. I., A. Puchnick, J. P. Lamego & J. A. Levy, 2003. Genetic relationships among the most common swimming crabs of southern Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 23 (1): 201-211.
- Weber, L.I. da C. 2000. Estudos Genéticos em Siris do gênero *Callinectes* Stimpson (Crustacea) da Região Sul do Brasil: I. Estudos Sistemáticos; II. Estudos Genéticos. Tese de doutorado FURG, 244p.
- Williams, A. B. 1974. The swimming crabs of the genus *Callinectes* (Decapoda: Portunidae). *Fishery Bulletin*, 72(3):685-798.

ANEXO II

Distribuição espacial e abundância de juvenis de *Callinectes sapidus* no complexo estuarino lagunar Tramandaí-Armazém e na região estuarina da Lagoa dos Patos.

RODRIGUES, M.A.^{1,2} & D'INCAO, F.¹

¹Universidade Federal do Rio Grande – Instituto de Oceanografia - Laboratório de Crustáceos Decápodos – Caixa Postal 474, CEP 96201-900 – Rio Grande – RS – Brasil.

²alanizmarcos@gmail.com

Palavras-Chave: siri-azul, *Callinectes sapidus*, recrutamento, estuário de Tramandaí, estuário da Lagoa dos Patos.

Resumo

O objetivo do trabalho foi determinar áreas de concentração e preferência de juvenis do siri-azul *Callinectes sapidus* nos estuários do Rio Tramandaí e da Lagoa dos Patos. Para isso, foram realizadas amostras mensais de novembro de 2008 a abril de 2010, com rede de renfro em duas profundidades em quatro pontos em cada estuário, juntamente com coleta de dados ambientais salinidade e temperatura. Também foram obtidos dados de precipitação e temperatura atmosférica do INMET. As amostras foram analisadas por regressão múltipla, para verificação de relação entre a CPUA e os dados ambientais, e ANOVA de medidas repetidas para estimar a relação entre a abundância por coorte de tamanho as profundidades e os pontos de coleta. O padrão de resposta às variáveis ambientais foi semelhante para ambos os estuários, onde a temperatura parece ser determinante para o assentamento dos juvenis, e estes parecem se concentrar mais nos pontos com maior quantidade de detritos, e significativamente, mais nas margens do que nas áreas mais profundas. Em ambos os estuários, foram encontrados dois picos de entrada de indivíduos, com o primeiro ocorrendo no início do outono, e o segundo durante o inverno. Estes picos podem estar relacionados a aumentos de temperatura fora de época. As áreas internas do estuário são determinantes para o correto assentamento das coortes de siri-azul nos dois estuários, tornando evidente a preocupação por sua proteção.

Palavras-Chave: siri-azul, *Callinectes sapidus*, recrutamento, estuário do Rio Tramandaí, estuário da Lagoa dos Patos

Abstract

The aim of this study was to determine preference and concentration areas of blue crab juveniles on the Tramandaí and Patos Lagoon estuary. Samplings were made with renfro net in two depths in four places in each estuary, along with environmental data salinity and temperature. Also were obtained rainfall and atmospheric temperature from the National Meteorology Institute. Samples were analyzed by multiple regressions, to verify possible relations between CPUA and environmental data, and repeated-measures ANOVA to estimate the relation between abundance by size of cohort, depths and sampling places. The response pattern seems to be similar for settling of juveniles on both estuaries, and juveniles seems to concentrate more on areas with a greater amount of organic matter, and significantly more on margins than in areas with greater depth. On both estuaries, were found two peaks of entrance of juveniles, with the first occurring at the beginning of autumn, and the second during winter. These peaks can be related to anomalous increasing of temperature. The internal areas of both estuaries are determinants for the correct settling of blue crabs, making evident the concern for its protection.

Keywords: blue crab, *Callinectes sapidus*, recruitment, Tramandaí estuary, Patos Lagoon estuary.

Introdução

Estuários são áreas de transição entre rios e oceanos, com características próprias e parâmetros ambientais que exibem alta variabilidade. A dispersão é um elemento chave para o entendimento dos padrões de abundância e da dinâmica dos organismos em diferentes locais (Kareiva, 1990; Wiens, 1995). Ecologicamente, a dispersão pode ter várias implicações, incluindo um aumento no fluxo de informações genéticas (Etherington & Eggleston, 2003), alteração na dinâmica presa-predador ou modificações na distribuição da população e padrões de abundância. Alta conectividade entre grupos separados geograficamente implica em que as populações sejam parcialmente dependentes de processos que ocorrem fora do ambiente local (i.e. variações meteorológicas, transporte antropogênico, transporte devido a correntes marinhas) (Caswell, 1978; Roberts, 1997). A fase de recrutamento, então é determinante para o sucesso do estabelecimento da população no estuário de origem, ou para a migração para outras áreas.

Esforços para conservação devem levar em conta o transporte e a interconectividade entre diferentes locais, a fim de garantir o suporte e a estabilidade da população. As propriedades de dispersão de um organismo são função das características de comportamento e morfologia dos indivíduos, bem como as características do ambiente (Caley *et al.*, 1996).

O grau de conectividade entre grupos isolados de indivíduos vai ser dependente da estratégia de vida dos organismos de uma determinada espécie (Horn 1983; Palmer *et al.*, 1996) e da capacidade de dispersão dos organismos como um todo. Conectividade entre manchas de habitat podem ocorrer durante um período limitado no ciclo de vida do organismo (e.g. fase larval), ou ao invés disso, dispersão em larga escala pode ocorrer durante múltiplos estágios.

Para espécies marinhas bentônicas com populações abertas (ou seja, onde o recrutamento está ligado com a reprodução por um estágio larval dispersivo), a importância da dispersão na determinação da distribuição e abundância de populações geralmente é enfatizado durante os estágios larvais, antes do assentamento bentônico (Caley *et al.*, 1996).

O ciclo de vida do siri azul envolve a cópula dos adultos no interior do estuário, e a subsequente migração das fêmeas para realizar a desova em áreas oceânicas adjacentes. As larvas passam por 7 ou 8 estágios de zoea, até que mudam

para o estágio de pós-larva, ou megalopa. Estas retornam ao estuário por transporte por seleção de corrente (selective tidal-stream) (Tankersley & Forward, 2007).

Uma vez que as megalopas adentram o estuário e começam a fazer parte do bentos estuarino, elas geralmente se associam a vegetação aquática submersa mais do que em áreas não vegetadas (Heck & Orth, 1980; Weinstein & Brooks 1983). A superpopulação de megalopas e recém-juvenis nas áreas vegetadas promove uma segunda onda de migração para áreas não vegetadas, onde os agora siris juvenis iniciam sua vida pós-recrutamento. Esse recrutamento secundário é extremamente importante para o sucesso e estabelecimento das relações intraespecíficas e o ciclo de vida propriamente dito dos siris.

No estuário da Lagoa dos Patos e no estuário de Tramandaí, a fanerógama submersa *Ruppia maritima* forma pradarias extensivas nas baías marginais e rasas do estuário da Lagoa dos Patos e fornece abrigo e proteção às megalopas e juvenis de *Callinectes sapidus* (Cafruni *et al.*, 1978, Capitoli *et al.*, 1978). Costa & Seeliger (1989), trabalhando com distribuição vertical de *Ruppia maritima* na Lagoa dos Patos, encontraram que o limite superior para a ocorrência da planta é a profundidade de 0,25m onde partes das plantas não ficaram expostas por mais de 50% do tempo total durante o período de crescimento. Segundo Hovel & Lipcius (2002), a fragmentação das pradarias não tem uma influência decisiva na sobrevivência e densidade do siri-azul *Callinectes sapidus*, por sua capacidade de migrar para outras regiões como planícies lamosas e áreas com sedimentos.

Canibalismo e mudanças sazonais na estrutura dos locais de estabelecimento podem influenciar as relações entre a sobrevivência dos siris e a estruturação da marisma. Grande parte da mortalidade do siri-azul nas pradarias é devido a alta densidade de indivíduos, que acentua fatores como canibalismo e predação (Epifanio, 2007).

A captura por unidade de área é uma medida importante para saber o estado da população em determinado local. Pode dar informações sobre a quantidade de indivíduos que está efetivamente contribuindo para a população em determinado período de tempo. Ela representa um retrato do estado da população em determinado tempo (Lambert *et al.*, 2006).

Neste trabalho, a partir da obtenção da CPUA de juvenis, são discutidos padrões de assentamento e abundância de juvenis de *Callinectes sapidus* nos estuários da Lagoa dos Patos e Tramandaí, para um melhor entendimento da dinâmica de

dispersão pós-assentamento, junto com sua distribuição em função da profundidade nos estuários. Também a relação entre parâmetros ambientais e o aparecimento de novas coortes é discutido.

Área de Estudo

A área de estudo compreende a área interna de dois estuários importantes para a pescaria do siri-azul, o estuário do Rio Tramandaí (no triângulo formado pelas latitudes 29°58'S x 50°08'W; 29°56' x 50°10'W; 29°59'S x 50°10'W) e o estuário da Lagoa dos Patos (no triângulo formado pelas latitudes 31°53'S x 52°13'W; 32°10'S x 52°05'W; 31°50'S x 52°05'W) (Figuras 1 e 2).

O complexo estuarino Tramandaí-Armazém é composto pelas lagunas de Tramandaí e Armazém, as quais constituem um corpo de água com 18,4 km², sendo a superfície da Laguna de Tramandaí de 12,86 km² e da Laguna Armazém 5,54 km² e a profundidade máxima das duas lagunas é de 1,5 m (Figura 1). A vazão do estuário é controlada pela maré, mais do que pela movimentação de massas de água devido a forçantes como vento. As lagunas comunicam-se com o mar através de um canal de 1,6 km de comprimento, por onde escoam a água doce proveniente dos canais que nelas desembocam e por onde entra a água do mar em condições de enchente (Zeltzer, 1976).

A Lagoa dos Patos recebe o aporte de água doce de grande parte dos rios do Rio Grande do Sul, e faz parte do complexo lagunar Patos-Mirim. Tem uma área total de 963 km², e conformação típica de lagunas estranguladas, com uma única comunicação com o exterior (Kjerfve, 1986) (Figura 2). O estuário da Lagoa dos Patos, cobre uma área de 10.360 km². com profundidade média de 15m e largura de 800m, atenuando os avanços das ondas de maré para dentro do complexo lagunar. Ventos do quadrante NE tornam o sistema totalmente doce por prolongados períodos. Já ventos de SE durante períodos secos, causam prolongadas residências de água salgada (Asmus, 1996). A Lagoa dos Patos está localizada na planície costeira do Rio Grande do Sul, Brasil (32°S, 49°W). A bacia de drenagem da Lagoa dos Patos cobre uma área de 201.626 km², e a intensidade de chuvas combinada com a direção e intensidade do vento é responsável pela dinâmica da água dentro do estuário. (Asmus, 1996) A descarga de água doce oriunda da bacia de drenagem da Lagoa dos Patos apresenta grande variabilidade interanual (30.300 – 47.000 m³/s), e se intensifica especialmente durante anos de El Niño (Garcia, 1996). A penetração de água oceânica

na Lagoa dos Patos também é altamente influenciada pela intensidade e frequência da passagem de frentes frias pela região, resultando na entrada de pós-larvas de camarões e siris durante esses eventos (Castello & Möller, 1978; D’Incao, 1984, 1990). Por outro lado, a ocorrência de ventos do quadrante NE tem transporte de Eckman direcionado para o oceano aberto, o que favorece a descarga de água salobra para fora do estuário, influenciando na migração dos adultos (Castello & Möller, 1978, Forbes & Hay, 1988).

Os dois estuários possuem características próprias, que não permitem que sejam considerados de maneira semelhante. O estuário de Tramandaí, com suas variações marcadas de amplitude de maré, e o estuário da Lagoa dos Patos, que apresenta micromaré com amplitude máxima de 40cm e com sua vazão mais controlada pela forçante dos ventos do quadrante NE (Tavares, 1987, Castello & Möller, 1978).

Material e Métodos

No período de novembro de 2008 a abril de 2010, nos estuários de Tramandaí e Lagoa dos Patos, foram realizadas coletas mensais em 04 pontos determinados por sua conformação para abranger as principais áreas de ocupação da espécie em ambos os estuários (Tavares, 1987, Oliveira, 2006) (Figuras 1 e 2):

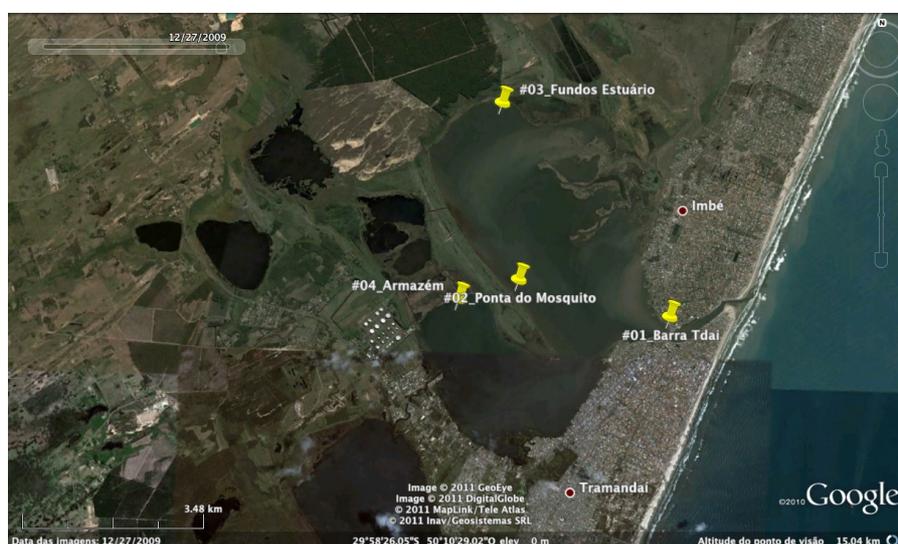


Figura 1. Complexo Estuarino Tramandaí-Armazém. Os pontos assinalados (01, 02, 03 e 04) fazem referência aos pontos de coleta realizados (fonte: Google Earth).



Figura 2. Estuário da Lagoa dos Patos. Os pontos assinalados (01, 02, 03 e 04) fazem referência aos pontos de coleta realizados (fonte: Google Earth).

Procurou-se, na medida do possível, encontrar pontos que fossem ecologicamente semelhantes em ambos os estuários. Estes pontos foram identificados segundo sua proximidade com a abertura do canal. O ponto 1 foi considerado “barra do estuário” por ser o mais próximo da desembocadura, o ponto 2 foi considerado “baixo estuário”, o ponto 3 “médio estuário” e o ponto 4 “interior do estuário”. Os pontos 1, 2 e 3 no estuário da Lagoa dos Patos correspondem à área com maior abundância de siris adultos, segundo Oliveira (2006). Já no estuário de Tramandaí, o ponto que corresponde à área de maior abundância de siris adultos é o 4 (saco do Armazém) (Tavares, 1987).

Tabela 1: locais de coleta com rede de renfro, nos estuários da Lagoa dos Patos e Tramandaí

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4
Lagoa dos Patos	Barra do estuário(Praia do Graxa): 32 9°37.43"S 52°4'56.18"W	Baixo Estuário (Entrada Saco da Mangueira): 32 3°49.49"S 52°5'3.23"W	Médio Estuário (Ponta da Marambaia): 32 31°59'53.31"S 52°5'45.07"W	Interior do Estuário (Saco do Mendanha): 32 31°56'56.56"S 52°1'0.47"W
Tramandaí	Barra do estuário: 29°58'52.01"S 50°8'1.04"W	Baixo Estuário (Ponta do Mosquito): 29°58'31.74"S 50°9'50.10"O	Médio Estuário (Fundos do Estuário): 29°56'41.69"S 50°10'6.01"W	Interior do Estuário (Saco do Armazém): 29°58'44.83"S 50°10'32.62"O

Foi utilizada uma rede do tipo Renfro com malha do copo coletor de 500 μ e malha da rede de 5mm entre nós opostos. A tralha inferior da rede é rígida e mede 1,8m. O cabo utilizado em Tramandaí tinha comprimento de 50 m, totalizando 90m² de área varrida, enquanto o cabo utilizado na Lagoa dos Patos tinha 36 m, totalizando 64m² de área varrida.

Em cada um dos 4 pontos de coleta foram feitos 4 arrastos, sendo dois na margem e dois no fundo. A profundidade do fundo foi sempre o dobro da profundidade da margem (e.g. 0,5 m na margem, 1,0 m no fundo), para evitar amostrar em pontos que tivessem variação de maré muito acentuados, como no estuário de Tramandaí.

Os animais coletados foram preservados em álcool 70° e a biometria constou da medição da largura da carapaça em milímetros, na maior distância entre os primeiros espinhos ântero-laterais (Figura 3). Foi utilizada esta medida, em detrimento da largura na ponta dos espinhos laterais devido ao fato de muitos apresentarem estes quebrados.

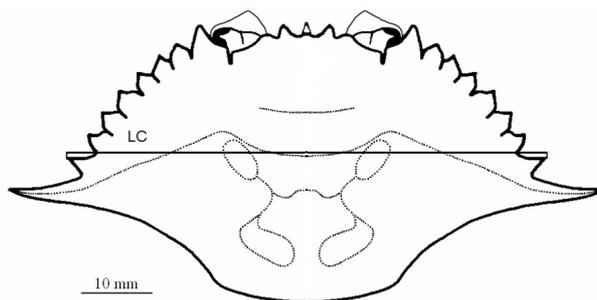


Figura 3 – *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896). Medida da largura de carapaça utilizada

Durante as coletas, os parâmetros ambientais salinidade do ponto e temperatura da água do ponto foram verificados com o auxílio de refratômetro ótico e termômetro de mão. Foram obtidos dados de pluviosidade diária, velocidade e direção do vento e temperatura do ar referentes à duas estações meteorológicas localizadas próximas aos pontos de coleta do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia www.inmet.gov.br). Em Tramandaí (A834): (Lat.: 30° 01' S Long.: 50° 08' W, Alt.:1.00 metros), e em Rio Grande (A802): (Lat.: 32° 02' S, Long.: 52° 06' W, Alt.:2.46 metros). Os animais foram separados de acordo com sua largura de carapaça em 4 coortes de tamanho, para refletir quatro coortes de juvenis, de acordo com Millikin & Williams, (1984) e Orth & van Montfrans (1987):

Coorte 1- Menores de 4,25 mm considerados recém assentados J1 e J2;

Coorte 2- >4,26 mm a 11,00 mm (J3 a J7),

Coorte 3- >11,01 mm até \leq 25,00 mm (J8 a J12)

Coorte 4- > 25,01 mm (juvenis mais velhos e adultos).

Estas coortes foram selecionadas para enfatizar a porção recém assentada (<4,25), recrutada (4,25 a 11,0 mm) e pós-recrutada (> 25,01mm) da população. Os dados foram agrupados mensalmente para cada um dos pontos de coleta, e as análises foram feitas nas quatro coortes (Orth & van Montfrans, 1987).

A captura por unidade de área (CPUA) constou do número mensal de siris por coorte dividido pelo número de arrastos realizados no mês dividido pelo total da área varrida (90m² em Tramandaí e 64,8 m² no estuário da Lagoa dos Patos). Os dados de CPUA foram transformados segundo a função ($\log_{10}+1,1$), para reduzir o número de zeros.

Os dados obtidos foram categorizados em duas análises: Regressão Múltipla e ANOVA de medidas repetidas.

A primeira análise foi montada para a comparação mensal entre os dados ambientais e a abundância de organismos nos estuários (todas as amostras agrupadas por local e separadas por coorte). Foi realizada uma análise de regressão múltipla nos dados de densidade de indivíduos mensal, salinidade, temperatura do ar, temperatura da água e pluviosidade, a fim de verificar qual variável ambiental teria mais influência no recrutamento dos juvenis das três coortes utilizadas ($p < 0.05$). A CPUA das coortes adjacentes foi utilizada para estabelecer a influência da coorte anterior na captura da coorte posterior. Então para a coorte 3 foram utilizadas as coortes 1 e 2, e para a coorte 2 foi utilizada a coorte 1. Foram utilizadas médias da temperatura da água, salinidade e pluviosidade de 10 dias antes da coleta para homogeneizar o dado e evitar que possíveis picos isolados influenciassem na análise. A variável dependente da análise foi a CPUA total obtida para cada coorte no mês. As variáveis independentes utilizadas foram a temperatura da água (Celsius), a salinidade do ponto, a pluviosidade (mm/3h), e as coortes adjacentes.

A segunda análise foi montada para comparação dentro dos estuários (amostras separadas por ponto de coleta e por estrato de profundidade); Os dados brutos de coleta foram agrupados mensalmente para a verificação de diferenças entre a abundância calculada para cada coorte e para cada local foi utilizada Análise de

variância de medidas repetidas, visto que cada coleta tinha uma réplica no mesmo local. ANOVA - Repeated Measures (Ende, 2001). Foi montada uma tabela de distribuição levando em consideração o estuário (1- Tramandaí; 2- Lagoa dos Patos), o mês (18 meses de coleta), pontos de captura (1, 2, 3 e 4 descritos acima) e a profundidade (1- margem ou 2- fundo) e o número bruto de indivíduos de cada uma das coortes utilizadas (1, 2, 3 e 4). A coorte 4, por incluir indivíduos a partir de 25.1mm LC foi excluída das análises, por apresentar grande variância, englobando indivíduos desde 25.1mm LC até extremos de 150.0mm LC, que teriam demandas ambientais diferentes. Foram comparadas as capturas em cada coorte relacionadas com os descritores (mês, profundidade e ponto) em cada um dos estuários separados para verificar se as interações isoladas se repetiriam quando agrupadas para os dois estuários. Os dados foram comparados através de análise de variância e Tukey (Statistica 6.0 - Statsoft, 2001).

Resultados

Estuário de Tramandaí

Foram encontrados siris da coorte 1 entre novembro de 2008 e março de 2009. Também uma entrada pequena em julho de 2009, e uma nova entrada somente a partir de janeiro de 2010, apesar de menor do que a entrada do primeiro período (Figura 4). Foram encontrados juvenis da coorte 2 nos meses que se seguiram ao aparecimento da primeira coorte. O mesmo acontecendo com a terceira coorte, indicando que o recrutamento foi bem sucedido. No ponto 2 foram coletados grande quantidade de talos de macrófitas aquáticas e restos de matéria vegetal em decomposição.

Pela regressão múltipla realizada entre os dados de densidade de indivíduos por mês e os dados abióticos, foi estabelecido que a abundância na coorte 3 não está relacionada com nenhuma das variáveis ambientais, mas depende somente da coorte 2. Já a coorte 2 está relacionada positivamente com a coorte 1 e com a temperatura. A coorte 1 se relacionou positivamente somente com a temperatura (Tabela 2).

A análise de variância realizada entre as amostragens nas diferentes profundidades mostra que existem diferenças na distribuição das três coortes analisadas segundo a profundidade, sendo as três coortes mais abundantes na margem (Figura 5, Tabela 3). Segundo os pontos de coleta, em Tramandaí não foram encontradas diferenças significativas entre os pontos de coleta para a coorte 1. Para a coorte 2 foram encontradas diferenças entre os pontos 2 e 4. Para a coorte 3, o ponto 2

foi significativamente diferente dos outros pontos de coleta (Figura 6, Tabela 4). O ponto 2 (Ponta do Mosquito) parece ser o mais abundante para as coortes 2 e 3. Para as amostras de margem, existe uma diferença significativa entre as abundâncias, sendo que para a coorte 1, o ponto 1 é o mais abundante, significativamente diferente dos pontos 2 e 4, mas não do ponto 3. Para a coorte 2, a margem do ponto 2 é o mais abundante, significativamente diferente dos pontos 3 e 4, apesar de não ser significativamente diferente do ponto 1. Para a coorte 3 o padrão também se manteve, com o ponto 2 sendo o mais abundante, significativamente diferente de todos os outros (Figura 7, Tabela 5). Para as amostras do fundo não foram encontradas diferenças significativas entre os quatro pontos amostrados para as três coortes amostradas.

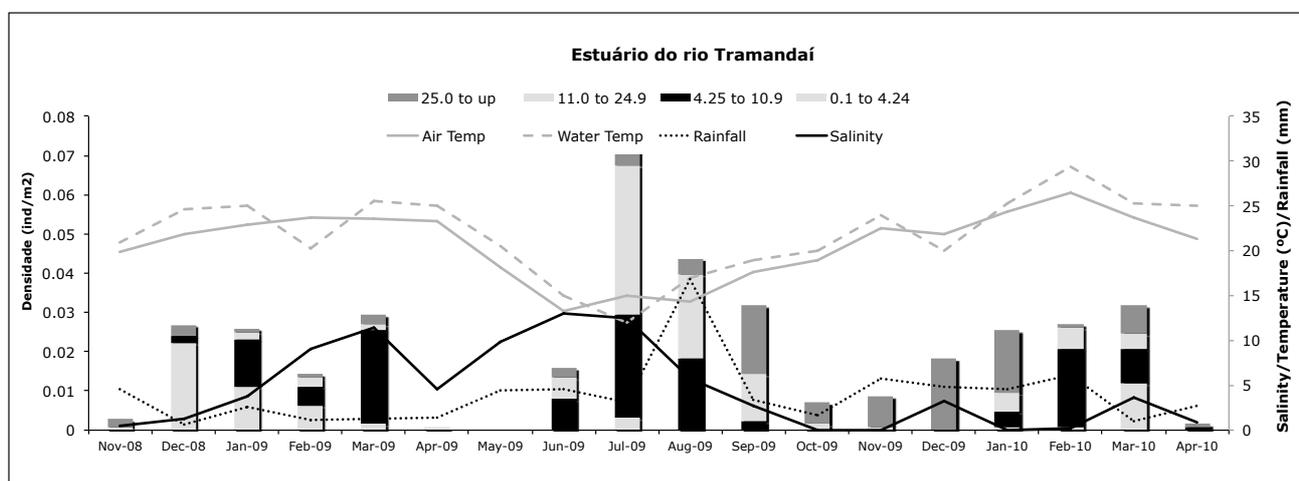


Figura 4. CUPA das quatro coortes de *Callinectes sapidus* juvenis coletados no estuário do rio Tramandaí, agrupado mensalmente, e acréscimo de dados ambientais salinidade, temperatura e chuva.

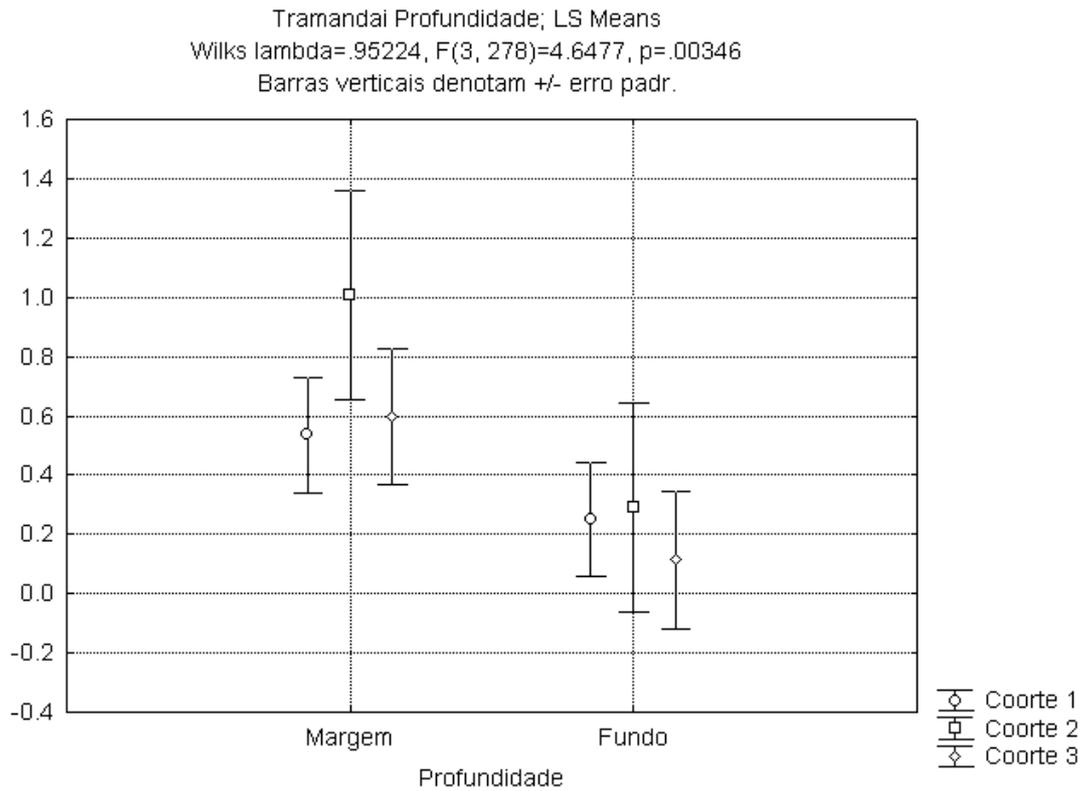


Figura 5. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário de Tramandai agrupado por coortes e por profundidade. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%).

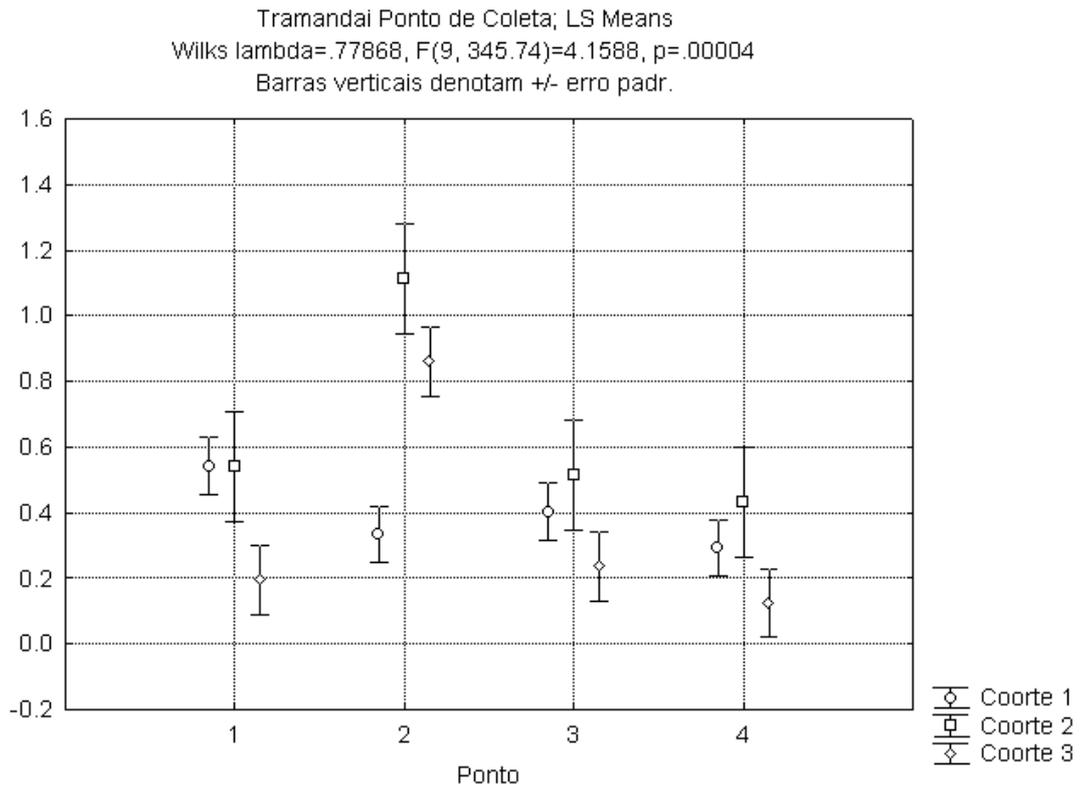


Figura 6. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário de Tramandaí agrupado por coortes e por ponto de coleta. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Os pontos de coleta estão descritos na Tabela 1.

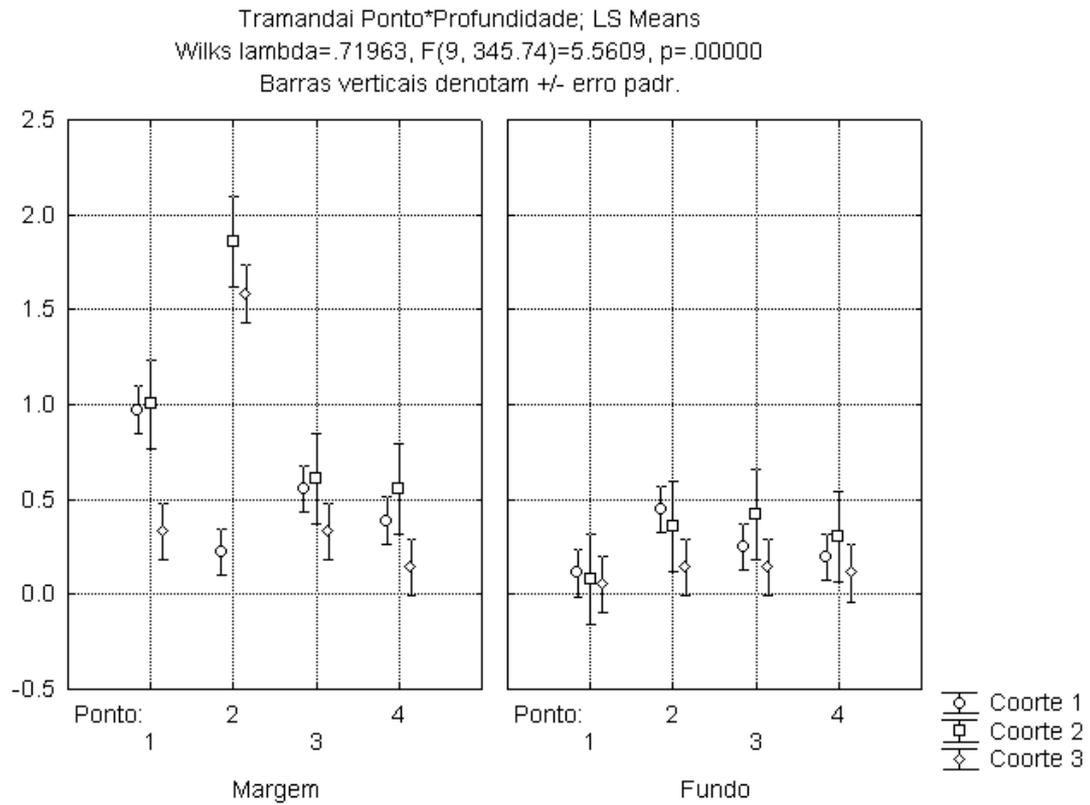


Figura 7. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário de Tramandaí agrupado por coortes, por profundidade e por ponto de coleta. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Os pontos estão descritos no texto.

Estuário da Lagoa dos Patos.

Foram encontrados siris da coorte 1 nos meses de dezembro/08, janeiro e abril de 2009. Também uma entrada pequena em julho e agosto de 2009, e uma nova entrada somente a partir de janeiro de 2010, apesar de menor do que a entrada de 2008/09, mas constante e com duração até abril de 2010 (Figura 8). O padrão de se encontrar juvenis da coorte 2 no mês seguinte ao do pico da coorte 1 se manteve nos três momentos em que se encontrou picos da coorte 1.

Pela regressão múltipla realizada entre os dados de densidade de indivíduos por mês e os dados abióticos encontrou-se que a abundância na coorte 3 depende mais da temperatura da água e da coorte 2. As coortes 1 e 2 não apresentaram correlação positiva com nenhum dos parâmetros utilizados na análise (Tabela 6).

A análise de variância realizada entre as amostragens nas diferentes profundidades não mostra diferenças significativas na distribuição da coorte 1, mostra diferença não significativa para a coorte 2, e que a coorte 3 se encontra significativamente mais na margem do que no fundo (Figura 9, Tabela 7). Segundo os pontos de coleta, na Lagoa dos Patos não foram encontradas diferenças significativas entre os pontos de coleta para a coorte 1. Para a coorte 2, foram encontradas diferenças significativas entre os pontos 4 e 1 e 4 e 2. Para a coorte 3 também os pontos 3 e 4 foram significativamente diferentes dos pontos 1 e 2, indicando assentamento de juvenis entre 11,0 e 25,0mm LC nas regiões da Marambaia e Bandeirinhas (médio e alto estuário) (Figura 10, Tabela 8). Para as amostras da margem, não foram encontradas diferenças significativas entre as entre as abundâncias da coorte 1. Para as coortes 2 e 3 o ponto 3 foi significativamente mais abundante do que os outros. Para as amostras do fundo não foram encontradas diferenças significativas entre os quatro pontos amostrados para as três coortes amostradas (Figura 11, Tabela 9).

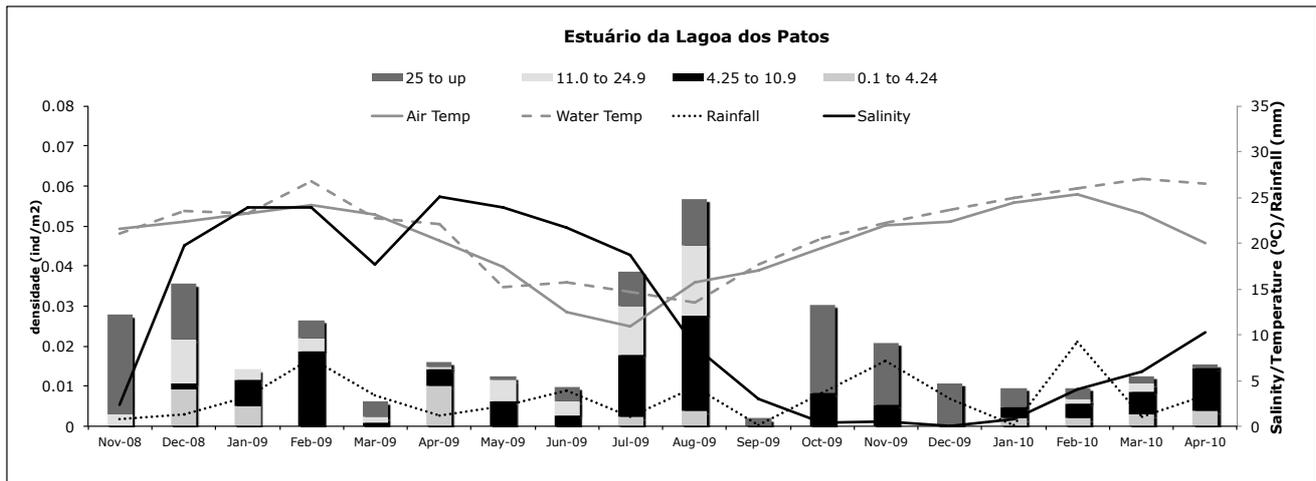


Figura 8. CPUA das quatro coortes de *Callinectes sapidus* juvenis coletadas no estuário da Lagoa dos Patos, agrupado mensalmente, e acrescido de dados ambientais salinidade, temperatura e chuva.

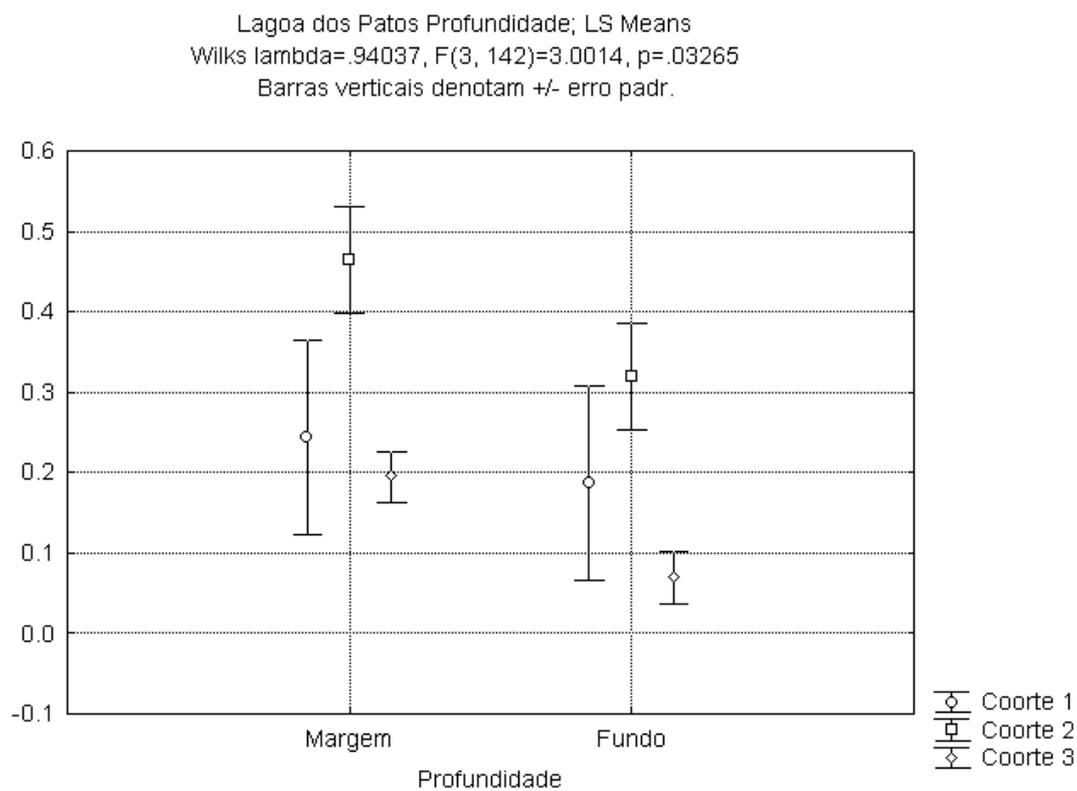


Figura 9. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos agrupado por coortes e por profundidade. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%).

Lagoa dos Patos Ponto; LS Means
 Wilks lambda= .70914, F(9, 345.74)=5.8269, p=.00000
 Barras verticais denotam +/- erro padr.

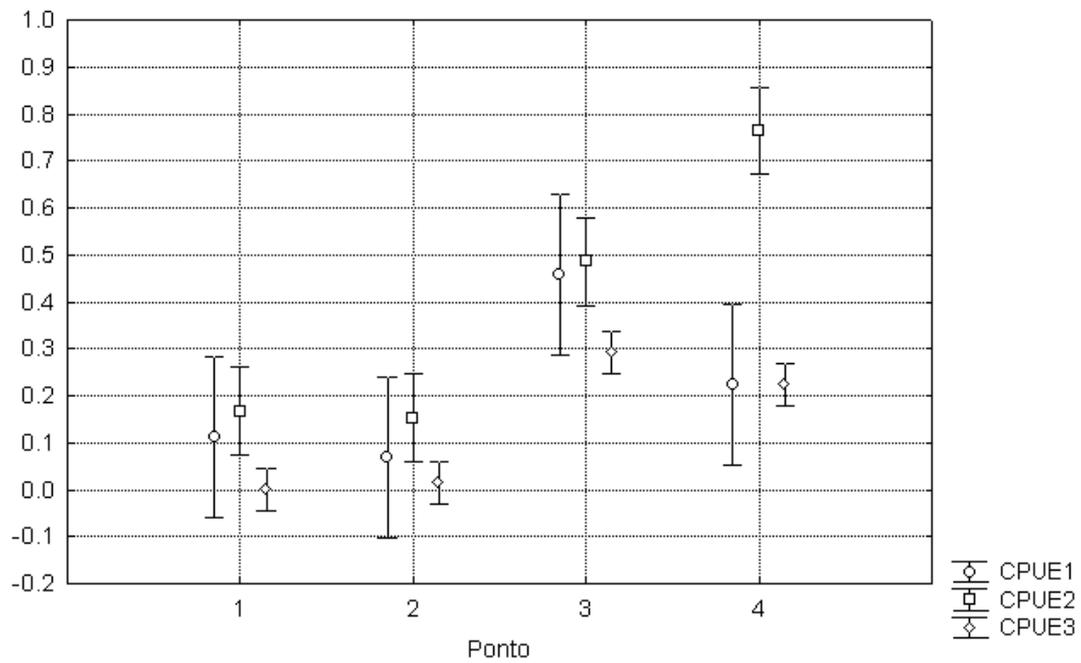


Figura 10. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos agrupado por coortes e por ponto de coleta. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Os pontos de coleta estão descritos na Tabela 1.

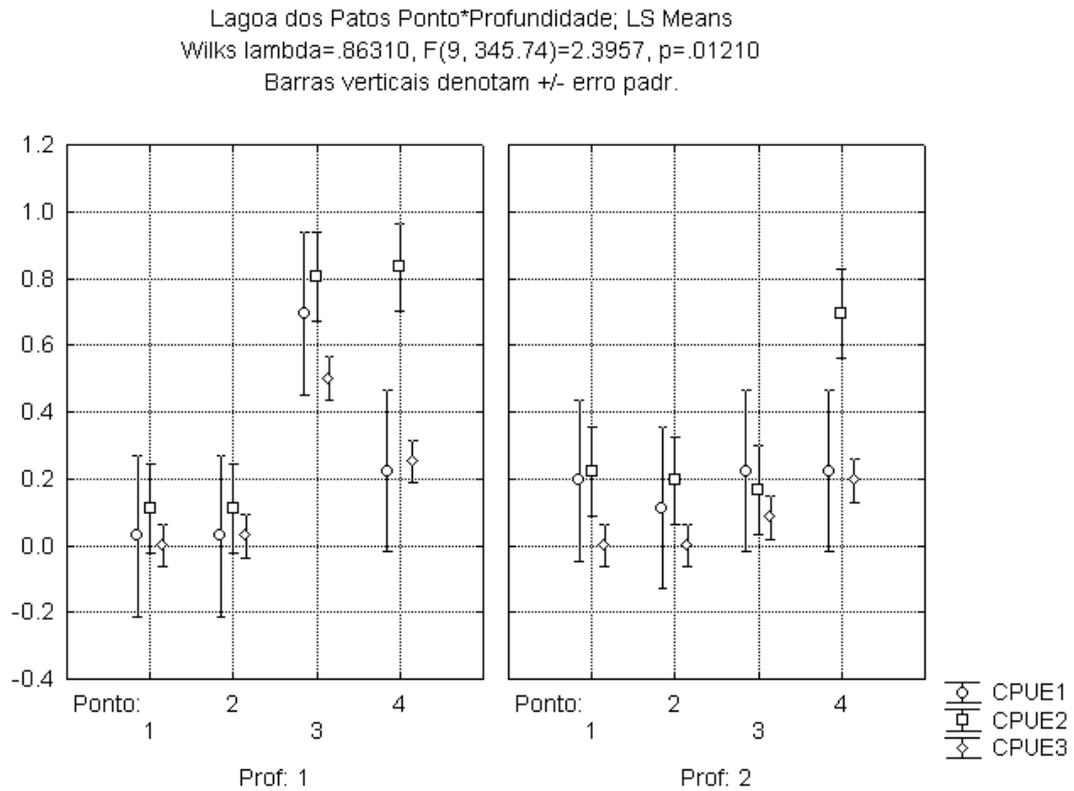


Figura 11. Abundância de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos agrupado por coortes, por profundidade e por ponto de coleta. Média dos mínimos quadrados. Os pontos centrais são a média de densidade, e as barras representam o intervalo de confiança (95%). Os pontos estão descritos no texto.

Tabela 2. Sumário da regressão múltipla realizada para os dados de abundância de *C. sapidus* no estuário de Tramandaí e os dados ambientais temperatura do ar, temperatura da água, salinidade e chuva.

Sumário da Regressão para a variável dependente: CPUA 3						
F(4,67)=15.961 p<0.00000 Erro padrão do estimador: 0.00294						
	Beta	Err. Padr Beta	B	Err. Padr B	t (67)	p-level
Intercept			0.038	0.005	8.065	0.000
CPUA2 log	0.615	0.096	0.391	0.061	6.371	0.000
CPUA1 log	-0.189	0.098	-0.215	0.112	-1.926	0.058
Temp. Agua	-0.187	0.097	0.000	0.000	-1.937	0.057
Chuva	0.156	0.089	0.000	0.000	1.760	0.083
Sumário da Regressão para a variável dependente: CPUA 2						
F(4,67)=4.0698 p<0.00517 Erro padrão do estimador: 0.00578						
	Beta	Err. Padr Beta	B	Err. Padr B	t (67)	p-level
Intercept			0.023	0.009	2.585	0.012
CPUA1 log	0.362	0.115	0.646	0.205	3.150	0.002
Temp. Agua	-0.269	0.124	0.000	0.000	-2.169	0.034
Chuva	0.144	0.113	0.000	0.000	1.268	0.209
Salinidade	0.144	0.122	0.000	0.000	1.183	0.241
Sumário da Regressão para a variável dependente: CPUA 1						
F(1,70)=5.8102 p<0.01856 Erro padrão do estimador: 0.00339						
	Beta	Err. Padr Beta	B	Err. Padr B	t (67)	p-level
Intercept			0.038	0.002	18.175	0.000
Temp. Agua	0.277	0.115	0.000	0.000	2.410	0.019

Tabela 3. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário de Tramandaí (p<0.005) agrupadas por profundidade.

Coorte 1		Coorte 2		Coorte 3	
Erro: Entre		Erro: Entre		Erro: Entre	
MS = 0.53819, gl = 144.00		MS = 2.0382, gl = 144.00		MS = 0.79861, gl = 144.00	
Prof.		margem	fundo	margem	fundo
margem			0.0009		0.00001
fundo	0.0009	0.00002		0.00001	

Tabela 4. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário de Tramandaí ($p < 0.005$) agrupadas por ponto de coleta.

Tramandaí Ponto de Coleta				
Coorte 1 Erro: Entre MS = 0.53819, gl = 144.00				
Ponto	1	2	3	4
1		0.322	0.667	0.172
2	0.322		0.942	0.986
3	0.667	0.942		0.800
4	0.172	0.986	0.800	
Coorte 2 Erro: Entre MS = 2.0382, gl = 144.00				
Ponto	1	2	3	4
1		0.078	0.999	0.966
2	0.078		0.058	0.022
3	0.999	0.058		0.985
4	0.966	0.022	0.985	
Coorte 3 Erro: Entre MS = 0.79861, gl = 144.00				
Ponto	1	2	3	4
1		0.000	0.992	0.966
2	0.000		0.000	0.000
3	0.992	0.000		0.878
4	0.966	0.000	0.878	

Tabela 5. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário de Tramandaí ($p < 0.005$) agrupadas por profundidade e por ponto de coleta.

Coorte 1 Erro: Entre MS = .53819, gl = 144.00								
Ponto/Prof.	1 margem	1 fundo	2 margem	2 fundo	3 margem	3 fundo	4 margem	4 fundo
1 margem		0.000	0.000	0.047	0.236	0.001	0.017	0.000
1 fundo	0.000		0.998	0.532	0.167	0.993	0.747	1.000
2 margem	0.000	0.998		0.905	0.532	1.000	0.979	1.000
2 fundo	0.047	0.532	0.905		0.998	0.952	1.000	0.836
3 margem	0.236	0.167	0.532	0.998		0.643	0.979	0.422
3 fundo	0.001	0.993	1.000	0.952	0.643		0.993	1.000
4 margem	0.017	0.747	0.979	1.000	0.979	0.993		0.952
4 fundo	0.000	1.000	1.000	0.836	0.422	1.000	0.952	
Coorte 2 Erro: Entre MS = 2.0382, gl = 144.00								
1 margem		0.115	0.171	0.552	0.944	0.665	0.891	0.439
1 fundo	0.115		0.000	0.992	0.769	0.976	0.856	0.998
2 margem	0.171	0.000		0.000	0.005	0.000	0.003	0.000
2 fundo	0.552	0.992	0.000		0.996	1.000	0.999	1.000
3 margem	0.944	0.769	0.005	0.996		0.999	1.000	0.985
3 fundo	0.665	0.976	0.000	1.000	0.999		1.000	1.000
4 margem	0.891	0.856	0.003	0.999	1.000	1.000		0.996
4 fundo	0.439	0.998	0.000	1.000	0.985	1.000	0.996	
Coorte 3 Erro: Entre MS = .79861, gl = 144.00								
1 margem		0.892	0.000	0.984	1.000	0.984	0.984	0.966
1 fundo	0.892		0.000	1.000	0.892	1.000	1.000	1.000
2 margem	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2 fundo	0.984	1.000	0.000		0.984	1.000	1.000	1.000
3 margem	1.000	0.892	0.000	0.984		0.984	0.984	0.966
3 fundo	0.984	1.000	0.000	1.000	0.984		1.000	1.000
4 margem	0.984	1.000	0.000	1.000	0.984	1.000		1.000
4 fundo	0.966	1.000	0.000	1.000	0.966	1.000	1.000	

Tabela 6. Sumário da regressão múltipla realizada para os dados de abundância de *C. sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos e os dados ambientais temperatura da água, salinidade e chuva.

Sumário da Regressão para a variável dependente: CPUA 3						
F(3,68)=25.824 $p < 0.00000$ Erro padrão do estimador: 0.00129						
	Beta	Err. Padr Beta	B	Err. Padr B	t(67)	p-level
Intercept			0.034	0.002	19.526	0.000
CPUA2 log	0.627	0.085	0.254	0.034	7.399	0.000
Temp. Agua	-0.336	0.085	0.000	0.000	-3.951	0.000
Salinidade	-0.135	0.086	0.000	0.000	-1.579	0.119

Sumário da Regressão para a variável dependente: CPUA 2						
F(3,68)=1.7246 $p < 0.17015$ Erro padrão do estimador: 0.00447						
	Beta	Err. Padr Beta	B	Err. Padr B	t(67)	p-level
Intercept			0.045	0.003	15.394	0.000
Salinidade	0.159	0.119	0.000	0.000	1.332	0.187
Chuva	0.168	0.120	0.000	0.000	1.398	0.167
Temp. Agua	-0.143	0.123	0.000	0.000	-1.168	0.247

Sumário da Regressão para a variável dependente: CPUA 1						
F(2,69)=1.7234 $p < 0.18604$ Erro padrão do estimador: 0.00465						
	Beta	Err. Padr Beta	B	Err. Padr B	t(67)	p-level
Intercept			0.042	0.001	38.649	0.000
Salinidade	0.181	0.118	0.000	0.000	1.540	0.128
Chuva	-0.119	0.118	0.000	0.000	-1.013	0.315

Tabela 7. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário da Lagoa dos Patos ($p < 0.005$) agrupadas por profundidade.

Coorte 1			Coorte 2			Coorte 3		
Erro: Entre			Erro: Entre			Erro: Entre		
MS = 2.1042, gl = 144.00			MS = .62847, gl = 144.00			MS = .14583, gl = 144.00		
Prof.	margem	fundo	margem	fundo	margem	fundo	margem	fundo
margem		0.745		0.118554				0.005495
fundo	0.745		0.118554		0.005495			

Tabela 8. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário da Lagoa dos Patos ($p < 0.005$) agrupadas por ponto de coleta.

Lagoa dos Patos Ponto de Coleta				
Coorte 1 Erro: Entre MS = 2.1042, gl = 144.00				
Ponto	1	2	3	4
1		0.998	0.477	0.968
2	0.998		0.374	0.922
3	0.477	0.374		0.763
4	0.968	0.922	0.763	
Coorte 2 Erro: Entre MS = .62847, gl = 144.00				
Ponto	1	2	3	4
1		1.000	0.074	0.000
2	1.000		0.056	0.000
3	0.074	0.056		0.152
4	0.000	0.000	0.152	
Coorte 3 Erro: Entre MS = .14583, gl = 144.00				
Ponto	1	2	3	4
1		0.996	0.000	0.003
2	0.996		0.000	0.006
3	0.000	0.000		0.695
4	0.003	0.006	0.695	

Tabela 9. Sumário dos resultados do teste de Tukey aplicado para as amostras realizadas no estuário da Lagoa dos Patos ($p < 0.005$) agrupadas por profundidade e por ponto de coleta.

Coorte 1 Erro: Entre MS = 2.1042, gl = 144.00								
Ponto*Prof.	1 margem	1 fundo	2 margem	2 fundo	3 margem	3 fundo	4 margem	4 fundo
1 margem		1.000	1.000	1.000	0.516	0.999	0.999	0.999
1 fundo	1.000		1.000	1.000	0.827	1.000	1.000	1.000
2 margem	1.000	1.000		1.000	0.516	0.999	0.999	0.999
2 fundo	1.000	1.000	1.000		0.683	1.000	1.000	1.000
3 margem	0.516	0.827	0.516	0.683		0.866	0.866	0.866
3 fundo	0.999	1.000	0.999	1.000	0.866		1.000	1.000
4 margem	0.999	1.000	0.999	1.000	0.866	1.000		1.000
4 fundo	0.999	1.000	0.999	1.000	0.866	1.000	1.000	
Coorte 2 Erro: Entre MS = .62847, gl = 144.00								
1 margem		0.999	1.000	1.000	0.005	1.000	0.003	0.038
1 fundo	0.999		0.999	1.000	0.038	1.000	0.024	0.184
2 margem	1.000	0.999		1.000	0.005	1.000	0.003	0.038
2 fundo	1.000	1.000	1.000		0.024	1.000	0.015	0.130
3 margem	0.005	0.038	0.005	0.024		0.015	1.000	0.999
3 fundo	1.000	1.000	1.000	1.000	0.015		0.009	0.089
4 margem	0.003	0.024	0.003	0.015	1.000	0.009		0.996
4 fundo	0.038	0.184	0.038	0.130	0.999	0.089	0.996	
Coorte 3 Erro: Entre MS = .14583, gl = 144.00								
1 margem		1.000	1.000	1.000	0.000	0.984	0.101	0.376
1 fundo	1.000		1.000	1.000	0.000	0.984	0.101	0.376
2 margem	1.000	1.000		1.000	0.000	0.999	0.209	0.584
2 fundo	1.000	1.000	1.000		0.000	0.984	0.101	0.376
3 margem	0.000	0.000	0.000	0.000		0.000	0.101	0.016
3 fundo	0.984	0.984	0.999	0.984	0.000		0.584	0.922
4 margem	0.101	0.101	0.209	0.101	0.101	0.584		0.999
4 fundo	0.376	0.376	0.584	0.376	0.016	0.922	0.999	

Discussão

Foram encontradas duas entradas de juvenis por temporada reprodutiva em ambos os estuários. Na temporada 2008/2009, a primeira entrada correspondeu ao período de desova descrito na literatura, durante o período de verão (dezembro de 2008 a fevereiro de 2009) (Jivoff *et al.*, 2007). Foi encontrada uma segunda entrada de indivíduos da primeira coorte em julho de 2009, o que pode ser fruto de uma desova tardia das fêmeas de siri-azul.

Rodrigues *et al.* (*in press.*), estabeleceram que no estuário da Lagoa dos Patos o aparecimento de fêmeas ovígeras se relaciona positivamente com a temperatura da água. Os autores também relatam que no ano de 2009 foram encontradas fêmeas ovígeras até maio. Uma desova nesta época poderia explicar o aparecimento de juvenis das coortes 1 e 2 nos meses de inverno.

Para o estuário de Tramandaí não existem dados sobre abundância de fêmeas ovígeras mas foram encontradas as coortes 1 e 2 durante o período de inverno de 2009, o que sugere que ocorra evento semelhante.

Na temporada reprodutiva de 2008/2009, a desova aconteceu de maneira normal, com as fêmeas liberando suas larvas durante o período de verão (Rodrigues *et al.*, *in press.*) Durante a temporada reprodutiva de 2009/2010, o recrutamento dos juvenis das coortes 1 e 2 se deslocou em ambos os estuários do verão (2009) para o outono (2010) (Figuras 4 e 8). Isso pode estar ligado ao fato de o índice pluviométrico mensal ter sido mais alto nas bacias de drenagem que desembocam em ambos os estuários. Segundo dados da NOAA (www.noaa.gov), o ano de 2008 apresentou o resfriamento anômalo das águas do Oceano Pacífico, chamado de fenômeno La Niña (LNSO) de intensidade fraca, que se iniciou em julho de 2007 e que durou até abril de 2009. A partir daí foi registrado o aquecimento anômalo das águas do Pacífico, chamado de fenômeno El Niño (ENSO), de intensidade moderada e com duração até abril de 2010. As características do fenômeno La Niña são verões com temperaturas abaixo do normal e invernos mais secos no Sul do Brasil. Já no fenômeno El Niño as características são aumento na temperatura média e na precipitação, principalmente nos meses de Primavera e entre maio e julho (Piola *et al.*, 2004).

Se a descarga de água doce proveniente desse aumento de precipitação for grande, as fêmeas tendem a migrar para regiões mais distantes da entrada dos estuários, buscando salinidades mais altas para liberar seus ovos. As zoeas e megalopas de *C. sapidus* necessitam de salinidades mais altas para seu correto

desenvolvimento. Uma vez que estas larvas estão em oceano aberto e as correntes de entrada de água salgada são de menor intensidade durante estes períodos, elas podem ficar presas na parte oceânica, o que pode impedir que completem seu ciclo de vida.

No estuário de Tramandaí a temperatura da água, foi importante para a distribuição e abundância das coortes 1 e 2. As coortes 2 e 3 são influenciadas pela distribuição das coortes adjacentes. A temperatura da água, em um estuário raso é fundamental para a distribuição efetiva das populações estuarinas. A profundidade média no estuário de Tramandaí é de 1,5m (Zeltzer, 1976), o que pode fazer com que a temperatura da água no estuário varie rapidamente com as variações diárias de temperatura. A temperatura pode ter influência direta na distribuição dos organismos estuarinos (Orth & Montfrans, 1987), e *Callinectes sapidus* parece ter preferência por temperaturas mais altas para assentamento.

No estuário da Lagoa dos Patos a temperatura da água também foi o fator determinante para o recrutamento da coorte 3. O fato de não ter sido encontrada correlação positiva com a salinidade pode ser justificado pela fisiologia dos juvenis, já não tão dependentes da salinidade quanto as zoeas e megalopas, e também pelo tamanho do estuário, com dimensões muito maiores do que o estuário de Tramandaí (18,4km² em Tramandaí, contra 963km² na Lagoa dos Patos). Então, variações de salinidade podem não ter reflexo direto no assentamento dos juvenis, visto que o tempo de residência da água é maior. Monteiro *et al.* (2005) trabalhando com modelagem de elementos finitos (TELEMAC) na enseada do Saco da Mangueira encontraram um tempo de resposta de 26 horas em relação ao regime de enchente no estuário, o que pode dar uma noção do atraso que existe nos processos de enchente/esvaziamento.

O fato de a coorte 1 não ter apresentado correlação com nenhum dos parâmetros ambientais reflete o estágio de megalopa, que penetra passivamente no estuário através de seleção de correntes de água salgada que penetram em ambos os estuários. O amostrador não parece ser muito eficiente para coletar esta coorte, pela baixa densidade de captura.

Em Tramandaí os siris de todas as coortes preferem as baixas profundidades para recrutar, corroborando com dados de Lipcius *et al.* (2007) e indicando que a proteção dos ambientes de margem é fundamental para o sucesso do recrutamento. Apesar de não ter sido encontrado o mesmo padrão para o estuário da Lagoa dos Patos, a preferência da coorte 2 pela margem é marginalmente significativa, o que

implica em uma tendência ecológica a diferenciar as profundidades para estas coortes. As coortes 2 e 3, então, podem ser consideradas as coortes que assentam nas margens, representando indivíduos desde J3 até J12.

No estuário de Tramandaí, os siris da coorte 1, que é composta principalmente das coortes J1 e J2 foram mais abundantes na região da barra, o que se explica pelo fato de ser o local por onde os siris retornam ao estuário, a fim de assentar (Lipcius *et al.*, 2007). O ponto 2 é o mais importante para o assentamento das coortes 2 e 3. Este ponto é bastante propício para isso, pelo grande acúmulo de material como folhas e talos de macrófitas encontrados nas amostragens. Apesar da salinidade se manter mais constante no ponto 4 (Armazém) o ponto 2 é um local com dinâmica menos acentuada, se tornando propício para o assentamento dos juvenis.

No estuário da Lagoa dos Patos, nota-se a clara preferência de todas as coortes de tamanho analisadas pelos pontos 3 e 4, com o ponto 3 sendo o mais importante para a coorte 1 e 3, e o ponto 4 o mais importante para a coorte 2. Os pontos 3 e 4 são pontos mais internos do estuário, sofrem processos de movimentação de menor intensidade, comparados aos pontos mais externos. O ponto 3 (Marambaia) é um local mais protegido da ação das ondas do que a desembocadura do estuário (Hartmann & Schettini, 1991), que se torna mais apropriado para o assentamento de juvenis das coortes 2 e 3.

Oliveira (2006), trabalhando com dieta e preferências alimentares de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos encontrou que o item alimentar mais abundante no conteúdo estomacal é detrito, seguido pelo molusco filtrador *Erodona mactroides* Bosc, 1802 (Erodonidae). Também crustáceos da classe Ostracoda, poliquetos e sementes das macrófitas *Ruppia maritima* e *Zannichellia palustris*. Os pontos 2 no estuário de Tramandaí e 3 e 4 no estuário da Lagoa dos Patos apresentam essas condições, tornando-os locais propícios para o recrutamento dos juvenis das coortes 2 e 3.

Existe uma relativa falta de atenção ao papel da dispersão dos juvenis na fase pós-assentamento, e na maneira como esta dispersão pode influenciar a dinâmica populacional local e regional (Palmer *et al.*, 1996). Penry (1982) encontrou altas densidades do siri azul *Callinectes sapidus* (<25mm) trabalhando em áreas vegetadas. Orth & Montfrans (1987) trabalhando na parte baixa do estuário da baía de Chesapeake, separaram os juvenis de siris em três coortes de tamanho e concluíram que o assentamento dos recrutas ocorre pelas megalopas entre Agosto e Dezembro

(final do Verão, Outono e início do Inverno no hemisfério Norte). Embora em alguns casos, as coortes mais jovens de siri-azul possam migrar para fora de áreas vegetadas para evitar o canibalismo denso-dependente, predação e limitação de alimento (Lipcius *et al.*, 2007)

Foram escolhidos locais sem a cobertura vegetal típica de marismas, a fim de amostrar locais para onde os siris migrassem após passar pelo gargalo da mortalidade larval e juvenil nas pradarias de *Ruppia maritima*, onde o índice de mortalidade por predação e canibalismo é grande (Penry, 1982). Locais não vegetados e habitats adjacentes a marismas são áreas de grande valor para o desenvolvimento do siri-azul, quase igualando sua importância a áreas cobertas por pradarias submersas (Posey *et al.*, 2005, Seitz *et al.*, 2005). A grande abundância de siris das coortes 2 e 3 comprova a importância destas áreas para o desenvolvimento e estabelecimento das populações de *C. sapidus* em ambos os estuários.

Quando se separou o efeito da profundidade, pode-se estabelecer que a margem do ponto 2 no estuário de Tramandaí e a margem do ponto 3 no estuário da Lagoa dos Patos são pontos críticos para o assentamento dos juvenis de *C. sapidus*.

Apesar de estudos comparando as amostragens por sucção com as amostragens por arrasto mostrarem que as primeiras chegam a uma eficiência de 88% (Orth & van Montfrans, 1984), com relação a abundância de siris a diferença chega a uma ordem de magnitude. No presente trabalho foi utilizada a rede de arrasto, a fim de evitar distorções nas capturas.

A mortalidade de inverno dos juvenis pode ter um importante papel na regulação das populações de siri azul. A sobrevivência dos juvenis ao inverno varia com sua dinâmica espacial, e com a severidade. Pequenos juvenis também estão em maior risco de morrer durante o inverno do que juvenis maiores (Bauer & Miller, 2010). Apesar disso foram encontradas as coortes 1, 2 e 3 no inverno, possivelmente por aumento de temperatura relacionados ao fenômeno La Niña, que possibilitaram que a desova tardia das fêmeas de *Callinectes sapidus* tivesse sucesso em retornar aos estuários da Lagoa dos Patos e Tramandaí.

Etherington & Eggleston (2003), trabalhando com recrutamento de *C. sapidus* no sistema estuarino Croatan, Albemarle & Pamlico, indicam que o recrutamento é extremamente dependente do tamanho dos indivíduos, o que resulta em dizer que o recrutamento de uma coorte, é resultado direto do recrutamento na coorte anterior, e assim por diante. Os autores também dão alto valor às características dos estuários

atuarem como berçários, e que a dispersão larval para estas áreas, é crucial para o estabelecimento das coortes de *C. sapidus*. Nos estuários de Tramandaí e da Lagoa dos Patos, os juvenis de *C. sapidus* parecem preferir áreas com alta disponibilidade de alimento, independente de estarem colonizados por pradarias submersas ou não.

O recrutamento de *C. sapidus* nos estuários de Tramandaí e da Lagoa dos Patos parece estar ligado diretamente às condições ambientais, e fenômenos meteorológicos como El Niño e La Niña, por sua capacidade de modificar temperatura e a distribuição e quantidade de chuvas em ambos os estuários.

Conclusões

A segunda entrada de juvenis em julho pode trazer nova luz aos conhecimentos da dinâmica larval de *C. sapidus* nos estuários da Lagoa dos Patos e do rio Tramandaí. O pico de recrutamento encontrado no inverno em ambos os estuários, apesar de baixo, representa uma nova entrada de indivíduos na população que pode ou não se estabelecer, dependendo da severidade do inverno. Anormalidades causadas pelos fenômenos El Niño e La Niña, que causam, respectivamente, maiores chuvas e maiores secas no Rio Grande do Sul, também influenciam na distribuição dos organismos e são, em parte, responsáveis pelo sucesso do recrutamento do siri azul. Também à qualidade dos locais de assentamento, de onde vai depender o sucesso e o estabelecimento das futuras coortes.

Bibliografia Referenciada

- Asmus, M.L., 1996. Coastal plain and Patos Lagoon. In Subtropical convergence environments, the coast and sea in the Southwestern Atlantic (ed. U. Seeliger, C. Odebrecht and J.P. Castello), pp. 9-12. Berlin: Springer.
- Bauer, L.J. & Miller, T.J. 2010. Temperature-, Salinity-, and Size-Dependent winter mortality of juvenile Blue Crabs (*Callinectes sapidus*). *Estuaries and Coasts* 33:668-677.
- Cafruni A.M.S, Krieger J, Seeliger U., 1978. Observação sobre *Ruppia maritima* L. no sul do Brasil. *Atlântica, Rio Grande*, 3:85-90
- Caley, M.J., Carr, M.H., Hixon, M.A., Hughes, T.P., Jones, G.P., and Menge, B.A. 1996. Recruitment and the local dynamics of open marine populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27:477–500.

- Capitoli, R.R.; Bemvenuti, C.E. & Gianuca, N.M. 1978. Estudos de ecologia bentônica na região estuarial da Lagoa dos Patos. I – As comunidades bentônicas. *Atlântica, Rio Grande*, 3: 5-22.
- Castello, J.P. & Möller, O.O.Jr., 1978. On the oceanographic conditions in the Rio Grande do Sul state. *Atlântica, Rio Grande*, 2(2):25-110.
- Caswell, H. 1978. Predator-mediated coexistence: a nonequilibrium model. *American Naturalist* 112:127-154.
- Costa, C.S.B. & Seeliger, U., 1989. Vertical distribution and resource allocation of *Ruppia maritima* L. in a Southern Brazilian Estuary. *Aquatic Botany* 33:123-129.
- D’Incao, F. 1984. Estudo sobre o crescimento de *Penaeus (Farfantepenaeus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 na Lagoa dos Patos, RS, Brasil. (Decapoda, Penaeidae). *Atlântica, Rio Grande*, 7:73-84.
- D’Incao, F. 1990. Mortalidade de *Penaeus (Farfantepenaeus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 no estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil. *Atlântica, Rio Grande*, 12(1):31-51.
- Ende, C.V., 2001. Repeated-measures analysis - Growth and other time-dependent measures. *in*. Scheiner, S. & Gurevitch, J. 2001. Design and Analysis of Ecological Experiments. *Oxford*, 432p.
- Epifanio, C. E. 2007. Biology of Larvae. Chapter 12 *in*: Kennedy, V.S. & Cronin, L.E. (eds). The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant. pp 513-528.
- Etherington, L.L. & Eggleston, D.B., 2003. Spatial dynamics of large-scale, multistage crab (*Callinectes sapidus*) dispersal: determinants and consequences for recruitment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 60:873-887.
- Forbes, A.T., Hay, D.G., 1988. Effects of a major cyclone on the abundance and larval recruitment of the portunid crab, *Scylla serrata* (Forsk.) in the St. Lucia estuary, Natal, South Africa. *South African Journal of Marine Science*, 7, 219–225.
- Garcia, C.A.E., 1996. Hydrographic characteristics. *In*: Seeliger, U., Odebrecht, C. and Castello, J. P. (eds.). Subtropical convergence environments, the coast and sea in the Southwestern Atlantic. Springer: Berlin, pp. 18-20
- Hartmann, C. & Schettini, C.A.F., 1991. Aspectos hidrológicos na desembocadura da Laguna dos Patos, RS. *Revista Brasileira de Geociências*. 21(4):371-377.

- Heck, K. L., Jr., Orth, R. J., 1980. Structural components of eelgrass (*Zostera marina*) meadows in the lower Chesapeake Bay - decapod crustacea. *Estuary* 3: 289-29
- Horn, H.S. 1983. Some theories about dispersal. In *The ecology of animal movement*. Edited by I.R. Swingland and P.J. Greenwood. Clarendon Press, Oxford. pp. 54-62.
- Hovel, K. A. & Lipcius, R. N. 2002. Effects of seagrass habitat fragmentation on juvenile blue crab survival and abundance. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 271:75-98
- Jivoff, P, Hines A.H. & Quackenbush, L.S. 2007. Reproduction Biology and Embryonic Development. Chapter 7 in: Kennedy, V.S. & Cronin, L.E. (eds). *The Blue Crab Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant.
- Kareiva P. 1990. Population dynamics in spatially complex environments: theory and data. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* 330:175-90
- Kjerfve, B. (1986). Comparative oceanography of coastal lagoons. In D. A. Wolfe (Ed.), *Estuarine variability* (pp. 63-81).
- Lambert, D.M., Lipcius, R.N. & Hoenig, J.M., 2006. Assessing effectiveness of the blue crab spawning stock sanctuary in Chesapeake Bay using tag-return methodology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 321:215-255.
- Lipcius, R.N. & Stockhausen, W.T., 2002. Concurrent decline of the spawning stock, recruitment, larval abundance, and size of the blue crab *Callinectes sapidus*, in Chesapeake Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 226:45-61.
- Lipcius, R.N., Eggleston, D.B., Heck, K.L. Jr., Seitz, R.D. & van Montfrans, J. 2007 Ecology of Postlarval and Young Juvenile Blue Crabs. in. V.S. Kennedy & L.E. Cronin, *The Blue Crab Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant College, Maryland, United States of America. Pp.451-484.
- Millikin, M. R., Williams, A. B., 1984. Synopsis of biological data on the blue crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun). NOAA Tech. Rep. NMFS 1, FAO Fisheries Synopsis No. 138, p. 1-39
- Monteiro, I.O., Pearson, M.L., Möller, O.O. Jr. & Fernandes, E.H.L., 2005. Hidrodinâmica do Saco da Mangueira: Mecanismos que controlam as trocas com o estuário da Lagoa dos Patos. *Atlântica, Rio Grande*, 27(2):87-101.
- NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration - United States Department of Commerce. www.noaa.gov. Acessado em 04 de novembro de 2011.

- Orth, R. J. & van Montfrans, J. 1987. Utilization of a seagrass meadow and tidal marsh creek by blue crabs *Callinectes sapidus*. I. Seasonal and annual variations in abundance with emphasis on post-settlement juveniles. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 41:283-294.
- Oliveira, A. R de, 2006. Bioecologia do Siri-Azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), na Região Estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Tese de Doutorado. Oceanografia Biológica, FURG, 172pp.
- Oliveira, A.R. de, Pinto, T.K., Santos, D.P.D. & D’Incao, F. 2006. Dieta natural do siri-azul *Callinectes sapidus* (Decapoda, Portunidae) na região estuarina da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Sér. Zool.* 96(3):305-313.
- Palmer, M.A., Allan, J.D., and Butman, C.A. 1996. Dispersal as a regional process affecting the local dynamics of marine and stream benthic invertebrates. *Trends Ecol. Evol.*, 11: 322–326.
- Penry, D.L. (1982) Utilization of a *Zostera marina* and *Ruppia maritima* habitat by four decapods with emphasis on *Callinectes sapidus*. Masters thesis, College of William and Mary, Williamsburg, VA.
- Piola, A.R., Möller., O.O.Jr., and Palma, E.D. (2004). El impacto del Plata sobre el oceano Atlántico. *Ciencia Hoy*, 14(2): 20-37.
- Posey, M. H.; Alphin, T. D.; Harwell, H. & Allen, B. 2005. Importance of low salinity areas for juvenile blue crabs, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), in river-dominated estuaries of southeastern United States. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 319(1-2):81-100.
- Roberts, C.M. 1997. Connectivity and management of Caribbean coral reefs. *Science (Wash., D.C.)*, 278: 1454–1457.
- Rodrigues, M.A., Heberle, M.F. & D’Incao, F. Fecundity Variation and Abundance of Female Blue Crabs *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Brachyura, Portunidae) in the Patos Lagoon Estuary, RS, Brazil. *Atlântica, Rio Grande (in press)*.
- Seitz, R. D.; Lipcius, R. N. & Seebo, M. S. 2005. Food availability and growth of the blue crab in seagrass and unvegetated nurseries of Chesapeake Bay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 319(1-2):57-68.
- Statsoft. 2001. Statistica: data analysis software system, version 6.0. Tulsa, StatSoft, Inc.

- Tavares, L. J., 1987. Estudo populacional, crescimento e distribuição do siri- azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) no estuário de Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brasil (Crustacea, Decapoda, Portunidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 162p.
- Tankersley, R.A. & Forward, R.B., 2007. Environmental Physiology. *in*. V.S. Kennedy & L.E. Cronin, The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant College, Maryland, United States of America. Pp.451-484.
- Weinstein, M.P, Brooks, H. A. (1983).Comparative ecology of nekton residing in a tidal creek and adjacent seagrass meadow: community composition and structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*,12: 15-27
- Wiens, J.A. 1995. Landscape mosaics and ecological theory. In Mo- saic landscapes and ecological processes. Edited by L. Hansson, L. Fahrig, and G. Merriam. Chapman & Hall, London. pp. 1–26.
- Zeltzer, F., Geologia e Paleogeografia da restinga da Laguna dos Patos, RS. Porto Alegre, 1976 (Dissertação Mestrado). Curso de Pós-Graduação em Geociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 118 p.

ANEXO III

Maturação Sexual e Relações Gonadais de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896)
(DECAPODA, BRACHYURA, PORTUNIDAE) no estuário da Lagoa dos Patos, RS

RODRIGUES, M.A.^{1,2} & D'INCAO, F.¹

¹Universidade Federal do Rio Grande – Instituto de Oceanografia - Laboratório de
Crustáceos Decápodos – Caixa Postal 474, CEP 96201-900 – Rio Grande – RS –
Brasil.

²alanizmarcos@gmail.com

Palavras-Chave: *Callinectes sapidus*, tamanho de primeira maturação, estuário da
Lagoa dos Patos, Reprodução.

Resumo

Neste trabalho foram determinados o estado reprodutivo e definidas as relações gonadais de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), no estuário e área oceânica adjacente da Lagoa dos Patos, RS, a partir de dados de captura por unidade de esforço e fecundidade. Foram determinados a relação gonadossomática, o estágio de maturação gonadal e a relação sazonal entre machos e fêmeas, a fim de verificar possíveis relações com os parâmetros ambientais. Foram realizadas coletas mensais entre abril de 2008 e abril de 2010. Os animais coletados foram levados para o laboratório para biometria e análise do período reprodutivo. Foram coletados 1802 indivíduos. O tamanho de primeira maturação (LC_{50}) do siri-azul foi estimado em 108 mm para machos e 115 mm de largura de carapaça para fêmeas. Houve um aumento na relação gonadossomática durante os meses de inverno, e uma diminuição durante os meses de verão. A relação gonadal permite inferir que o período de cópula e desenvolvimento gonadal está delimitado entre o inverno e a primavera. Pela proporção dos estádios de desenvolvimento das gônadas, a maior parte das fêmeas do início do inverno se apresenta com a gônada imatura, enquanto que no verão, a maioria das fêmeas analisadas possuía gônada em repouso, indicando desova. A espécie apresenta reprodução anual, com machos maturando com tamanho menor do que as fêmeas. Na temporada reprodutiva de 2008 nota-se um equilíbrio entre o número de machos e fêmeas no interior do estuário, o que não se repetiu na temporada de 2009, com diminuição do número de fêmeas, talvez pelo alto volume de chuvas registrado durante o período causando a migração de fêmeas em busca de salinidades mais elevadas para desova. *Callinectes sapidus* é sensível a alterações ambientais, e prolongados períodos de chuva combinados com outros fatores ambientais podem comprometer o estoque.

Palavras-Chave: siri-azul, *Callinectes sapidus*, reprodução, relações gonadais, Lagoa dos Patos.

Abstract

In this study were determined the reproductive state and defined the gonad relations of *Callinectes sapidus* on the estuary and oceanic adjacent area on the Patos Lagoon, RS, Brazil, from catch per unit of effort and fecundity data. Were determined the gonadosomatic relation, gonad maturation stage and the sex ratio, in order to verify possible relations with environmental parameters. Monthly samples were realized from April of 2008 to April of 2010. The collected animals were measured and analyzed for the reproductive period. A total of 1802 individuals were sampled. The size of carapace at first maturation (LC_{50}) of the blue crab was estimated in 108 mm for males and 115 mm for females. There was an increase in the gonadosomatic relation during winter months, and a decrease during summer months. The gonad relation allows inferring that the copula and gonad development is delimited between winter and spring. Through the analysis of the proportion of gonad development stage, the majority of the females from the beginning of winter presents immature gonad, whereas in the summer, the majority of analyzed females has gonad in rest, indicating spawning. The species presents annual reproduction, with males maturing at a smaller size than females. In the reproductive season of 2008, there was a balance between the sex ratio, what did not repeated in the 2009 season, with a decrease in the number of females, perhaps due to the high volume of rainfall recorded during the period, causing migration of females to higher salinities for spawning. *Callinectes sapidus* is sensitive to environmental alterations, and longer periods of rainfall combined with other factors like low salinity and temperature can compromise future breeds.

Keywords: blue crab, *Callinectes sapidus*, reproduction, gonad relations, sex ratio, Patos Lagoon.

Introdução

A fecundidade é um importante parâmetro para espécies de valor comercial, porque contribui para a determinação correta de parâmetros populacionais como o tamanho do estoque e o potencial reprodutivo (Mantelatto & Fransozo, 1997, Dumont & D’Incao, 2004). Para os portunídeos, como não existem características externas como cor ou tamanho que possam indicar de forma rápida e precisa o momento em que os indivíduos atingem a maturidade sexual, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos indiretos com grau de confiança satisfatório, que possam servir de subsídio no gerenciamento pesqueiro do recurso como a verificação da mudança de cor na gônada (Oliveira, 2005). Entre os braquiúros, existe variação considerável na fecundidade, podendo esta variar em função do tamanho do corpo das fêmeas (Hines, 1988). A fecundidade dos portunídeos no Brasil foi estudada para *Callinectes danae* (Branco & Avilar, 1992), para *Portunus spinimanus* Latreille, 1819 (Santos, 1994), *Callinectes ornatus* (Mantelatto & Fransozo 1997) e para *Callinectes sapidus* (Rodrigues *et al.*, *in press.*). A fecundidade é fator chave na sobrevivência da espécie e avaliar o estado da população reprodutivamente ativa tem reflexos diretos no recrutamento de *Callinectes sapidus*. Com relação à biologia reprodutiva de portunídeos no Brasil, podem ser citados trabalhos de Mantelatto & Fransozo (1997) e Mantelatto & Fransozo (1999) com *Callinectes ornatus* Ordway, 1863, na região de Ubatuba em São Paulo, e Branco & Avilar (1992), Barreto *et al.* (2006) e Pereira *et al.* (2009) com *Callinectes danae* Smith, 1869 nos estuários da Lagoa da Conceição (SC), dos rios Botafogo e Carrapicho (PE) e na baía da Babitonga (SC) respectivamente.

O siri-azul *Callinectes sapidus* é um importante recurso pesqueiro no estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil, onde é considerado um predador bentônico chave, que influencia na perturbação do sedimento onde está inserido causando estresse nas populações associadas (Capitoli *et al.*, 1978). Seu crescimento foi estudado por Rodrigues & D’Incao (2008) onde se afirma que os indivíduos podem viver até 3,5 anos no estuário, realizando cerca de 20 mudas neste período, podendo alcançar limites estimados de vida entre 3,47 anos para machos e 3,45 anos para fêmeas.

O fato do estuário da Lagoa dos Patos possuir uma única comunicação com a área oceânica adjacente (Kjerfve, 1986) facilita o estudo dos movimentos reprodutivos da espécie, uma vez que concentra a saída das fêmeas para desova e entrada de larvas para recrutamento no estuário. A vazão nestes locais é controlada

mais pelos ventos do que pela maré tornando o primeiro um fator fundamental para os movimentos de entrada e saída de massas de água (Garcia, 1998). O siri-azul distribui-se no interior do estuário e na área oceânica adjacente (Melo, 1996). Os machos se mantêm nas zonas internas do estuário, com tendência a migrar para zonas mais internas, onde a salinidade é mais baixa, enquanto as fêmeas vivem mais próximas à desembocadura do estuário, devido aos processos reprodutivos e migratórios (Buchanan & Stoner, 1988, Oliveira, 2005).

A determinação do tamanho de primeira maturação é um importante fator no potencial reprodutivo de uma espécie (Somerton & McIntosh, 1983, Mantelatto & Fransozo, 1997, Oh & Hartnoll, 1999), principalmente quando esta possui importância econômica (Pinheiro & Fransozo, 2002). Além disso, serve como ferramenta básica para a administração dos estoques, fornecendo informações adequadas para estabelecer tamanhos mínimos de captura e, conseqüentemente, novo dimensionamento de malhas das redes (Branco & Fracasso, 2004). A determinação dos fatores que possam auxiliar no entendimento da biologia reprodutiva de *C. sapidus* poderá contribuir para a manutenção e preservação de estoques populacionais deste siri na Lagoa dos Patos e área adjacente.

Vazzoler (1996) fala sobre as relações gonadais e sua importância para o processo reprodutivo: “Em função da estreita relação entre o avanço do processo de maturação ovocitária e o aumento do volume e, conseqüentemente, do peso dos ovários, a relação gonadossomática (RGS) que expressa a porcentagem que as gônadas representam do peso total ou do peso do corpo dos indivíduos nos parece um indicador eficiente do estado funcional dos ovários.” Outro indicador quantitativo que pode ser utilizado é o Fator de Condição gonadal (IG) que expressa a relação entre o peso das gônadas e o comprimento total elevado à potência “b” (coeficiente angular da regressão entre Wt/Lt) dos indivíduos.” Em virtude disso, a variação da RGS pode fornecer informações importantes sobre o estado da população reprodutivamente ativa (Vazzoler, 1996).

Neste trabalho utilizamos dados de CPUE e fecundidade para estabelecer os parâmetros reprodutivos para a espécie *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos, RS. São determinados a relação gonadossomática e o estágio de maturação gonadal das fêmeas do estuário da Lagoa dos Patos, na região sul do Brasil. Também foi estabelecida a relação sazonal entre machos e fêmeas, a fim de verificar possíveis distorções na abundância e suas possíveis relações com parâmetros ambientais.

Objetivos

- 1- Estimar o tamanho e a idade de primeira maturação de machos e fêmeas de siri-azul;
- 2- Estimar a relação gonadossomática das fêmeas de siri azul;
- 3- Estimar o fator de condição das fêmeas de siri-azul;
- 4- Classificar o estágio de desenvolvimento das gônadas das fêmeas segundo sua cor;
- 5- Estabelecer a proporção entre machos e fêmeas durante duas temporadas reprodutivas;

Com isso espera-se montar um cenário do estado reprodutivo de *Callinectes sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos nas temporadas reprodutivas de 2008 e 2009, podendo assim avaliar:

- a) O estado da população reprodutivamente ativa de fêmeas de *Callinectes sapidus* do estuário da Lagoa dos Patos,
- b) A gravidade da exploração sofrida pelo estoque deste crustáceo, principalmente nos meses de verão (período reprodutivo) mediante a pesca predatória.

Material & Métodos

Foram realizadas coletas mensais entre abril de 2008 e abril de 2010, com auxílio de rede de portas com malha de 30 mm entre nós opostos por cinco minutos. A CPUE utilizada foi o número de indivíduos coletados a cada arrasto de 5 minutos. Os 20 pontos de coleta foram delimitados para compreender toda a extensão de distribuição da espécie (Figura 1). Nove pontos foram realizados fora da Barra de Rio Grande, na região oceânica adjacente, e onze pontos foram realizados dentro do estuário. Os animais coletados foram levados para o laboratório para biometria e análise do período reprodutivo. A biometria consistiu da largura de carapaça na altura nos espinhos laterais e nos primeiros espinhos da margem ântero-lateral da carapaça, da largura do abdômen das fêmeas na base do 3º somito abdominal, peso úmido, estágio de maturação (segundo Oliveira, 2005), estágio do ciclo de mudas (segundo, Drach & Tchernigovtzeff, 1967), para separar fêmeas que estão próximas da muda das fêmeas que estão em intermuda. As gônadas das fêmeas em estágio posterior ao de imatura foram retiradas e pesadas, e também foi avaliado o estado do receptáculo seminal, se cheio ou vazio (Jivoff *et al.*, 2007). As gônadas imaturas, por serem muito difíceis de serem dissecadas em grande número, foram desconsideradas da análise, e

também porque o desenvolvimento das mesmas se inicia após a muda pubertal (Jivoff *et al.*, 2007).

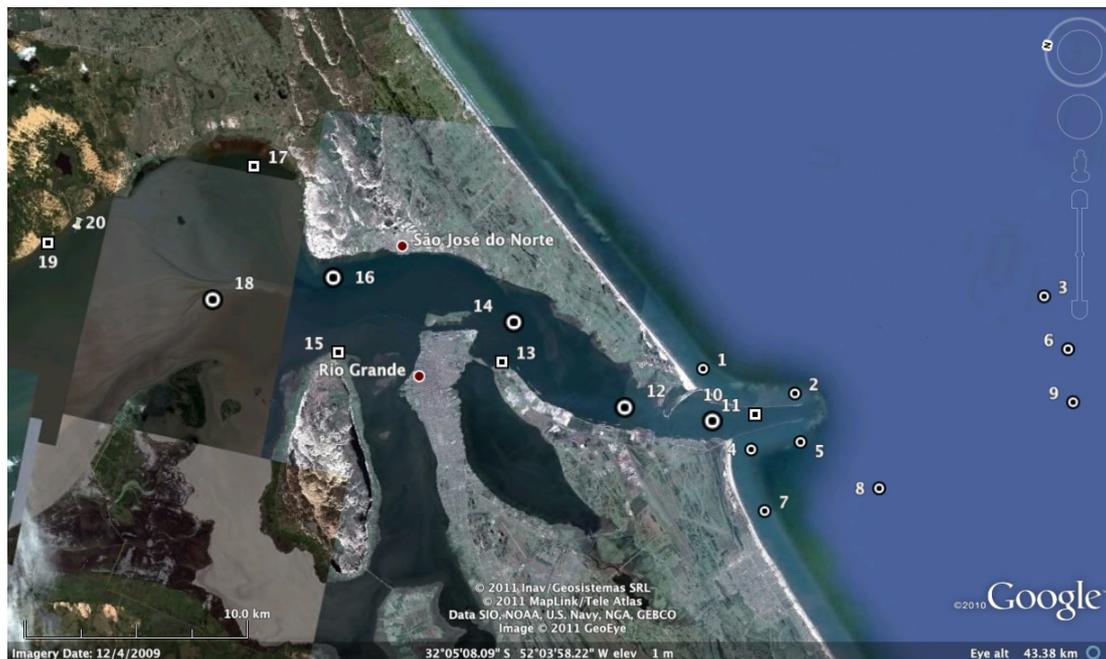


Figura 1. Locais de coleta da rede de Portas no estuário da Lagoa dos Patos. Os pontos de 1 a 9 representam amostras fora da barra do estuário, e os pontos de 10 a 20 representam amostras realizadas no interior do estuário. O círculo vazado representa arrastos com rede de portas, e o quadrado vazado representa arrastos com rede de renfro (fonte: Google Earth).

Preferimos adotar a nomenclatura de Vazzoler (1996), e denominar os indicadores de RELAÇÕES e não de índices, uma vez que o termo ÍNDICE pressupõe que a relação entre as duas variáveis possa ser representada por uma curva que passe pela origem, o que não ocorre com tais indicadores. Até que comece o desenvolvimento da gônada, seu peso é mínimo, iniciando sua variação a partir do ciclo reprodutivo.

O tamanho médio de início de primeira maturação (L50) corresponde àquele com o qual 50% dos indivíduos iniciam seu ciclo reprodutivo, ou seja, estão passando da fase jovem para a adulta. O tamanho no qual todos os indivíduos estão aptos a participarem ativamente do processo reprodutivo é o L100. O tamanho de primeira maturação é obtido pela frequência relativa (%) do número de indivíduos jovens e adultos separados por classe de tamanho. Esses dados são lançados em gráfico de onde, do ponto correspondente a 50%, na ordenada, traça-se uma paralela até a abcissa, até que esta intercepte a curva; desse ponto, baixa-se uma paralela à ordenada; o ponto de encontro desta linha com a abcissa corresponde ao valor

estimado do L50 (mediana) (Vazzoler, 1996). O mesmo procedimento é realizado para obtenção da estimativa de L100, partindo-se do ponto correspondente à frequência de 100% de adultos maturos.

A idade de 1^a maturação foi estimada a partir da equação de crescimento de von Bertalanffy obtida para *C. sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos por Rodrigues & D'Incao (2008), aplicada para os tamanhos de L50 e L100. Foi calculada a relação gonadossomática das fêmeas de siri-azul pela fórmula $Pg/Pt*100$, onde Pg é o peso da gônada da fêmea, Pt é o peso total. A relação foi organizada e plotada sazonalmente para verificação da variação da mesma (Vazzoler, 1996).

O fator de condição é um indicador do grau de hígidez de um indivíduo, seu valor reflete condições nutricionais recentes e/ou gasto de reservas em atividades cíclicas, possibilitando relações com condições ambientais e aspectos comportamentais das espécies (Vazzoler 1996). O fator de condição foi calculado por ΔK , que é a diferença entre o fator de condição total do indivíduo e o fator de condição somático, segundo a equação: $P_t/L_t^b - P_c/L_t^b$, onde P_t é o peso total, L_t é a largura de carapaça total, P_c é o peso do corpo, obtido pela diferença entre o peso total e o peso da gônada e “b” é o coeficiente angular da regressão entre a largura da carapaça e o peso total.

Foi calculado o período reprodutivo que representa a proporção mensal de fêmeas ovígeras em relação ao total de fêmeas adultas (Pinheiro & Fransozo, 2002). Todas as fêmeas que estavam com o abdome aberto, indicando que já haviam passado pela muda de puberdade, tiveram a carapaça aberta e foram fotografadas e analisadas, para a verificação do estágio de maturação gonadal baseado na cor, seguindo os padrões descritos para outros braquiúros por vários autores (Haefner, 1976; Johnson, 1980; Choy, 1988; Abelló, 1989) e conforme Costa & Negreiros-Fransozo (1998), Mantelatto & Fransozo (1999), Oliveira (2005), Barreto *et al.*, (2006) e baseado em macro e microscopicamente em 5 (cinco) estádios (Figura 2; Tabela 1).



Figura 2. Fotografia de duas fêmeas de *C. sapidus* analisadas quanto ao estágio de maturação gonadal. A fêmea da esquerda está em estágio ED (em desenvolvimento), enquanto a fêmea da direita está em estágio AV (avançado) (Escala em centímetros).

As fotografias foram analisadas e o número de fêmeas em cada estágio de maturação foi calculado sazonalmente. Foram estabelecidos para *C. sapidus* seis estágios de maturação, de acordo com a morfologia e desenvolvimento das gônadas: imaturo (IM), ovários indiferenciados e translúcidos; rudimentar (RU), ovários ainda não desenvolvidos, com aspecto de um filamento delgado esbranquiçado a róseo; em desenvolvimento (ED), que caracteriza o início da maturação, sendo os ovários pequenos, de coloração rosa-claro a laranja-claro; intermediário (I), coloração alaranjada, ocupando aproximadamente a metade da cavidade cefalotorácica, avançado (AV), com coloração laranja brilhante a vermelha, mais granuloso que o estágio anterior e preenchendo a maior parte da cavidade torácica, e repouso (RE), onde é constatado que a fêmea já desovou, e o ovário se encontra com aparência entre imaturo e rudimentar.

Para a análise da proporção sexual, os dados foram separados por sexo e agrupados sazonalmente, foi calculada a CPUE das coletas realizadas, que constou do número de indivíduos total capturado por estação do ano, dividido pelo número de arrastos realizados naquela estação. As diferenças entre a razão sexual foram calculadas pelo teste de qui-quadrado ($p < 0,05$), onde pela tabela de valores para o qui-quadrado acima de 3,841 indicam diferenças significativas, com g.l.=1.

Tabela 1. Estádios gonadais dos ovários do siri-azul *Callinectes sapidus* (adaptada de Mantelatto & Fransozo, 1999; Oliveira, 2005).

Estádios de Maturação Sexual das Fêmeas		
Tipo	Características	Símbolo
Imaturo	Gônada não diferenciada, associada à morfologia juvenil;	IM
Rudimentar	ovários ainda não desenvolvidos, com aspecto de um filamento delgado esbranquiçado a róseo;	RU
Em Desenvolvimento	Gônada em início de desenvolvimento, de translúcida a laranja claro, aparecimento do receptáculo seminal	ED
Intermediário	Coloração alaranjada, ocupando aproximadamente a metade da cavidade cefalotorácica	I
Avançado	Ovários de coloração laranja claro, ou laranja brilhante, presença do receptáculo seminal, que pode estar cheio.	AV
Repouso	Abdômen sem ou com poucos ovos, ovários finos de coloração laranja.	RE

Resultados

Foram coletados 1802 indivíduos, com larguras de carapaça variando entre 3,34 e 152,63 mm para machos e 9,11 e 157,5 mm para fêmeas (Tabela 2). A média da largura de carapaça entre machos e fêmeas maduros não apresentou diferenças significativas.

Tabela 2. Número de indivíduos amostrados e largura da carapaça (mm) de machos e fêmeas imaturos e maduros de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) coletadas no estuário da Lagoa dos Patos, RS, entre o outono de 2008 ao outono de 2010. (LC mín., largura mínima da carapaça; LC máx., largura máxima da carapaça; x, média; s, desvio padrão; n, número de indivíduos).

	Estado	n	x ± s	LC Mín.	LC Máx.
Fêmeas	Imaturas	574	63,64±25,81	3,34	130,29
	Maturas	374	115,23±13,82	80,5	152,63
Machos	Imaturos	585	60,19±21,18	9,11	136,9
	Maduros	249	112,23±17,93	68,58	157,5

O tamanho de primeira maturação (L50) do siri-azul foi estimado em 108 mm e 115 mm de largura de carapaça para machos para fêmeas respectivamente (Figuras 2 e 3). A partir de 150 mm (LC100) todos os exemplares coletados foram adultos. A idade de primeira maturação calculada para machos indica que estes maturam com cerca de oito meses de vida, enquanto as fêmeas maturam com aproximadamente 10 meses (Tabela 3). Todos os machos com 20 meses de vida (cerca de 1,73 anos) se apresentaram maduros, enquanto que nas fêmeas este estágio de maturação foi atingido mais tarde, com 33 meses de vida (2,75 anos)

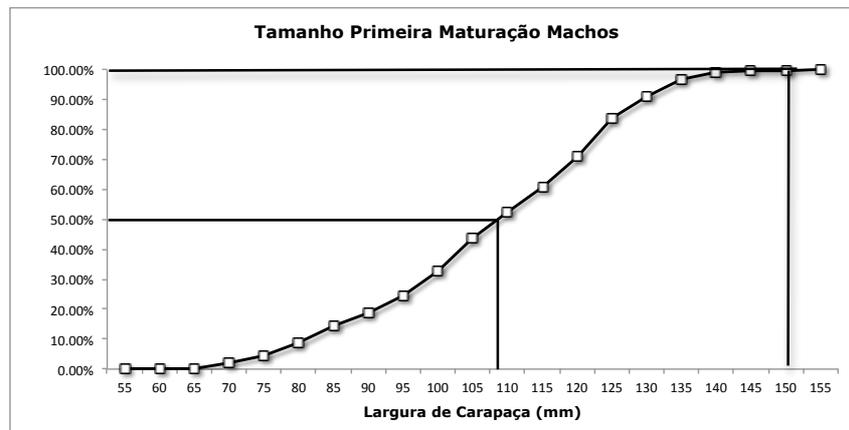


Figura 3. Tamanho de primeira maturação para machos de *Callinectes sapidus* do estuário da Lagoa dos Patos, RS. . L50=108,0 mm. L100= 150,0mm.

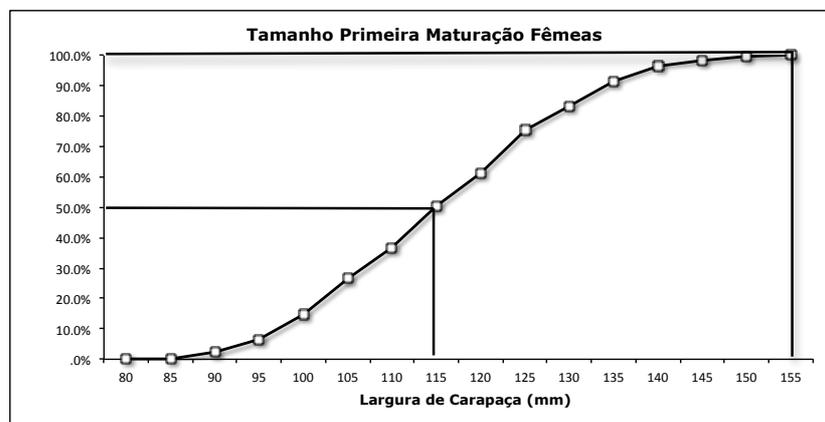


Figura 4. Tamanho de primeira maturação para fêmeas de *Callinectes sapidus* do estuário da Lagoa dos Patos, RS. L50=115,0 mm. L100= 155,0mm.

Tabela 3. Idade de primeira maturação calculada para machos e fêmeas de *C. sapidus* coletados no estuário da Lagoa dos Patos entre 2008 e 2010.

	Tamanho	Idade (dias)	Idade (meses)	Idade (anos)
L50 machos	108	268	8,83	0,73
L100 machos	150	633	20,83	1,73
L50 fêmeas	115	322	10,60	0,88
L100 fêmeas	155	1005	33,07	2,75

Pela relação gonadossomática percebe-se um aumento neste valor durante os meses de inverno chegando próximo a 6, e uma diminuição durante os meses de verão, ficando próximo de 3 (Figura 5).

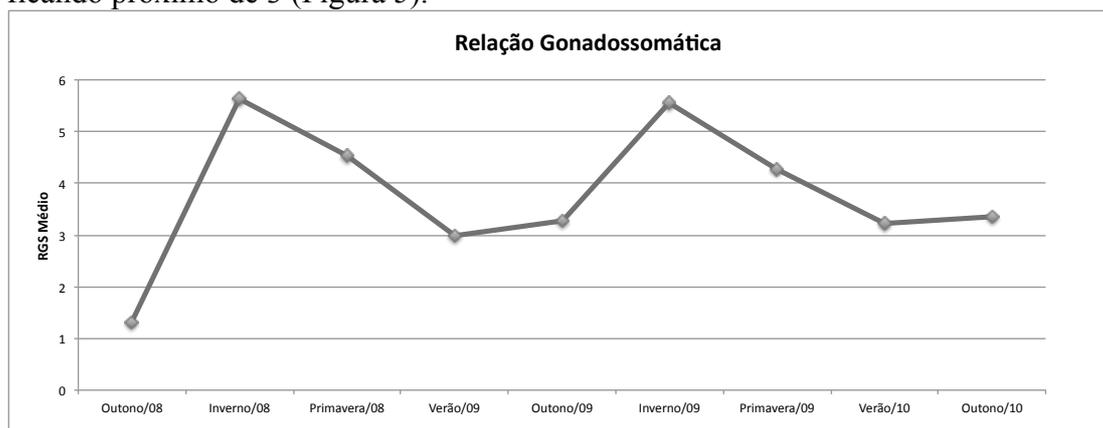


Figura 5. Relação gonadossomática sazonal para fêmeas de *C. sapidus* coletadas entre 2008 e 2010 no estuário da Lagoa dos Patos.

A partir da regressão entre a largura de carapaça e o peso das fêmeas de *C. sapidus*, foi obtido o coeficiente angular (b)= 2,94, que indica que as fêmeas apresentam crescimento alométrico negativo, crescendo mais em tamanho do que em peso. A relação gonadal calculado (Figura 6) permite inferir que durante o inverno e a primavera, as fêmeas direcionam sua energia para o desenvolvimento das gônadas, para a futura desova.

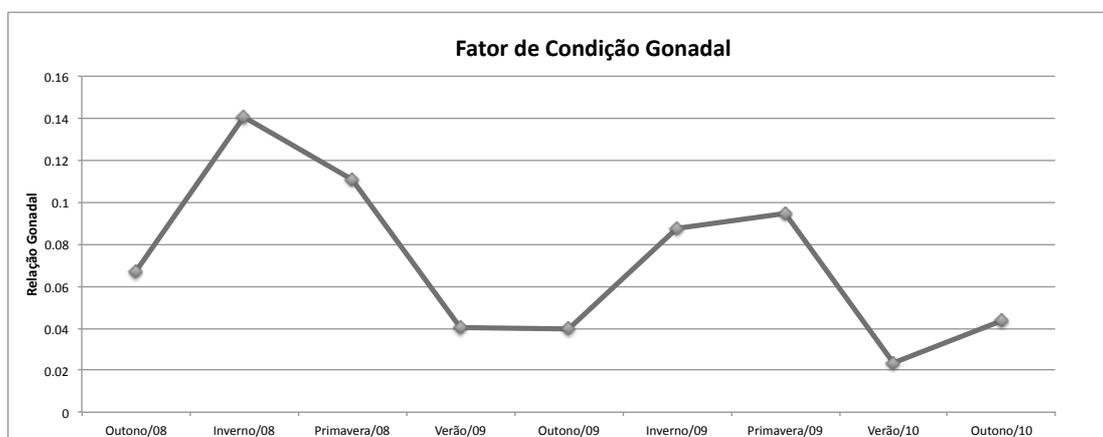


Figura 6. Relação Gonadal calculada sazonalmente para fêmeas de *C. sapidus* coletadas entre outono de 2008 e outono de 2010 no estuário da Lagoa dos Patos.

Pela estimativa de proporção dos estádios de desenvolvimento das gônadas aos estádios de maturação visual, temos que a maior parte das fêmeas no inverno se apresenta com a gônada imatura, apesar de também ter sido encontrada grande proporção de fêmeas nos estádios de desenvolvimento e intermediária (Figura 7). No verão de 2009, a maioria das fêmeas analisadas possuía gônada em repouso, fato que não se repetiu no verão de 2010, com somente cerca de 10% de fêmeas aparecendo neste estágio na primavera de 2009.

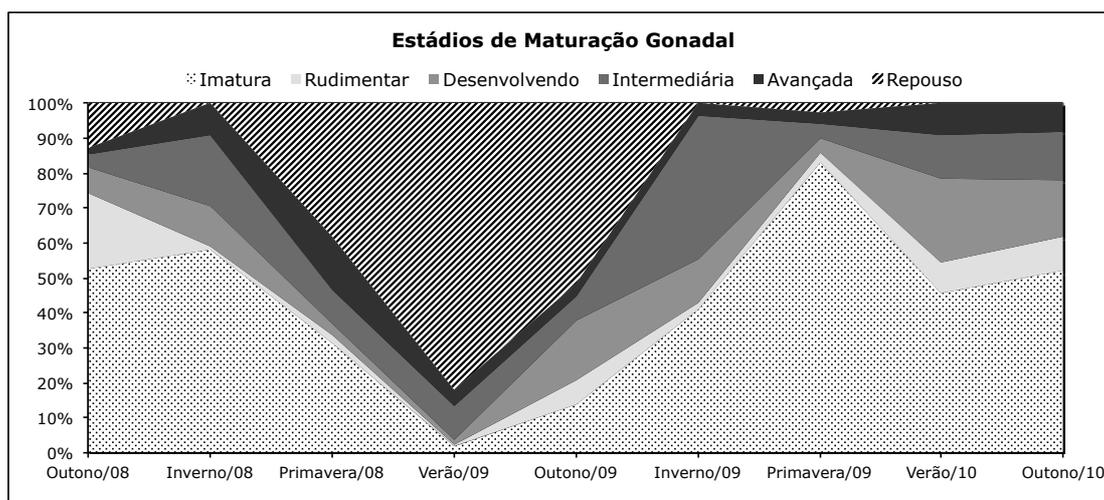


Figura 7. Proporção dos estádios de maturação gonadal estimados para fêmeas de *C. sapidus* coletadas entre outono de 2008 e outono de 2010 no estuário da Lagoa dos Patos.

Pela relação entre machos e fêmeas plotada para toda a área de estudo (Figura 8), pode se estabelecer que existem mais fêmeas do que machos no estuário da Lagoa dos Patos, durante a maior parte do ano, à exceção do inverno de 2008 e do outono e inverno de 2009, quando esta relação não se mostrou estatisticamente diferente, mostrando-se como 1:1 (Tabela 4). Quando são plotados somente a CPUE de machos e fêmeas coletados dentro do estuário (Figura 9), percebe-se uma tendência à diminuição do número de fêmeas na temporada reprodutiva de 2009, em relação à de 2008. Já quando são plotados somente os indivíduos coletados na área oceânica adjacente ao estuário da Lagoa dos Patos (Figura 10), percebe-se que a quantidade de fêmeas é muito maior, chegando a ser a totalidade das capturas na temporada reprodutiva de 2008. Na temporada reprodutiva de 2009, apesar de as fêmeas dominarem, são encontrados machos em número considerável.

Tabela 4. Valores de CPUE total calculada para machos e fêmeas organizada sazonalmente. São apresentados também a frequência relativa de ocorrência (%) e os valores do teste do qui-quadrado calculado com g.l.=1. Valor crítico para estabelecer diferenças > 3,84.

Estação do Ano	Machos	Fêmeas	% Machos	% Fêmeas	χ^2 Machos	χ^2 Fêmeas	χ^2 Total
Outono/08	1,70	2,82	37,66	62,33	3,29	2,80	6,09
Inverno/08	4,3	6,36	40,31	59,68	2,07	1,68	3,76
Primavera/08	3	9	25	75	13	12	25,01
Verão/09	0,53	2,15	19,76	80,23	18,88	17,68	36,57
Outono/09	0,76	0,63	54,76	45,23	0,36	0,55	0,91
Inverno/09	6,28	8	44	56	0,84	0,60	1,45
Primavera/09	11,45	18,95	37,66	62,33	3,29	2,80	6,09
Verão/10	3,26	7,33	30,81	69,18	7,74	6,98	14,72
Outono/10	5,86	3,33	63,76	36,23	3,52	4,07	7,59
Total	37,17	58,59	38,81	61,18	2,73	2,28	5,01

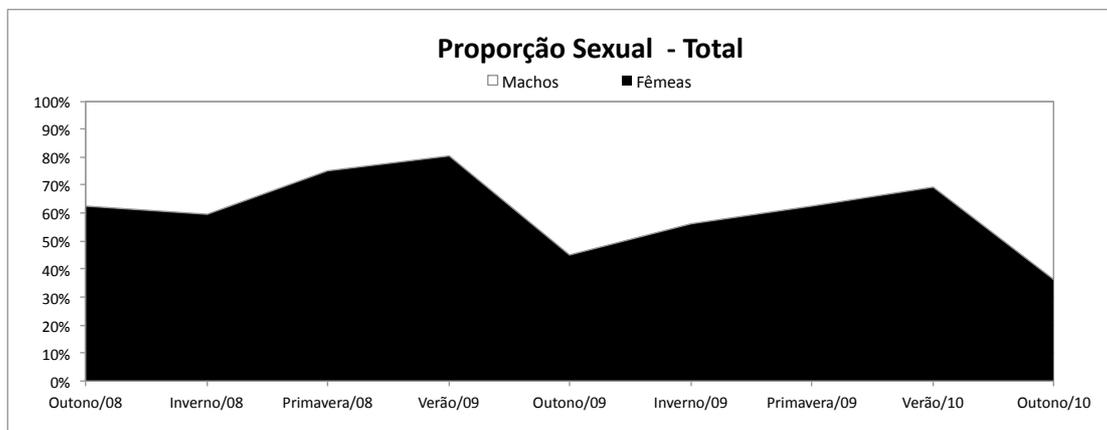


Figura 8. Proporção sexual total de machos e fêmeas coletados no estuário da Lagoa dos Patos e área oceânica adjacente e agrupados sazonalmente.

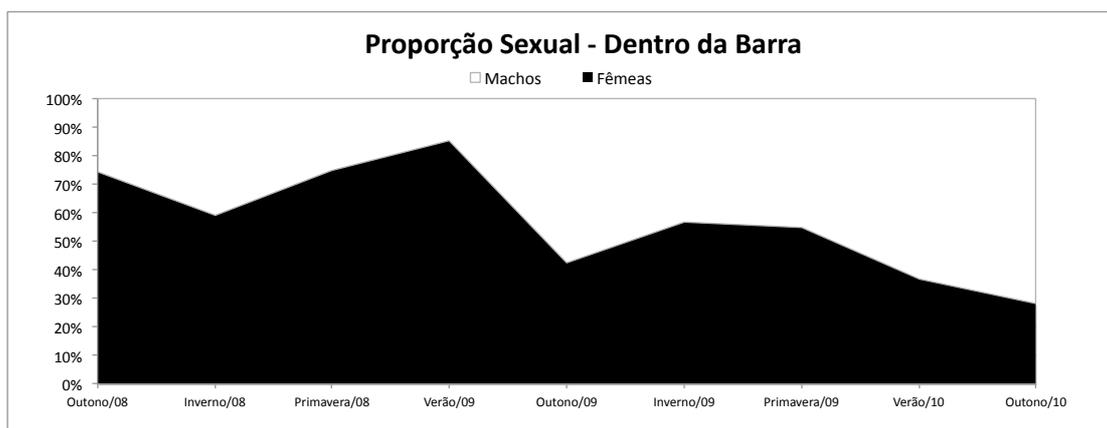


Figura 9. Proporção sexual total de machos e fêmeas coletados no estuário da Lagoa dos Patos e agrupados sazonalmente.

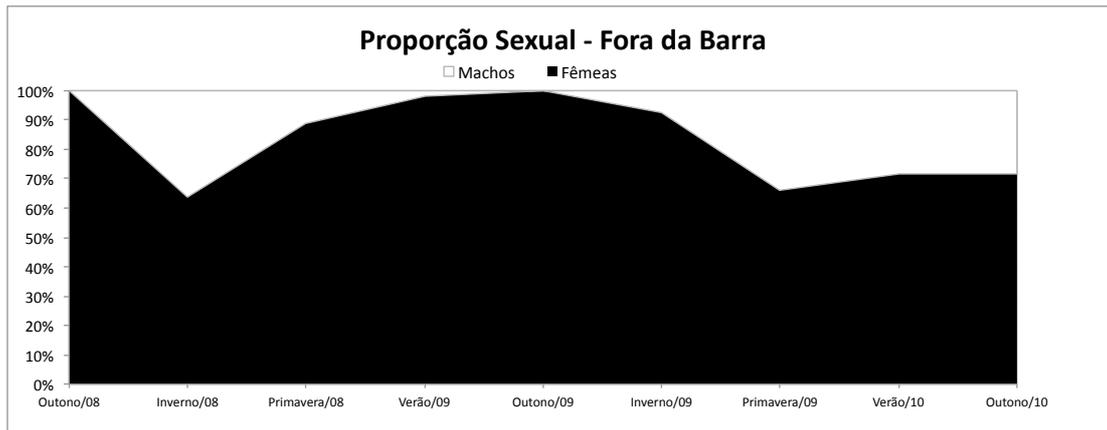


Figura 10. Proporção sexual total de machos e fêmeas coletados na área oceânica adjacente à Lagoa dos Patos e agrupados sazonalmente.

Discussão

A teoria ecológica prediz que quando a primeira maturação é atingida em idade precoce, esse é um mecanismo eficiente para aumentar a representatividade genética da população na geração seguinte (Vazzoler 1996). Porém isto representa um custo adicional, uma vez que a maturação com tamanhos reduzidos se reflete em uma menor fecundidade e, provavelmente, numa exposição a uma maior gama de predadores. Oliveira (2005) encontrou valores de 95 mm para machos e 114 mm para fêmeas no estuário da Lagoa dos Patos entre 2002 e 2003. Ferreira (2006), trabalhando em dois sacos do estuário da Lagoa dos Patos não calculou os valores para machos, mas encontrou valores de LC50 para fêmeas entre 105 e 108 mm de largura de carapaça em 2006. Tavares (1987) estimou valores de LC50, para a população do estuário de Tramandaí, de 104,6 mm para machos e 99,4 mm para as fêmeas no ano de 1986.

A variação no tamanho de primeira maturação reflete o estado da população e, como esta, responde às condições ambientais (Vazzoler, 1986). O presente trabalho encontrou valores para as fêmeas, próximo aos encontrados por Oliveira (2005), mas distante do trabalho de Ferreira (2006). O trabalho de Ferreira (2006) se focou em dois sacos do estuário da Lagoa dos Patos (Mangueira e Arraial), enquanto que o presente trabalho, como o de Oliveira, utilizou dados de todo o estuário na estimativa. Diferenças do trabalho de Tavares (1987) podem estar relacionadas à diferenças populacionais, e nas características do estuário, sendo o de Tramandaí, de dimensões reduzidas comparado ao da Lagoa dos Patos.

Quando ocorre uma diminuição no número de indivíduos reprodutivamente ativos em um estuário, a tendência natural é a de que indivíduos madurem mais cedo, para repor esta perda de indivíduos (Vazzoler, 1996). Pode ocorrer a maturação mais cedo do aparelho reprodutor, e conseqüentemente um tamanho de primeira maturação menor, como no caso dos machos encontrados por Oliveira (2005). Por outro lado, quando o estoque está estável, o tamanho de primeira maturação pode aumentar, levando a um tamanho médio maior nos indivíduos da população. O fato de encontrar um tamanho de primeira maturação menor para machos e fêmeas é condizente com a biologia da espécie, visto que machos continuam a mudar após a muda da puberdade, e podem começar a se reproduzir cedo (Jivoff *et al.*, 2007). Encontrar um tamanho de primeira maturação maior para fêmeas pode ser um indicativo de estoque estável, e de que a população está se reproduzindo com um tamanho de corpo grande, provavelmente aumentando o sucesso reprodutivo, uma vez que existe relação entre o tamanho da gônada e a fecundidade do indivíduo.

O fato de machos terem apresentado menor valor médio de L50, pode caracterizar populações em desequilíbrio, para recompor estoques e proporções sexuais, que parecem variar sazonalmente da proporção típica de 1:1.

O aumento do RGS médio durante os meses de inverno indica claramente o período em que as fêmeas estão desenvolvendo as gônadas, e se preparando para a futura desova, que ocorre a partir do final da primavera e durante todo o verão (Rodrigues & D’Incao, *in press.*). Durante os meses de verão, a relação geral tende a diminuir, indicando o retorno das gônadas a condição de repouso.

Foram encontradas algumas fêmeas com o abdome aberto, indicando maturidade sexual, com a gônada em repouso, indicando desova, e ainda com pacotes de espermátóforos no receptáculo seminal, indicando desova parcelada. Jivoff *et al.* (2007) relata esta possibilidade, mas não de uma nova cópula, visto que nos casos em que a ecdise foi registrada, esta não foi bem sucedida (Olmi, 1984).

O período delimitado pelo fator de condição se apresenta no mesmo momento em que temos os maiores valores da relação gonadossomática, em que a gônada representa grande parte do peso da fêmea. Assim sendo, o período delimitado pelos valores mais elevados de ΔK corresponde ao período em que grande parte da energia acumulada pela fêmea é canalizada para o desenvolvimento das gônadas (principalmente ovários) e/ou para migrações ou outros comportamentos reprodutivos.

A relação encontrada foi maior no período de inverno, que é quando as fêmeas estão preparando o corpo para produção de vitelo, e amadurecimento de gônadas, e menor no verão, visto que é o período após a desova, onde as fêmeas estão, em sua maioria no estágio de repouso (Figura 7).

Ocorreu uma diminuição no fator de condição geral das fêmeas entre os invernos de 2008 e 2009, sendo que o valor caiu de 0,14 para 0,09. Altas precipitações que ocorreram durante o ano de 2009 (www.inmet.gov.br) podem ter afetado a distribuição das fêmeas ovígeras, e levando estas a investirem a energia em migração para a parte mais externa do estuário, a fim de realizar a desova em áreas mais salgadas.

O período compreendendo o outono de 2008 ao verão de 2009 parece ser uma temporada com a tendência da maturação de gônadas/desova seguindo o padrão esperado para a espécie. No período do outono de 2009 ao verão de 2010, ocorreu uma diminuição drástica no aparecimento de fêmeas com gônadas em repouso, podendo indicar desova tardia, ou precoce, mas não durante o período que seria esperado. Rodrigues *et al.* (*in press.*) atribuem a diminuição do número de fêmeas desovando ao excesso de chuvas que ocorreu durante o ano de 2009, que causou um decréscimo geral na salinidade do estuário. Grande parte das fêmeas encontradas no outono de 2009, entretanto apresentou gônadas em estágio intermediário e avançado, indicando que houve evento de reprodução, fato este apoiado pelo fator de condição calculado para as fêmeas no período. Uma das explicações pode ser a ocorrência de migração das fêmeas para áreas mais externas ao estuário, a fim de realizar a desova. Estas fêmeas provavelmente não conseguiram voltar para o estuário após este evento. O recrutamento de 2009/2010 pode então sido menor do que o de 2008/2009.

A proporção entre fêmeas e machos é uma informação importante para a caracterização da estrutura de uma espécie ou população, além de constituir subsídio para o estudo de outros aspectos como avaliação do potencial reprodutivo e em estimativas do tamanho do estoque (Vazzoler, 1986).

Existem variações na relação entre machos e fêmeas de *C. sapidus* coletados no estuário da Lagoa dos Patos, se mantendo próxima de 1:1 durante os meses que compreendem processos reprodutivos (Inverno de 2008 e Outono e Inverno de 2009), o que pode significar um padrão de migração após a cópula. Durante o verão, foram capturadas mais fêmeas, indicando migrações de machos para fora da área de estudo, provavelmente mais para o interior do estuário. Foram encontradas sempre mais

fêmeas do que machos, e esta relação somente não foi estatisticamente diferente no inverno de 2008 e no inverno e no outono de 2009, período em que tanto machos quanto fêmeas estão guardando energias para o processo reprodutivo.

Oliveira (2006) estudando o comportamento reprodutivo de *C. sapidus* no estuário da Lagoa dos Patos em 2003, encontrou um valor de razão sexual se mantendo próxima de 1:1, o que mostra que existem animais suficientes no estuário para que a competição de machos por fêmeas seja diminuída. Porém o autor encontrou diferenças estatisticamente significativas na razão sexual nas maiores classes de tamanho, e atribui o fato às migrações das fêmeas para realizar a desova nas áreas externas da Lagoa dos Patos, o que é corroborado por este estudo. A proporção sexual varia ao longo do ciclo de vida em função de eventos sucessivos, que atuam de modo distinto em cada sexo, sendo alguns deles a mortalidade, que atua de maneira diferente entre os diferentes sexos, e o crescimento, onde em muitos casos a população como um todo apresenta razão sexual na proporção de 1:1, mas observando ao nível das diferentes classes de comprimento, pode ocorrer predomínio de fêmeas nas maiores classes de comprimento, em função destas apresentarem taxa de crescimento maior que os machos e, como consequência, atingirem comprimentos superiores para uma mesma idade (Rodrigues & D’Incao, 2008, Vazzoler 1996).

Conclusões

C. sapidus apresenta reprodução anual, com machos se apresentando maduros com um tamanho menor do que as fêmeas. O período de maturação gonadal se inicia no outono e culmina no inverno, com os meses de primavera e verão sendo utilizados para desova. Na temporada reprodutiva de 2008 notou-se um equilíbrio entre o número de machos e fêmeas, o que não se repetiu na temporada de 2009, onde houveram mais machos do que fêmeas. Talvez o alto volume de chuvas registrado durante o período tenha sido responsável por acentuar processos de migração das fêmeas para áreas oceânicas adjacentes. *Callinectes sapidus* é sensível a alterações ambientais, e altos períodos de chuva combinados com outros fatores ambientais como diminuição da salinidade e variações muito bruscas de temperatura podem comprometer futuras proles.

Bibliografia Referenciada

- Aguilar, R., Hines, A.H., Wolcott, T.G. Wolcott, D.L. Kramer M.A. & Lipcius, R.N. 2005. The timing and route of movement and migration of post-copulatory female blue crabs, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), from the upper Chesapeake Bay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 319: 117-128.
- Barreto, A.V., Batista-Leita, L.M.A. & Aguiar, M.C.A. 2006. Maturidade sexual das fêmeas de *Callinectes danae* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) nos estuários dos rios Botafogo e Carrapicho, Itamaracá, PE, Brasil. *Iheringia, Sér. Zool.*, Porto Alegre, 96(2):141-146.
- Barutot, R. A.; Vieira, R. R. R. & Rieger. P. J., 2001. Desenvolvimento juvenil de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Crustacea: Decapoda: Portunidae), em laboratório, a partir de megalopas coletadas no plâncton. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia PUCRS, Série Zoológica, Porto Alegre*, 14(1): 23-42.
- Bliss, D. E., 1982. Shrimps, Lobsters and Crabs, their fascinating life story. New Jersey: New Century Publishers. 242p.
- Branco, J.O. & Avilar, M.G., 1992. Fecundidade em *Callinectes danae* Smith (Decapoda, Portunidae) da Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 9(3/4): 167-173.
- Branco, J.O. & Fracasso, A., 2004. Biologia populacional de *Callinectes ornatus* (Ordway) na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21(1): 91-96.
- Buchanan, BA & Stoner, A.W., 1988. Distributional Patterns of Blue Crabs (*Callinectes sp.*) in a Tropical Estuarine Lagoon. *Estuaries*, vol 11(4): 231-239.
- Capitoli, R.R., Bemvenuti, C.E. & Gianuca, N.M., 1978. Estudos de ecologia bentônica na região estuarial da Lagoa dos Patos. I – As comunidades bentônicas. *Atlântica, Rio Grande*, 3: 5-22.
- Costlow JR, J.D. & Bookhout, C.G. 1959. The larval development of *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), reared in the laboratory. *Biol. Bul.*, 116(3): 373-396.
- Drach, P. & Tchernigovtzeff, C., 1967. "Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux crustacés." *Vie et Milieu. Bulletin du Laboratoire Arago, Université de Paris*, 18A: 595-607.

- Dumont, L.F.C. & D'Incao, F. 2004. Growth and reproductive pattern of the caridean shrimp *Palaemonetes argentinus* Nobili, 1901 (Decapoda-Palaemonidae) in the south of Rio Grande do Sul, Brazil. *Nauplius*, 12(2): 151-163.
- Epifanio, C.E., Dittel, A.I., Rodriguez, R.A., & Targett, T.E. 2003. The Role Of Macroalgal Beds As Nursery Habitat For Juvenile Blue Crabs, *Callinectes sapidus*. *Journal of Shellfish Research*, 22(3):881–886.
- Garcia, C. A. E., 1998. Características hidrográficas. In: Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. U. Seeliger, C. Odebrecht & J.P. Castello (Eds.) Editora Ecocientia, Rio Grande, RS. pp 18-21.
- Havens, K. J. & McConaughy, J. R., 1990. Molting in the mature female blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896). *Bulletin of Marine Science*, 46 (1): 37-47.
- Hartnoll, RG, 1969. Mating in the Brachyura. *Crustaceana*, 16(2):161-181
- Hines A.H. 1988. Fecundity and Reproductive Output in two species of deep-sea crabs, *Geryon fenneri* and *Geryon quinquedens* (Decapoda: Brachyura). *Journal of Crustacean Biology*. 8(4): 557-562.
- Jivoff, P, Hines A.H. & Quackenbush L.S., 2007. Reproduction Biology and Embryonic Development. Chapter 7 in: Kennedy, V.S. & Cronin, L.E. (eds). The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant.
- Kendall, M.S. & Wolcott, T.G. 1999. The Influence Of Male Mating History On Male-Male Competition And Female Choice In Mating Associations In The Blue Crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 239: 23-32.
- Kendall, M.S.; Wolcott, D.L.; Wolcott, T.G. & Hines, A.H. 2002. Influence of male size and mating history on sperm content of ejaculates of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Marine Ecology Progress Series*. 230:235-240.
- Kennedy, V.S. & Cronin, L.E., 2007. The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant, 774p.
- Kjerfve, B., 1986. Comparative Oceanography of Coastal Lagoons. In Wolfe D.A. (ed) Estuarine variability. Academic Press, New York, pp 63-81.
- Mantelatto, F.L.M. & Fransozo, A., 1997. Fecundity of the crab *Callinectes ornatus* Ordway 1863 (Decapoda, Brachyura, Portunidae) from the Ubatuba region, São Paulo, Brazil. *Crustaceana*, 70(2): 214-226.

- Mantelatto, F.L.M. & Fransozo, A., 1999. Reproductive biology and molting cycle of the crab *Callinectes ornatus* (Decapoda, Portunidae) from the Ubatuba Region, São Paulo, Brazil. *Crustaceana*, Leiden 72(1): 64 - 75.
- Melo, G. A. S., 1996. Manual de identificação dos Brachyura (Caranguejos e Siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Plêiade/Fapesp, 604p.
- Montú, M.; Duarte, A.K.; Gloeden, I.M., 1998. Zooplâncton. In: Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. U. Seeliger, C. Odebrecht & J.P. Castello (Eds.) Editora Ecoscientia, Rio Grande, RS. pp 43-46.
- Oh C.-W. & Hartnoll R.G., 1999. Brood loss during incubation in *Philocheras trispinosus* (Decapoda) in Port Erin Bay, Isle of Man. *Journal of Crustacean Biology* 19:467-476.
- Olmi, E. J., 1984. An Adult Female Blue Crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Portunidae), in Proecdysis. *Crustaceana*, 46(1): 107-109
- Oliveira, AR de. 2005. Bioecologia do Siri-Azul *Callinectes sapidus* (Rathbun 1896), na Região Estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Universidade do Rio Grande, Instituto de Oceanografia (Tese de Doutorado). 180p.
- Pereira, M.J.P., Branco, J.O. Christoffersen, M.L. Freitas JR. F., Fracasso, H.A.A. & Pinheiro, T.C.. 2009. Population Biology of *Callinectes danae* and *Callinectes sapidus* (Crustacea: Brachyura: Portunidae) in the south-western Atlantic. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 89: 1341-1351.
- Pinheiro, M.A.A.; Fransozo, A. 2002. Reproduction of the Speckled Swimming Crab *Arenaeus cribrarius* (Brachyura: Portunidae) on the Brazilian Coast near 23o30'S. *Journal of Crustacean Biology*, 22(2): 416-428.
- Rodrigues, M.A., Heberle, M.F. & D'Incao, F. Fecundity Variation and Abundance of Female Blue Crabs *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Brachyura, Portunidae) in the Patos Lagoon Estuary, RS, Brazil. *Atlântica, Rio Grande (in press)*.
- Rodrigues, M.A. & D'Incao, F., 2008. Comparação do crescimento entre *Callinectes sapidus* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) coletados em campo e mantidos em condições controladas. *Iheringia, Sér. Zool.*, 98(3): 372-378.
- Santos, S. 1994. Biologia reprodutiva de *Portunus spinimanus* Latreille, 1819 (Crustacea, Brachyura, Portunidae) na região de Ubatuba (SP). Universidade Estadual Paulista (Doctoral Thesis). 170p.

- Sandoz, M. & Rogers, R. 1944. The effect of environmental factors on hatching, moulting and survival of zoea larvae of the blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896). *Ecology* 25: 216-228
- Somerton, D.A. AND Macintosh, R.A. (1983) Size at sexual maturity of blue king crab, *Paralithodes platypus*, in Alaska. *Fish. Bull.* 81, 621-628.
- Tavares, L. J., 1987. Estudo populacional, crescimento e distribuição do siri- azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) no estuário de Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brasil (Crustacea, Decapoda, Portunidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 162p.
- Vazzoler, A.E.A.M. 1996. Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, 169p.
- Vieira, R.R.R. 2006. Identificação, abundância e distribuição das fases larvais das espécies de brachyura (Crustacea, Decapoda) no estuário da Lagoa dos Patos e região costeira adjacente. Tese doutorado, FURG, Rio Grande, 203p.
- Williams, A. B. 1974. The swimming crabs of the genus *Callinectes* (Decapoda: Portunidae). *Fishery Bulletin*, 72(3):685-798.
- Wolcott, D.L.; Hopkins, C.W.B.; Wolcott, T.G. 2005. Early events in seminal fluid and sperm storage in the female blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896): Effects of male mating history, male size, and season. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 319: 43-55.

ANEXO IV

Variação da fecundidade e abundância de fêmeas de *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Brachyura, Portunidae) no estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil.

Fecundity variation and abundance of females of blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Brachyura, Portunidae) in the Patos Lagoon Estuary, RS, Brazil.

RODRIGUES, M.A.^{1,2} HEBERLE, M.F. & D'INCAO, F.¹

¹Universidade Federal do Rio Grande – Instituto de Oceanografia - Laboratório de Crustáceos Decápodos – Caixa Postal 474, CEP 96201-900 – Rio Grande – RS – Brasil.

²alanizmarcos@gmail.com

Palavras-chave: Decapoda, Portunidae, *Callinectes sapidus*, fecundidade, abundância.

Abstract

The blue crab is an important fisheries resource throughout the Atlantic. In this work we studied fecundity variation and abundance of females in the Patos Lagoon estuary, Rio Grande do Sul, Brazil. Female fecundity and abundance of the blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) varied according to size. Sampling was done near the mouth of the estuary from November 2008 to October 2009. Eggs were removed, weighed, counted and related to morphometric measures. We also compared abundance of ovigerous females collected in the spawning area with environmental parameters. The fecundity ranged from 152,799 to 2,573,576 eggs per female, and showed a positive correlation with carapace width. Ovigerous females were found from November 2008 to May 2009, and in October 2009. Fecundity of the species in the Patos Lagoon estuary falls within the limits found in other estuaries, suggesting a pattern in the reproductive potential of *C. sapidus*. The species has a spawning season well known to occur during the late spring and summer, and as such it is necessary to protect the entire stock of spawning females, as these individuals allow for recruitment of juveniles during the next breeding season.

Keywords: Decapoda, Portunidae, *Callinectes sapidus*, fecundity, abundance.

Resumo

Neste trabalho são estudadas a variação na fecundidade e a abundância de fêmeas do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) no estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil. Foram realizadas coletas junto à barra da Lagoa dos Patos entre novembro de 2008 e outubro de 2009. Os ovos das fêmeas foram retirados, pesados, contados e relacionados com as medidas morfométricas. Também foi relacionada a abundância das fêmeas ovígeras coletadas na área de desova com parâmetros ambientais. A fecundidade variou de 152.799 a 2.573.576 ovos. Foi encontrada uma correlação positiva entre a fecundidade e a largura de carapaça. Foram encontradas fêmeas ovígeras de novembro de 2008 a maio de 2009, e em outubro de 2009. A fecundidade da espécie para o estuário da Lagoa dos Patos parece ficar dentro dos limites encontrados em outros estuários de ocorrência, sugerindo que exista um padrão em seu potencial reprodutivo. A espécie apresenta um período de desova bem marcado durante o período que compreende o final da primavera e todo o verão. Faz-se necessária a proteção do estoque de fêmeas com potencial para desova no estuário da Lagoa dos Patos, visto que delas depende o recrutamento da espécie na temporada reprodutiva seguinte.

Introduction

Fecundity in crustaceans is generally defined as the number of eggs produced by a female, during a particular spawning season. Among the Brachyura, there is considerable variation in fecundity, often varying as a function of female body size (Hines, 1988). Fecundity is an important population parameter for species of commercial value as it allows for estimates of the reproductive potential of the species (Mantelatto & Fransozo, 1997, Dumont & D'Incao, 2004).

Fecundity is a key factor in the persistence of a fisheries stock and is used to evaluate the status of a population because it has direct effects on the recruitment of species in estuarine and marine environments (Begg & Waldman, 1999) such as the blue crab, *Callinectes sapidus*. The fecundity of portunids in the Southeast Southern Brazil was studied for *Callinectes danae* (Branco & Avilar, 1992, Pereira *et al.*, 2009) for *Achelous spinimanus* Latreille, 1819 (Santos, 1994) for *Callinectes ornatus* (Mantelatto & Fransozo, 1997) and for *Callinectes sapidus*, in Babitonga Bay, Santa Catarina (Pereira *et al. op cit.*). The reproductive process of the blue crab is complex, involving a series of behavioral and physiological phases, which include courtship, mating and signaling (Jivoff *et al.*, 2007). It begins in the upper zones of estuaries in late winter, where males and females meet to copulate following the puberty molt (Hartnoll, 1969). Fertilized females then make their way down-estuary to the most saline waters in order to develop and maintain their egg masses until hatching of larvae (Aguilar *et al.*, 2005).

The blue crab is an important fisheries resource throughout the Atlantic, considered to be a key benthic predator (Kennedy & Cronin, 2007). Melo (1999) established the geographic distribution limits of *C. sapidus* in Brazil to be between Bahia and Rio Grande do Sul states. This species occurs along beaches in shallow depths, as well as in bays, estuaries and ponds. Observed declines in blue crab abundance demonstrate the need for a thorough understanding of the species' life history in order to optimize the management of the resource for fishing (Mendonça *et al.*, 2010). In this study we used data on fecundity and abundance of females in the spawning area of the Patos Lagoon estuary, RS, Brazil to evaluate the existence of a relationship between individual size and reproductive potential. The Patos Lagoon estuary is a key location on the abundance of blue crabs. It is subjected to the influence of discharges from Rio de la Plata Coastal Waters (CW - Piola, 2002) what brings brackish water that can reach as far as the state of São Paulo. Data on fecundity

were compared with other studies on three species of the *Callinectes* genus that occur in the estuary, whose recruitment are also subjected to CW. It was also tested if temporal variation in the abundance of females might show differences in the reproductive pattern.

Material & Methods

Samplings were conducted for 12 months, from November 2008 to October 2009. Samples were collected outside the estuary, near the mouth of the Patos Lagoon, on the West shorebreak (32° 9'48"S, 52° 5'49"W), with a beach seine (Benedet *et al.*, 2010) pulled by two people for an average distance of 150 meters. The nearshore oceanic region adjacent to the Patos Lagoon is considered to be very important to the successful spawning of *C. sapidus* (Rodrigues & D'Incao, 2008). From the 245 ovigerous females collected and frozen for posterior biometry, 38 females were selected for analysis.

In the laboratory, specimens were unfrozen and pleopods with the egg mass were removed. Eggs were carefully removed from the pleopods and preserved in 70% ethanol for subsequent counting.

Measurements were made of carapace width (CW) (from the first spines of the anterolateral margin of the carapace) in millimeters, abdomen width (AW) in millimeters, wet weight (W) in grams, number of eggs (NE) and weight of eggs (WE) in grams (Mantelatto & Fransozo, 1997; Oliveira, 2005).

The 38 females that were analyzed were chosen by selecting crabs with embryos in developmental stages from late blastula to early gastrula, then separated into 5 mm CW size classes, whose egg masses presented color from white-yellow to dark orange (Mantelatto & Fransozo, 1997). To describe the reproductive potential, estimates were made of the relationship between the number of eggs (NE) and the carapace width (CW), between the number of eggs and the weight of the egg mass (WE), between the number of eggs and the wet weight (W), between the number of eggs and the abdomen width (AW), between the egg weight and the carapace width, and between the carapace width and the egg weight (Relationships summarized in Table 3).

The methodology for fecundity estimates used was adapted from Barutot (2007) and Diaz *et al.* (1983). The egg masses that had been previously removed from pleopods were dried at 60° for 24 hours, to allow for dry weight to be taken. From

each egg mass, three subsamples were randomly separated, weighed and counted under a stereoscope microscope in a Sedgewick-Rafter counting cell. From the 1000 squares of 10 mm² area each, 300 squares were counted, in three replicas of 100. The number of eggs for each of the three replicas were summed and extrapolated for the total number (1000 squares) to obtain the number of eggs of the subsample. This estimate was divided by the weight of the subsample to obtain the weight of one egg in each subsample. The number of eggs of the sample was obtained by the average of eggs from the three subsamples. The total number of eggs for each female was extrapolated from the dry weight of the whole egg mass.

Data that included linear measurements (CW, AW, NE) were analyzed using a linear regression, while data including volumetric variables (WE, W), were analyzed with an exponential regression.

For the relative abundance analysis the catch-per-unit-effort (CPUE) was calculated as number of individuals per 2 samplings per month. Histograms were constructed with the distribution of ovigerous females in 5 mm size classes. These were adjusted to a normal distribution using the software PeakFit 4.0 (SPSS) to determine if distinct year classes were present in the sample. The age of the females of each size class was estimated using the growth curve derived for the Patos Lagoon estuary by Rodrigues & D’Incao (2008).

Total abundance data were plotted against the average air temperature (obtained from INMET: www.inmet.gov.br), water temperature, and salinity both inside and outside the estuary close to the sampling point. This graphic allows for visual inspection of the relationship between environmental parameters and the abundance changes during the sampling period. Finally, a multiple linear regression was performed to determine which of the environmental factors had more influence on CPUE.

Results

The ovigerous females (N=245) used in the abundance analyses ranged from 66.47 to 152.63 mm (average of 112.11 ± 14.32 mm). The distribution of the carapace widths appeared to be normal (Figure 1).

Individual fecundity varied from 152.799 eggs (CW=79.26 mm) to 2,573.576 eggs (CW=114.9 mm), while the mean count was $1,186.407 \pm 555.279$ SD eggs (Table 1). The fecundity frequency distribution also appeared approximately normal (Figure 2). The frequency distribution of the ovigerous females contains four modes representing four distinct cohorts of females present in the spawning area, with carapace widths of 73.93 mm, 101.01 mm, 116.7 mm and 136.07 mm respectively (Figure 1). Ages calculated with the von Bertalanffy curve (Rodrigues & D’Incao, 2008) for each of these cohorts are presented in Table 2.

As shown in Figure 3, there is a positive correlation between the carapace width (CW) and the number of eggs (NE) ($r^2 = 0.61$), which may indicate an increase in fecundity with an increase in size. The same pattern can be observed in the relationships between the other morphometric variables measured (Table 3).

We sampled from November 2008 until May 2009 (Figure 4), but in the months of April, June, August and September of 2009, ovigerous females were not found. Abundance of females was significantly related to water temperature ($p=0.0006$), but was not related with any of the other environmental parameters measured.

Table 4 summarizes fecundity data from our work, and on the literature for other species of the genus *Callinectes* that occur in the Patos Lagoon estuary. Data on fecundity of *Callinectes affinis*, Fausto-Filho, 1980, a portunid crab misidentified for the estuary as *Callinectes bocourti* A. Milne-Edwards, and recently validated by Robles *et al.* (2007) was not found, emphasizing the need for further work on this species.

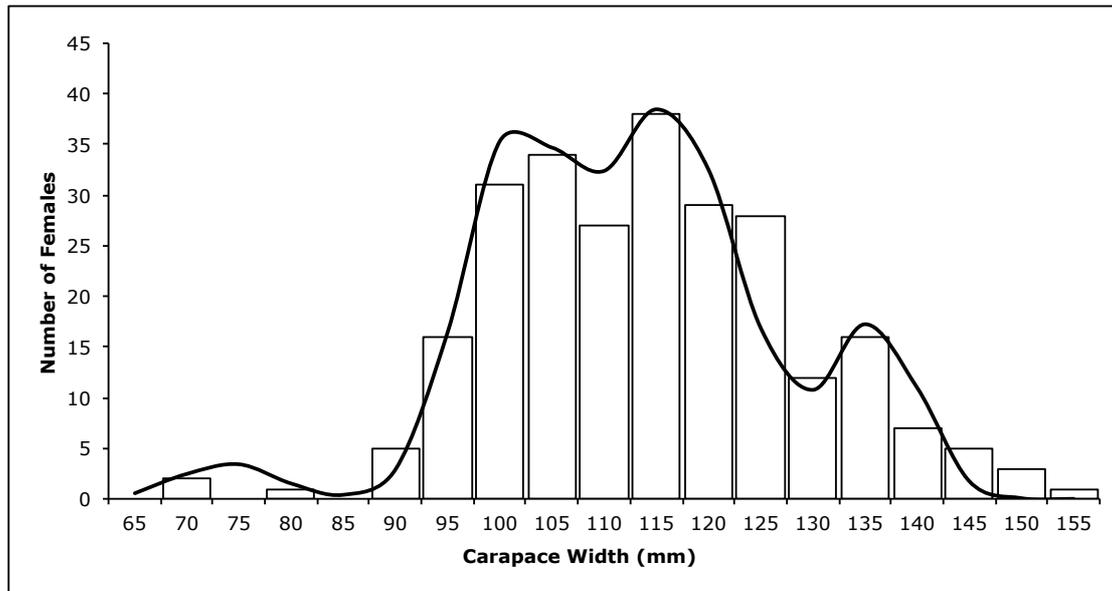


Figure 1: Frequency distribution of the carapace width of 245 ovigerous *Callinectes sapidus* females collected near the mouth of the Patos Lagoon estuary. The solid line represents the smoothed frequency distribution, with four modes present.

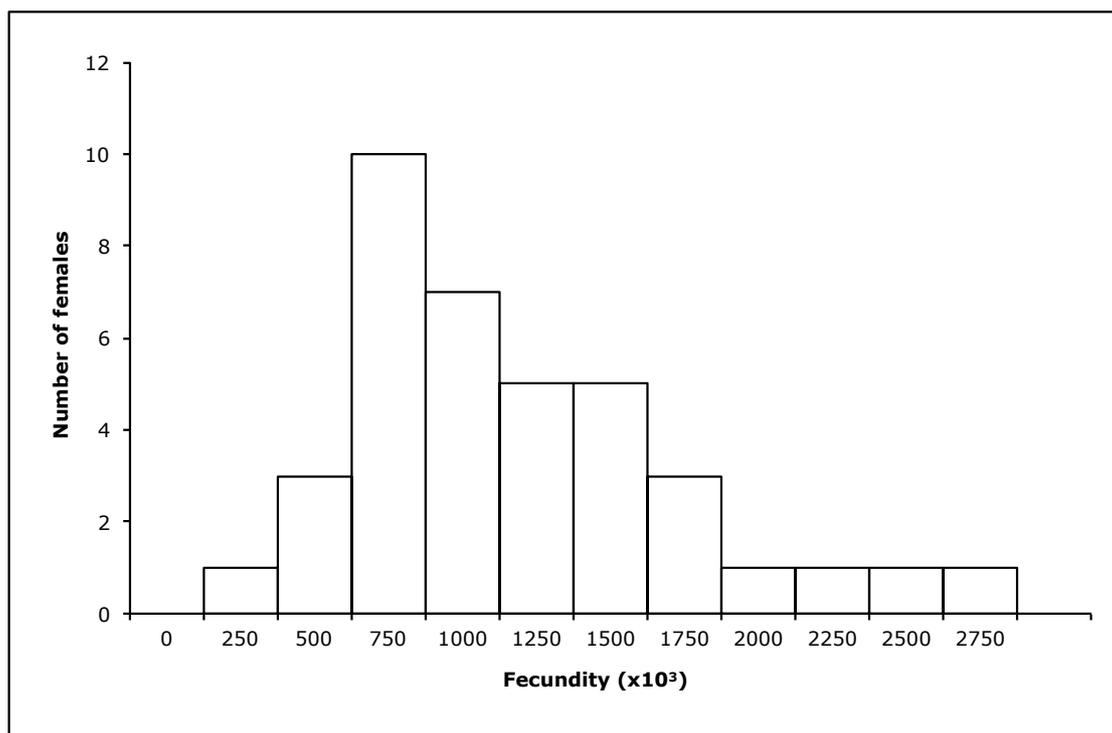


Figure 2: Frequency distribution of the fecundity (number of eggs per individual) of 38 *Callinectes sapidus* females collected in the Patos Lagoon estuary spawning region.

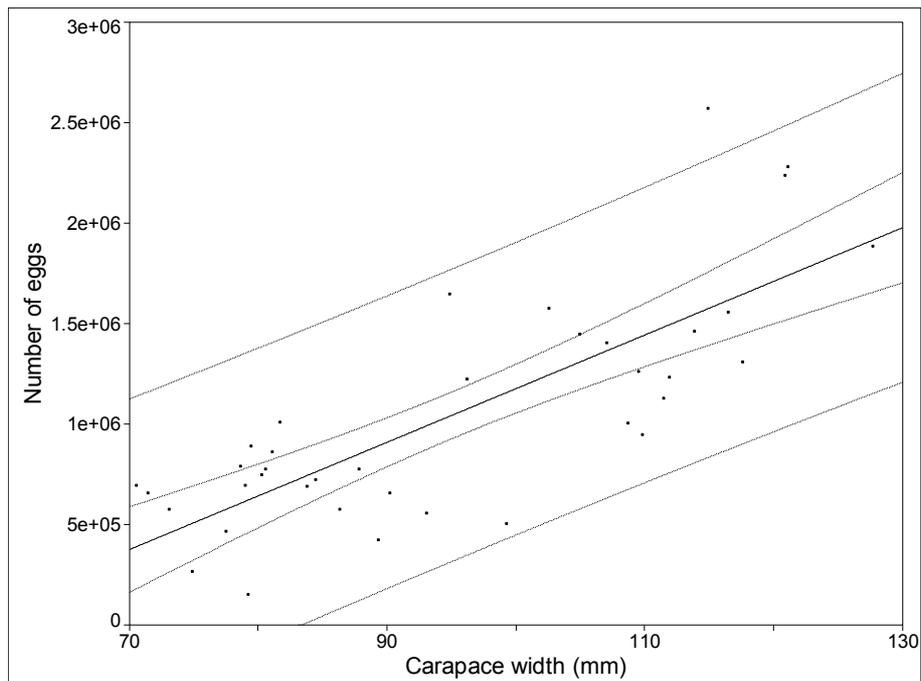


Figure 3: Relation between carapace width (CW) and number of eggs (NE) of *C. sapidus*. Regression equation: $NE=26695.CW-1E+06$ ($r^2=0.61$). The central line is the mean, while the secondary lines are the 95% confidence interval (inner lines) and the prediction interval (outer lines), respectively.

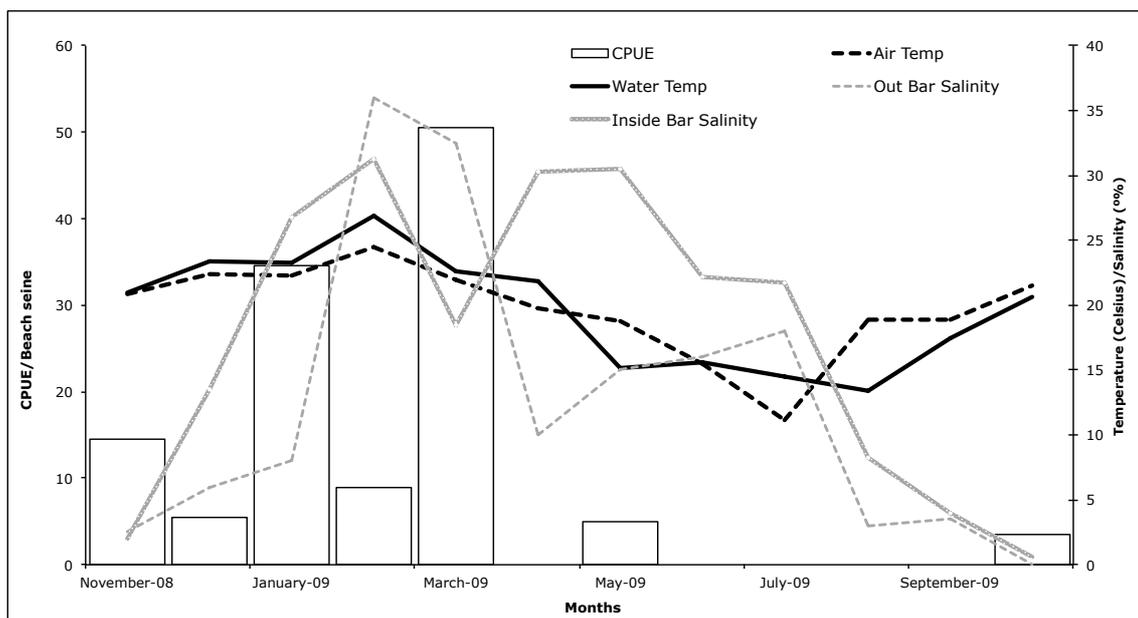


Figure 4: Average air and water temperature as well as salinity inside and outside the mouth of the Patos Lagoon estuary, with CPUE of females collected monthly in the spawning area. The black lines represent temperatures (thatched=water temperature, dashed=air temperature), grey lines are salinity (thatched=inside lagoon, dashed=outside).

Table 1. Comparison of the number of eggs (NE) and the dried egg mass weight (EW) on the size classes studied for *C. sapidus*.

Class (mm)	Number of specimens	NE $x \pm sd$	EW $x \pm sd$
70.0 – 74.9	4	550 139 ± 195 530	1.76 ± 0.36
75.0 – 79.9	5	601 444 ± 296 009	2.48 ± 0.58
80.0 – 84.9	6	805 103 ± 117 221	2.44 ± 0.52
85.0 – 89.9	3	595 486 ± 1 716	2.38 ± 0.87
90.0 – 94.9	3	957 715 ± 176 895	3.58 ± 1.71
95.0 – 99.9	2	866 943 ± 510 241	3.84 ± 1.35
100.0 – 104.9	2	1 513 106 ± 91 498	8.41 ± 3.63
105.0 – 109.9	4	1 156 340 ± 216 463	8.37 ± 2.08
110.0 – 114.9	4	1 601 217 ± 662 776	9.84 ± 3.06
115.0 – 119.9	2	1 437 378 ± 174 682	12.15 ± 0.007
120.0 – 124.9	2	2 263 436 ± 30 837	12.55 ± 2.15
125.0 – 129.9	1	1 888 582	12.22

Table 2. Age of *C. sapidus* calculated for the average carapace width of each of the four cohorts of ovigerous females collected.

Total Width	L Infinity	k	t0	Age (Days)	Age (years)
73.93	157.78	0.004	-3.71	154.3	0.42
101.01	157.78	0.004	-3.71	251.83	0.69
116.7	157.78	0.004	-3.71	328.9	0.90
136.07	157.78	0.004	-3.71	492.14	1.34

Table 3. Regression analysis of *C. sapidus* fecundity. (r= correlation coefficient; NE = number of eggs; CW = carapace width; AW = Abdomen width; W = wet weight of ovigerous females; EW = dry weight of eggs). N=38.

Relation	Linear $Y=a+bX$	r
NE X CW	$NE= 1E+06+26695.CW$	0,61
NE X AW	$NE=-1E+06+57793AW$	0,55
Relation	Exponential $Y=a.b^x$	r
NE X W	$NE=20512W^{0,84}$	0,62
NE X EW	$NE=1.64E-06EW^{1.08}$	0.66
EW X AW	$AW=1.81E-05EW^{3.39}$	0.76
EW X CW	$CW=6.25E-08EW^{3.98}$	0.85
EW X W	$W=0.008EW^{1.38}$	0.85

Table 4. Comparison of fecundity between *C. sapidus* and other portunids also found in the Patos Lagoon estuary. Adapted from Mantelatto & Fransozo (1997).

Species	Study Area	Author	CW min-max. (mm)	Fecundity - min-max. (mean)
<i>Callinectes sapidus</i>	USA	Churchill (1918)	-	1,750,000-2,000,000
<i>Callinectes sapidus</i>	USA	Truitt (1939)	-	700,000-2,000,000
<i>Callinectes sapidus</i>	USA (Virginia)	Prager <i>et al.</i> (1990)	129.3-156.1	1,230,000-4,500,000 (3,200,000)
<i>Callinectes sapidus</i>	Babitonga Bay (SC) Brazil	Pereira <i>et al.</i> (2009)	100.0-150.0	651,241-1,704,300 (978,109)
<i>Callinectes sapidus</i>	Patos Lagoon (RS) Brazil	Present study	70.54-127.72	152,799-2,573,575 (1,046,803)
<i>Callinectes danae</i>	Cananéia (SP) Brazil	Yamamoto (1977)	30.0-44.0	147,023-789,407 (400,989)
<i>Callinectes danae</i>	Vitória (ES) Brazil	Sá (1987)	34.8-51.0	229,000-1,064,000
<i>Callinectes danae</i>	Rio de Janeiro (RJ) Brazil	Medeiros & Oshiro (1990)	72.4-106.8	447,000-2,190,000 (783,000)
<i>Callinectes danae</i>	Florianópolis (SC) Brazil	Branco & Avilar (1992)	75.0 - 110.0	111,549-1,292,190 (598,885)
<i>Callinectes danae</i>	Babitonga Bay (SC) Brazil	Pereira <i>et al.</i> (2009)	70.0 - 110.	618,667-811,267
<i>Callinectes danae</i>	Ubatuba (SP) Brazil	Costa (1995)	48.0-83.0	363,660 - 826,638 (477,646)
<i>Callinectes ornatus</i>	Ubatuba (SP) Brazil	Mantelatto & Fransozo (1997)	46.0-61.0	56,817 - 379,815 (171,570)

Discussion

The fecundity of *Callinectes sapidus* in the Patos Lagoon estuary is similar to other inhabited estuaries (Table 4). Methods of obtaining fecundity varied through time (Diaz, 1983, Barutot *et al.*, 2009), possibly explaining some of the differences in fecundity estimates obtained for *C. sapidus* in other studies. It is clear that among the species that occur in the Patos Lagoon estuary, *C. sapidus* produces the most eggs.

The portunids typically produce more eggs than other families of crabs, perhaps due to the high amount of eggs lost from unfertilization, but also because of diseases and parasites (such as the nemertean *Carcinonemertes sp.* and the barnacle *Octolasmis muelleri*) that decrease the total viability of the future breed (Voris & Jeffries, 2001; Mantelatto *et al.*, 2003).

Jacobs *et al.*, (2003) determined that in the Gulf of Mexico there is a difference between the size of *C. sapidus* eggs from spring and late summer, but this is due to differences in water content, not to increased organic material. Diameter of eggs were not measured in this study because of viability reasons: the eggs were preserved in ethanol 70%, losing most of their water content, and therefore were not considered accurate measurements of egg diameter.

There is great variation in fecundity among Brachyura: the grapsoid crab *Neohelice granulata* (Dana, 1851) can carry an average of 28.000 eggs (Barutot *et al.*, 2009) while some majids have highly variable fecundity, ranging from 4 to 180 million eggs per female (Schejter & Spivak, 2005). A species that relies on a large number of eggs tends to use a reproductive strategy (r) rather than parental care (K). The fecundity for *C. sapidus* in the Patos Lagoon estuary is similar to other inhabited estuaries (Table 4), suggesting that there is a pattern in its reproductive potential even though there is a distinctly separate distribution based on geographical region of the Atlantic Ocean (Melo, 1999).

Data from ovigerous female abundance suggests that the species spawns from mid spring through the beginning of autumn (from October to April). In the Patos Lagoon estuary this period is marked by an increase in the average temperature compared to the winter (National Meteorology Institute – INMET). Mantelatto & Fransozo (1997), studying *Callinectes ornatus* on the shore of Ubatuba, São Paulo, describe two distinct spawning periods, which they attribute to the more consistently warm temperatures as a result of the tropical location of Ubatuba. The abundance of

females in the spawning region of Patos Lagoon peaked at the end of summer, and the abundance of ovigerous females appears to be positively correlated with salinity (Figure 4). However, in spite of high salinity from April to June, the abundance of ovigerous females declined during this period, suggesting that temperature is the main environmental factor responsible for the decrease of these individuals in catches in the estuary (Figure 4), what has been confirmed by the statistical analysis. The Patos Lagoon estuary is in a warm-temperate transition biogeographical zone, due to the influence of the Subtropical Convergence of the Southwest Atlantic (Seeliger *et al.*, 1998). It is also subjected to the Río de la Plata low salinity water discharges (Piola, *et al.*, 2005) that in some extent limit the distribution of planktonic organisms, *Callinectes sapidus* larvae included. When conditions are favorable, most females increase weight rapidly, mature quickly and direct much of their biomass to reproduction, leading to an increase in the average fecundity of the population (Prager *et al.*, 1990). If eggs from these females hatch during the optimal peak of salinity and temperature (e.g. March), larvae have their best chance of survival. High larval survival, along with factors such as larval retention and transport back into the estuary will allow this cohort to succeed. When females hatch their eggs at the end of the spawning season, larvae are subjected to an adverse environmental situation, and high mortality can be expected for this cohort.

The four size classes of females spawning in the estuary allow us to infer the existence of four distinct cohorts of spawning females. The first cohort consists of young females, less than six months old. The second and third cohorts represent females that are medium in size, while the fourth cohort represents the largest females. These largest individuals have higher reproductive potential and should be responsible for the greatest number of eggs released in the spawning area. The first cohort of young females likely copulated at a young age, and the second and third cohorts are probably the result of the main spawning peak during the previous year. The fourth and final cohort represents females that didn't mate during their first year of life.

Because larger females carry more eggs and produce more numerous offspring, it is hypothesized that the size class of females over 130 mm is critical to the success of recruitment the following year, because the number of eggs released during the first months are subjected to best environmental conditions what is essential for the recruitment of the species due to higher survival. However,

depending on the abundance of spawning females smaller than 130 mm, this group can produce a number of larvae as large or larger than the >130 mm cohort through sheer size of spawning stock. As such, it is necessary to protect the entire stock of spawning females in the estuary of Patos Lagoon because they support the recruitment of juveniles during the next breeding season.

For a complete understanding of the reproductive cycle of *C. sapidus* in the Patos Lagoon estuary, it is necessary to clarify some remaining points that are not yet well understood, such as the impact of nearshore current circulation on the ability of larvae hatched near the estuary mouth to recruit within the estuary versus migrating to other regions. Also a study on reproductive, genetic and population parameters along the longitudinal distribution of the species may answer questions about differences between sub-populations within the range of *C. sapidus*.

Acknowledgements

This study was funded by the National Research Council (CNPq). We are grateful to the trainees of the Laboratory of Decapod Crustaceans at FURG University, especially Paula Falcão, for help with egg counts under the microscope, and Dr. Luiz Felipe Cestari Dumont and Robert P. Dunn for help with the manuscript. The authors are also grateful to the two anonymous reviewers.

Literature cited

- Aguilar, R., Hines, A.H. Wolcott, T.G. Wolcott, D.L. Kramer M.A. & Lipcius, RN. 2005. The timing and route of movement and migration of post-copulatory female blue crabs, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), from the upper Chesapeake Bay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 319: 117-128.
- Barutot, R.A., D’Incao, F. & Fonseca, D.B. 2009. Reproductive biology of *Neohelice granulata* (Decapoda: Varunidae) in two salt marshes of the estuarine region of the Lagoa dos Patos Lagoon, southern Brazil. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 89(4): 769–774.
- Begg, G.A. & Waldman, J.R. 1999. An holistic approach to fish stock identification. *Fish. Res.*, 43:35-44.
- Benedet, R.A., Dolci D. & D’Incao F. 2010. Descrição técnica e modo de operação das artes de pesca artesanais do camarão-rosa no estuário da lagoa dos patos, rio grande do sul, Brasil. *Atlântica*, 32(1): 5-24.
- Branco, J.O. & Avilar, M.G. 1992. Fecundidade em *Callinectes danae* Smith (Decapoda, Portunidae) da Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 9(3/4): 167-173.
- Capitoli, R.R., Bemvenuti C.E., & Gianuca N.M. 1978. Estudos de ecologia bentônica na região estuarial da Lagoa dos Patos. I – As comunidades bentônicas. *Atlântica*, 3: 5-22.
- Churchill, E.P. Jr. 1917-1918. Life history of the blue crab. *Bulletin of the Bureau of fisheries*, 36: 95-128.
- Costa, T.M. 1995. Ciclo reprodutivo de *Callinectes danae* Smith, 1869 (Crustacea Decapoda, Portunidae) na região de Ubatuba (SP). Universidade Estadual Paulista (Master’s Thesis). 94p.
- Diaz, H, Conde J.E. & Bevilacqua, M. 1983. A volumetric method for Estimating Fecundity in Decapoda. *Marine Ecology Progress Series*, 10: 203-206
- Dumont, L.F.C. & D’Incao F. 2004. Growth and reproductive pattern of the caridean shrimp *Palaemonetes argentinus* Nobili, 1901 (Decapoda-Palaemonidae) in the south of Rio Grande do Sul, Brazil. *Nauplius*, 12(2): 151-163.
- Governo Federal. INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Brasil. Available at www.inmet.gov.br. Accessed on: August, 5th, 2011.
- Hartnoll, R.G., 1969. Mating in the Brachyura. *Crustaceana*, 16(2):161-181

- Hines A.H. 1988. Fecundity and reproductive output in two species of deep-sea crabs, *Geryon fenneri* and *Geryon quinquedens* (Decapoda: Brachyura). *Journal of Crustacean Biology*. 8(4): 557-562.
- Jacobs, J.J., Biesiot P.M., Perry H.M. & Trigg C. 2003. Biochemical Composition of Embryonic Blue Crabs *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Crustacea: Decapoda) from the Gulf of Mexico. *Bull. Mar. Sci.* 72(2):311-324.
- Jivoff, P, AH Hines & LS Quackenbush, 2007. Reproduction Biology and Embryonic Development. Chapter 7 In: Kennedy, VS & LE Cronin (eds). The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant.
- Kennedy, V.S. & Cronin L.E. 2007. The Blue Crab *Callinectes sapidus*. Maryland Sea Grant, 774p.
- Mantelatto, F.L.M. & Fransozo, A. 1997. Fecundity of the crab *Callinectes ornatus* Ordway 1863 (Decapoda, Brachyura, Portunidae) from the Ubatuba region, São Paulo, Brazil. *Crustaceana*, 70(2): 214-226.
- Mantelatto, F.L.M., O'Brien J.J. & Biagi R. 2003. Parasites and symbionts of crabs from Ubatuba Bay, São Paulo State, Brazil. *Comparative Parasitology*, 70(2): 211-214.
- Medeiros, M.F.S.T. & Oshiro L.M.Y. 1990. Aspectos reprodutivos de *Callinectes danae* Smith 1969 (Crustacea, Decapoda, Portunidae) na Baía de Sepetiba, RJ. *An. II Simp. Ecosis. Costa Sul Sudeste Brasil.*, ACIESP, 4: 150-159.
- Melo, G.A.S. 1999. Infraordem Brachyura (siris e caranguejos): espécies marinhas e estuarinas. In: Buckup L. & G. Bond-Buckup (ed.). Os Crustáceos do Rio Grande do Sul. Editora da UFRGS, Porto Alegre, Brazil, Chap. 25: 415-485.
- Mendonça, J.T, Verani J.R. & Nordi N. 2010. Evaluation and management of the blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda - Portunidae) fishery in the Estuary of Cananéia, Iguape and Ilha Comprida, São Paulo, Brazil. *Braz. J. Biol.*, 70(1):37-45.
- Oliveira, A.R. de. 2005. Bioecologia do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896), na região estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Universidade do Rio Grande, Instituto de Oceanografia (Doctoral Thesis). 180p.
- Pereira, M.J.P., Branco J.O., Christoffersen, M.L., Freitas F. Jr., Fracasso H.A.A. & Pinheiro, T.C. 2009. Population biology of *Callinectes danae* and *Callinectes sapidus* (Crustacea: Brachyura: Portunidae) in the south-western Atlantic.

- Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 89: 1341-1351.
- Piola, A.R., Matano, R.P., Palma, E.D., Möller O.O. Jr, & Campos E.J.D. 2005. The influence of the Plata River discharge on Western South Atlantic shelf. *Geophys Res. Lett.* 32:1-4.
- Prager, M.H., Mcconaugha J.R., Jones C.M., & Geer P.J. 1990. Fecundity of blue crab, *Callinectes sapidus*, in Chesapeake Bay: biological, statistical and management considerations. *Bull. Mar. Sci., Univ. Miami*, 46 (1): 170-179.
- Robles, R, Schubart, C.D., Conde, J.E., Carmona-Suárez, C., Alvarez, F., Villalobos, J.L., & Felder, D. 2007. Molecular phylogeny of the American *Callinectes* Stimpson, 1860 (Brachyura: Portunidae), based on two partial mitochondrial genes. *Marine Biology*, 150:1265-1274.
- Rodrigues, M.A. & D’Incao, F. Comparação do crescimento entre *Callinectes sapidus* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) coletados em campo e mantidos em condições controladas. *Iheringia, Sér. Zool.*, 98(3): 372-378.
- Sá, H.S. 1987. Relação entre a fecundidade e o tamanho do corpo do siri-tinga *Callinectes danae* (Crustacea, Portunidae) da Baía de Vitória, Espírito Santo. *Revista Cultural*, 1: 1-9.
- Santos, S. 1994. Biologia reprodutiva de *Portunus spinimanus* Latreille, 1819 (Crustacea, Brachyura, Portunidae) na região de Ubatuba (SP). Universidade Estadual Paulista (Doctoral Thesis). 170p.
- Schejter, L & Spivak, E. 2005. Morphometry, sexual maturity, fecundity and epibiosis of the South American spider crab *Libidoclaea granaria* (Brachyura: Majoidea). *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 85: 857-863.
- Seeliger U, Odebrecht, C. & Castello, J.P. 1998. Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Editora Ecoscientia, Rio Grande Brazil, 337p.
- Truitt, RV. 1939. Our water resources and their conservation. *Chesapeake Biological Laboratory Contribution*, 27: 10-38.
- Voris, HK. & Jeffries, WB. 2001. Distribution and size of a stalked barnacle (*Octolasmis muelleri*) on the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Bulletin of Marine Science*, 68(2):181-190.
- Yamamoto, NU. 1977. Crustáceos decápodes das áreas de pesca de Cananéia, litoral sul do Estado de São Paulo Universidade de São Paulo (Doctoral Thesis). 98p.