



**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
MESTRADO EM BIOLOGIA MARINHA
LABORATÓRIO DE GENÉTICA MARINHA E EVOLUÇÃO**

**ESTABILIDADE TEMPORAL DOS NÍVEIS DE VARIAÇÃO GÊNICA DO
BIVALVE INVASOR *Isognomon bicolor* (C.B. ADAMS, 1845) NA PRAIA DE
ITAIPU, NITERÓI-RJ**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós Graduação em Biologia
Marinha da Universidade Federal
Fluminense, como requisito para
obtenção do grau de Mestre em
Biologia Marinha

RAMON PEREIRA LOPES

**ORIENTADOR
DR. EDSON PEREIRA DA SILVA**

**Niterói – RJ
2014**

RAMON PEREIRA LOPES**ESTABILIDADE TEMPORAL DOS NÍVEIS DE VARIAÇÃO GÊNICA DO
BIVALVE INVASOR *Isognomon bicolor* (C.B. ADAMS, 1845) NA PRAIA DE
ITAIPU, NITERÓI- RJ**

Banca Examinadora:

Dr. Paulo Cesar de Paiva (Titular)

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dra. Mirian Araújo Crapez (Titular)

Universidade Federal Fluminense

Dr. Edson Pereira da Silva (Presidente)

Universidade Federal Fluminense

Dra. Rosa Cristina Corrêa Luz de Souza (Suplente)

Universidade Federal Fluminense

L 864 Lopes, Ramon Pereira

Estabilidade temporal dos níveis de variação gênica do bivalve invasor *Isognomon bicolor* (C. B. Adams, 1845) na Praia de Itaipú, Niterói, RJ./Ramon Pereira Lopes. - Niterói: [s. n.], 2014.
64f.

Dissertação – (Mestrado em Biologia Marinha) – Universidade Federal Fluminense, 2014.

1. Bivalve. 2. Ecossistema marinho. 3. Variação genética. 4. Praia de Itaipú (Niterói, RJ). I. Título.

CDD.: 594.11

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me permitido chegar até aqui. Por ter me ajudado a superar cada um dos obstáculos e dificuldades pelas quais passei ao longo desses dois anos de curso.

Agradeço ao meu orientador, Edson Pereira da Silva, por ter me dado um voto de confiança e acreditado em mim. Agradeço a ele por ter sido tão paciente, prestativo e presente durante todo o curso. Edson, devo a você mais que um agradecimento, também te devo um pedido de desculpas por não ter correspondido as suas expectativas e por não ter sido capaz de realizar tudo o que você havia proposto.

Agradeço à Michelle Rezende Duarte, por toda a sua dedicação, colaboração e empenho. Você foi de fundamental importância para a execução deste trabalho. Obrigado pela paciência e pelas inúmeras explicações dadas!

Agradeço à Rosa Cristina Corrêa Luz de Souza, sempre tão carinhosa, amiga e disposta a ajudar. Obrigado por todas as revisões ortográficas, explicações, conselhos e por todas as conversas que tivemos!

Agradeço a minha família e amigos por todo o apoio dado e também pela compreensão em tantos momentos importantes em que não pude estar com vocês. Obrigado!

Agradeço ao Programa de Pós Graduação em Biologia Marinha e aos professores de cada uma das disciplinas em que tive oportunidade de participar. Aprendi muito com todos vocês!

Agradeço à Mirian, Rosa e ao Paulo Paiva por terem aceito com tanta boa vontade o convite de fazerem parte da minha banca de avaliação. Muito Obrigado!

E agradeço também à Capes, pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

Lista de figuras	vi
Lista de tabelas	vii
Resumo	viii
Abstract	ix
1. Introdução	10
1.1 Mudanças evolutivas em espécies invasoras	11
1.2 Variação gênica de espécies invasoras e invertebrados marinhos	14
1.3 Bivalves invasores no Brasil	18
1.4 <i>Isognomon bicolor</i>	22
1.5 Eletroforese de aloenzimas	24
2. Objetivos	27
3. Material e Métodos	28
4. Resultados	31
5. Discussão	39
6. Conclusão	48
7. Referências Bibliográficas	49
8. Apêndices	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação do efeito <i>bottleneck</i>	13
Figura 2: Representação gráfica do modelo neutralista (H X Ne)	17
Figura 3: Bivalve <i>Isognomon bicolor</i>	22
Figura 4: Distribuição do <i>I. bicolor</i> no Brasil	23
Figura 5: Eletroforese de aloenzimas	25
Figura 6: Ponto de coleta	28
Figura 7: Dendograma UPGMA	37
Figura 8: Interpretação dialética dos possíveis caminhos do processo de invasão biológica. A- Estabelecimento, B- Extinção, C- A possível sequência de eventos seguida pela população de <i>Isognomon bicolor</i> na Praia de Itaipu.	47

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Frequências alélicas	32 a 34
Tabela II: Tamanho médio de amostras, número médio de alelos por loco, grau de polimorfismo (%) e heterozigosidades médias observadas e esperadas para cada população	34
Tabela III: Probabilidade (P) de equilíbrio de Hardy-Weinberg	35
Tabela IV: Índices de endocruzamento de Weir & Cockerham para todos os locos	36
Tabela V: Matriz de similaridade genética	37
Tabela VI: Número de locos com deficiência/ excesso de heterozigotos	38

RESUMO

Aspectos ecológicos e genéticos das invasões biológicas são muito estudados, no entanto, isto ainda não é verdade para o ambiente marinho. Neste trabalho, a genética evolutiva do bivalve marinho invasor *Isognomon bicolor* (C.B. Adams, 1845) foi investigada. Indivíduos desta espécie foram coletados na Praia de Itaipu (Niterói – RJ) nos anos de 2005, 2009 e 2013 e analisados geneticamente pelo método de eletroforese de aloenzimas. Sete sistemas enzimáticos foram interpretados como 11 locos gênicos: α -Est-1, α -Est-2, Lap-1, Lap-2, Lap-3, Me-1, Me-2, Mdh, Pgd, Pgi e Sod. A heterozigosidade observada variou de 0,324 em 2013 a 0,534 em 2005, mas estas diferenças não foram significativas ao nível de 5% (teste U de Mann-Whitney). Estes resultados indicam níveis altos e estáveis de variação gênica ao longo dos oito anos estudados. Espera-se que populações invasoras apresentem baixos níveis de variação gênica devido ao forte efeito de deriva genética (*bottleneck*, efeito fundador) associado aos eventos de bioinvasão, contudo, isto não foi observado para *I. bicolor* neste estudo. Altos níveis de variação gênica em bioinvasores podem ser explicados como consequência do efeito *Wahlund*, que é acompanhado de desvios significativos ao equilíbrio Hardy-Weinberg e desequilíbrio de ligação entre locos. Neste estudo não foram observados desequilíbrios de ligação e apenas dois locos apresentaram desvios significativos ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (Mdh em 2005 e α -Est-1 em 2013). Os altos níveis de variação gênica do *Isognomon bicolor* na Praia de Itaipu e a estabilidade temporal desses níveis provavelmente são resultado de múltiplos episódios de introdução e a interação de alguns fatores naturais, como heterogeneidade ambiental, a reprodução sexuada e ciclo de vida com estágio larval de longa duração da espécie. Esses fatores também podem ser responsáveis pela ausência de muitos desvios significativos ao equilíbrio Hardy-Weinberg e desequilíbrio de ligação entre locos de *Isognomon bicolor* na população de Itaipu. Esses dados indicam que a espécie *Isognomon bicolor* na Praia de Itaipu apresenta-se naturalizada e, portanto, com pouca chance de ser eliminada. Desta forma, é provável que esta espécie não represente, no presente, uma ameaça para biodiversidade local, embora não seja possível descartar a possibilidade de que, no passado, ela possa ter tido efeitos ecológicos silenciosos.

ABSTRACT

Ecological and genetic aspects of biological invasions are well studied; nevertheless, this is not true for the marine environment. In this work, evolutionary genetics of the invader marine bivalve *Isognomon bicolor* (C.B. Adams, 1845) was studied in the Itaipu Beach (Niterói - RJ) for three different years 2005, 2009 and 2013. Allozyme electrophoresis was the method used to sample genetic variation. Seven enzymatic systems were interpreted as eleven loci: α -Est-1, α -Est-2, Lap-1, Lap-2, Lap-3, Me-1, Me-2, Mdh, Pgd, Pgi and Sod. The observed heterozygosity varied from 0,324 in 2013 to 0,534 in 2005, although not statically significant at the 5% level (Mann-Whitney U test). These results indicate high and stable levels of genetic variation through the eight years studied. It is expected that invader populations show low levels of genetic variations because of the strong genetic drift effect (bottleneck, founder effect) associated to the bioinvasive events, however, this was not observed to *I. bicolor* in this study. High levels of genetic variation in bioinvaders can be explained as a consequence of the Wahlund effect, which is followed by significant deviations to the Hardy-Weinberg equilibrium and linkage disequilibrium between loci. In this study it was not observed linkage disequilibrium and only two loci has shown significant deviations to the Hardy-Weinberg equilibrium (Mdh in 2005 and α -Est-1 in 2013). The high levels of genetic variation of *Isognomon bicolor* population in Itaipu Beach and its temporal stability are probably a result of the multiple introduction events associated with some environmental and biological factors such as the habitat heterogeneity, the sexual reproduction and the species life cycle with long lasting larval stage. These factors can also be responsible to the nonoccurrence of many significant deviations to the Hardy-Weinberg equilibrium and absence of linkage disequilibrium between loci in the *Isognomon bicolor* population in the Itaipu. These data indicate that the *Isognomon bicolor* population from Itaipu Beach is naturalized and, therefore, with low chances of being eliminated. Therefore, it is probable that this species does not represent, at present time, a threat to the local biodiversity; however it is not possible to discard the possibility that, in the past, it could have had silent ecological effects.

1. INTRODUÇÃO

Espécies invasoras, exóticas, não nativas, não indígenas ou alienígenas são organismos capazes de se propagar em um ecossistema onde seu registro anterior não foi documentado (Siokou et al. 2013).

Nem todas as espécies introduzidas tornam-se invasoras, sendo que o processo que envolve o sucesso no período de introdução ainda é pouco compreendido (Williamson & Fitter 1996). Estima-se que de todas as espécies introduzidas em novos habitats, apenas 10% ou menos consiga se estabelecer e tornar-se invasora (Moro et al. 2012).

Em meio aquático, a introdução de espécies pode se dar de forma natural ou ser mediada por uma série de vetores tais como água de lastro e incrustação em cascos de navios, detritos marinhos, boias de navegação e flutuantes, plataformas de petróleo, equipamentos de recreação, aquicultura, canais (de nível, comportas, irrigação), dentre outros (Souza et al. 2009a).

Estas invasões biológicas criaram desafios complexos e de grande extensão ao bem-estar das populações humanas. Espécies invasoras podem diminuir o rendimento dos cultivos no setor de maricultura, trazer prejuízos operacionais e financeiros para indústrias, usinas e transportes marítimos em função de incrustações em larga escala, provocar a perda do potencial pesqueiro nos ambientes em que foram introduzidas e, até, desencadear epidemias ou ondas de intoxicação capazes de matar ou incapacitar milhões de pessoas a cada ano (Souza et al. 2009b).

As espécies invasoras não compartilham um passado evolutivo com a comunidade invadida e esse fato faz das invasões biológicas um modelo interessante para compreensão dos processos que atuam na evolução dessas espécies e suas populações (Holland 2000).

1.1. Mudanças evolutivas em espécies invasoras

De acordo com Lee (2002) e Prentis et al. (2008), as espécies invasoras estão sujeitas a cinco tipos de mudanças evolutivas:

(1) **Hibridação** - É o cruzamento entre espécies (dos bioinvasores com espécies nativas ou com outras espécies invasoras). A hibridação pode reduzir a perda de variação gênica associada ao processo de bioinvasão (ver adiante *bottleneck*), bem como produzir uma gama de novos genótipos importantes à adaptação da espécie invasora ao novo ambiente. Os efeitos positivos da hibridação ao processo de bioinvasão incluem ainda crescimento mais rápido, maior tamanho dos híbridos e um aumento da agressividade, tornando-se uma alternativa às mudanças lentas envolvidas no processo de adaptação. A adaptação através de hibridização incluem, por exemplo, aquisição de resistência a herbicidas e tolerância ao frio em ervas daninhas de cultivos geneticamente modificados (Snow et al. 1999, Milne & Abbot 2000).

(2) **Rearranjos genômicos** - Compreende outro tipo de fenômeno que pode determinar a rápida adaptação das populações invasoras. A poliploidia (duplicação do genoma) e a alopoliploidia (hibridização seguida de duplicação do genoma) são processos de reconhecida importância na evolução das plantas. De maneira interessante, poliplóides parecem ocorrer com maior frequência em plantas invasoras do que entre as angiospermas em geral. Embora os motivos para essa alta frequência de poliplóides em espécies de plantas invasoras sejam desconhecidos, o fato é que, da mesma forma que na hibridização, poliplóides podem oferecer novos genótipos à ação da seleção natural e, portanto, permitir a adaptação, em curto prazo, da população invasora. É reconhecida, também, a importância de certas inversões cromossômicas na adaptação das espécies invasoras. Uma força importante na determinação dos rearranjos genômicos podem ser

os transponsos, que são sequências móveis do DNA capazes de se inserir em diferentes posições no genoma causando um processo de liga/desliga nos genes.

(3) **Modificação do genoma induzida pelo estresse** - A exposição às condições bióticas e abióticas do novo ambiente pode, também, causar uma instabilidade no genoma, nesse caso, mediada pelo estresse ambiental. Tem sido demonstrado que patógenos, bem como estresse abiótico (elevadas exposições à UV) produzem instabilidade do genoma (aumento da taxa de recombinação homóloga, ativação de transponsos, mutações). Embora alterações ao acaso do genoma mediadas pelo estresse ambiental sejam, na grande maioria das vezes, deletérias, variação gênica benéfica associada às pressões de seleção natural pode produzir adaptação.

(4) **Efeito de determinados genes** - De forma semelhante, o efeito de determinados genes (e não obrigatoriamente o seu número), pode auxiliar a habilidade de colonização das espécies invasoras. Como exemplo, é possível citar o caso da formiga fogo *Solenopsis invicta*, que invadiu o sudoeste dos Estados Unidos da América há 60 anos. Essa formiga possui o gene *Gp-9*, que codifica uma proteína de ligação dos feromônios, fazendo com que os trabalhadores da colônia consigam reconhecer com mais facilidade as rainhas e controlarem o seu número. Dessa forma, a *S. invicta* apresentava maiores densidades de ninhos e maiores impactos sobre as populações de formigas nativas do que de colônias que apresentam uma única rainha (Porter & Savignano (1990); Krieger & Ross (2002). Embora ainda não tenham sido identificados genes com este efeito para espécies aquáticas, é pouco provável que eles sejam exclusivos de determinados grupos.

(5) **Bottleneck** - O efeito gargalo (em português), por outro lado, é um caso extremo de deriva genética (quando o acaso tem papel importante na determinação de quais genes estarão presentes na próxima geração) que ocorre pela redução drástica do tamanho populacional (ver Figura 1). A chegada accidental de um ou poucos indivíduos

de uma espécie em um novo ambiente, como se dá no caso das bioinvasões, é um exemplo de *bottleneck* (conhecido, nesse caso, como efeito fundador). Neste caso, há uma perda de diversidade alélica devido aos efeitos de deriva, já que o tamanho efetivo da população (N_e) é baixo. Em populações pequenas, a probabilidade de reprodução entre indivíduos aparentados (endogamia) rapidamente se torna elevada, levando ao aumento da homozigose e expressão de alelos deletérios recessivos. Estes fenômenos levam a uma perda de diversidade alélica, portanto, espera-se que populações bioinvasoras apresentem baixos níveis de variação gênica (Roman & Darling 2007; Geller et al. 2010). A variação gênica reduzida limita a habilidade de uma população em se adaptar e, além disso, populações de pequeno tamanho apresentam maior risco de extinção (Allendorf & Lundquist 2003). Assim, as invasões biológicas funcionam, geralmente, como “*becos-sem-saída*” evolutivos. No entanto, algumas populações introduzidas tornam-se invasoras (Kolbe et al. 2004).

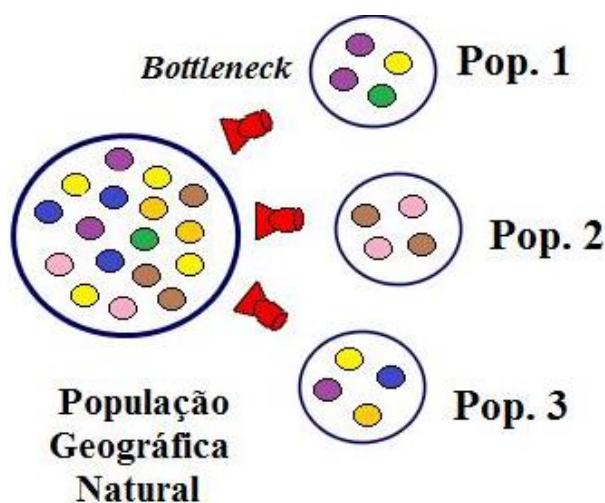


Figura 1: Representação gráfica do efeito *Bottleneck*, onde de uma população geográfica natural, são formadas três pequenas populações, sendo que cada uma contém apenas parte da variação gênica original.

Outro fator importante para o sucesso das espécies invasoras é o estado de degradação do ambiente invadido, embora esse não seja um tipo de mudança evolutiva, mas sim uma contingência histórica (Cohen & Carlton 1998), é conhecido, por exemplo, que ambientes poluídos podem facilitar o crescimento de espécies invasoras, provavelmente, pela diminuição da competição (Duff et al. 2000).

As mudanças evolutivas descritas acima são capazes de gerar populações geneticamente distintas, tanto no espaço quanto no tempo, o que interefere diretamente no sucesso ou fracasso das espécies invasoras no ambiente em que foram introduzidas, devido à alteração dos níveis de variação gênica populacional (Roman 2006; Gomulkiewicz et al. 2010).

1.2. Invertebrados marinhos, variação gênica e bioinvasão

O sucesso no estabelecimento de uma população bioinvasora está relacionado com o seu nível de variação gênica, pois ele oferece a essa população uma maior flexibilidade nas respostas às pressões do novo ambiente (Stepien et al. 2005).

A variação gênica de populações invasoras deveria ser reduzida, pois os efeitos da deriva genética são mais severos nessas populações já que, geralmente, são fundadas por um número pequeno de indivíduos (Eckert et al. 1996). No entanto, esse quadro vem sendo revisto para o ambiente marinho (Frankham 2005). Nos últimos 10 anos, estudos sobre invasões biológicas mostram que algumas espécies invasoras, como o mexilhão zebra *Dreissena polyhmorpha* (Pallas) e o caranguejo verde *Carcinus maenas* (Linnaeus 1758), por exemplo, têm sido introduzidas em grande número (Wares et al. 2005; Gelembiuk et al. 2006; Roman 2006).

A introdução de uma grande quantidade de indivíduos aumenta as chances de que as populações recém-fundadas contenham amostras representativas da variação

gênica das populações-fonte (Roman & Darling 2007). Populações invasoras com alta variação gênica enfrentam menor dificuldade para se instalar e sobreviver no novo ambiente devido a maior capacidade de adaptação (Allendorf & Lundquist 2003).

Dentre os organismos invasores estão os invertebrados marinhos que, geralmente, apresentam alta variação gênica em seus ambientes naturais (Ahmad et al. 1977; Nei 1978; Brand 1982; Beaumont & Beveridge 1984; Schaeffer et al. 1985; Benzie & Ballment 1994; Diehl & Biesiot 1994; Manchenko et al. 2000; Addison & Hart 2004; Magalhães et al. 2007) e organismos com essa característica tendem a se tornar invasores bem sucedidos (Morton 1997).

Alguns modelos são utilizados para entender esse fenômeno de alta variação gênica em invertebrados marinhos, baseando-se tanto na ação da seleção natural quanto na ação de fatores estocásticos (Solé-Cava & Thorpe 1991; Silva 2002). O primeiro modelo se refere à variação temporal através da hipótese de sobredominância. De acordo com essa hipótese, diferentes alelos apresentam diferentes respostas a determinados fatores ambientais de modo que organismos heterozigotos seriam mais aptos a responder a um gradiente de variação ambiental em comparação com os organismos homogizogotos. Assim, organismos que vivem em ambientes mais estáveis apresentariam menor polimorfismo que os organismos que vivem em ambientes com oscilações constantes (Levinton 1973). Esta hipótese foi testada para dois locos enzimáticos (*Pgi* e *Lap*) em um estudo com oito espécies de bivalves do gênero *Macoma* (Leach 1819), duas delas sendo da zona entremarés e as outras seis são da zona sublitoral (Levinton 1975). De acordo com essa hipótese, as espécies da zona entremarés deveriam apresentar maiores níveis de variação gênica, mas isso não aconteceu. Entretanto, outro estudo desenvolvido por Sin et al. (1990), nas mesmas zonas litorâneas, com o mexilhão *Perna canaliculus* (Gmelin, 1791), evidenciou maiores

níveis de variação gênica nos indivíduos da região entremarés, estando de acordo com os pressupostos da hipótese de variação temporal no ambiente.

O segundo modelo para explicar os elevados níveis de variação gênica em invertebrados marinhos se baseia na hipótese de heterogeneidade espacial do ambiente. Os níveis de variação gênica dependeriam do número de subdivisões percebidas pelo organismo no ambiente, o que é conhecido como grão-ambiental. Organismos bentônicos sésseis podem perceber inúmeras subdivisões no ambiente, manifestadas no processo de recrutamento, na ocorrência de seleção do substrato pelas larvas e na susceptibilidade a vários tipos de seleção pós-assentamento (Gillespie 1974). Essa hipótese foi testada por Billio (2004) que investigou a variação gênica em três populações de *Perna perna* com indivíduos do médio e do infralitoral. Os seus resultados mostraram diferenças significativas de frequências dos alelos para os locos *Cat* e *Sod-2*. A autora associou esta diferença ao estresse oxidativo a que estes organismos são submetidos, já que essas enzimas estão diretamente relacionadas aos mecanismos de defesa antioxidante.

Embora esses modelos relacionando variação gênica e ambiente tenham sido propostos para explicar os altos níveis de variação encontrados em organismos marinhos, em especial os invertebrados, nenhum dos dois foi capaz de explicar completamente o fenômeno. Isso se deve, principalmente, às dificuldades em classificar e entender a diversa e dinâmica interação entre espécies e seus ambientes (Silva 2009).

Existem explicações que não usam a seleção natural como a principal força evolutiva responsável pela manutenção da variação gênica. O modelo neutralista considera os altos níveis de variação gênica encontrados em populações naturais, como um produto da relação entre as forças evolutivas deriva genética e mutação (Kimura

1968). De acordo com esse modelo é possível fazer previsões a respeito do padrão de variação gênica por meio da fórmula:

$$H = 1 - [4Ne\mu / (1 + 4Ne\mu)]$$

Onde:

Ne = tamanho efetivo da população

μ = taxa de mutação

H = heterozigosidade

Em uma população finita com tamanho efetivo (Ne), os alelos estarão entrando por mutação e se perdendo por ação da deriva genética. Desta forma, para uma dada taxa de mutação (que geralmente é muito semelhante para todos os seres vivos), é possível construir uma curva teórica que representa a distribuição esperada da variação gênica (medida como heterozigosidade) em função dos Ne 's (Solé-Cava et al. 2004).

Populações pequenas sofrem maior efeito de deriva genética e, admitindo-se uma taxa de mutação constante, espera-se que elas tenham um menor nível de variação gênica (Figura 2).

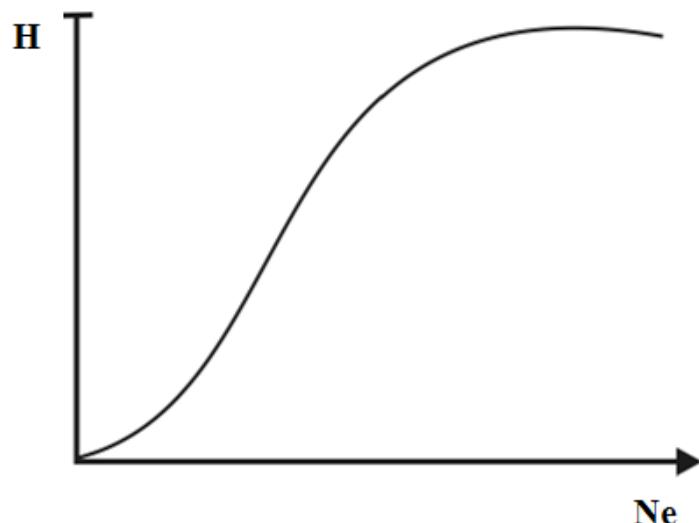


Figura 2: Representação do formato de uma curva de relação entre tamanho efetivo de população (Ne) e heterozigosidade (H), segundo o modelo neutralista. Nesse gráfico não estão definidos os valores de Ne , H e μ (taxa de mutação), uma vez que o interesse é só ilustrar o formato das curvas produzidas pelo modelo neutralista (Extraído de Solé-Cava et al. 2004).

Entre os invertebrados marinhos invasores, destacam-se os bivalves da região entremarés (Beaumont & Zouros 1991; Gallardo et al. 1998; José & Solferini 2007). Desta forma, populações de moluscos bivalves da região entremarés representam modelos interessantes para compreensão dos processos biológicos associados às invasões biológicas, bem como para o estudo dos processos evolutivos a elas relacionados (Holland 2000).

1.3. Bivalves invasores no Brasil

Os bivalves são organismos exclusivamente aquáticos pertencentes ao filo dos moluscos. Eles formam um grupo extremamente bem sucedido e diversificado, podendo ocorrer em ambientes de salinidade diversa como água salgada, doce ou salobra (Purchon 1977).

Existem registros de bivalves exóticos introduzidos em várias partes do mundo, sendo que no Brasil, até o momento, foram identificadas nove espécies: *Myoforceps aristatus* (Dillwyn 1817); *Mytilopsis leucophaeta* (Conrad 1831); *Perna perna* (Linnaeus 1758); *Corbicula fluminea* (Müller 1774); *Corbicula manilensis* (Philippi 1844); *Corbicula largillierti* (Philippi 1844); *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857); *Crassostrea gigas* (Thunberg 1795) e *Isognomon bicolor* (C.B. Adams 1845) (Fernandes et al. 2011) (Apêndice C).

Os bivalves *Myoforceps aristatus* e *Mytilopsis leucophaeta* são classificados como espécies detectadas: classificação dada para as espécies que tiveram registros isolados no ambiente natural, não tendo registros posteriores do aumento de abundância ou dispersão. Caso a espécie detectada volte a aparecer, sendo encontrada de forma recorrente e apresentando indícios de aumento populacional, ela passa a ser classificada como espécie estabelecida ou naturalizada, porque já mantém interações com as demais espécies. Essa é a situação em que se enquadra o bivalve *Perna perna*, que foi

introduzido entre os séculos XVIII e XIX e é encontrado hoje em grande parte do litoral brasileiro (Souza et al. 2009b).

Quando as espécies exóticas vencem as pressões ecológicas, tornam-se dominantes e conseguem se dispersar para outras regiões são chamadas de espécies invasoras, atual classificação de *Corbicula fluminea*, *Corbicula manilensis*, *Corbicula largillieri*, *Crassostrea gigas*, *Limnoperna fortunei* e *Isognomon bicolor*.

Corbicula fluminea - Espécie de água doce pertencente à família Corbiculidae, endêmica do sudeste da Ásia. A resistência ao estresse ambiental, tolerância a diferentes substratos, alta capacidade reprodutiva, rápido crescimento e capacidade de filtrar grandes volumes de água, fizeram da *C. fluminea*, popularmente chamada de amêijoa-asiática, um importante membro de muitas comunidades bentônicas de água doce no Brasil. A introdução de *C. fluminea* na América do Sul ocorreu, provavelmente, entre 1965 e 1975, tendo o primeiro registro no estuário do rio da Prata, na Argentina (Ituarte 1981). Veitenheimer-Mendes (1981) registrou pela primeira vez, a presença de representantes asiáticos do gênero *Corbicula* no sul do Brasil. A partir daí, inúmeros trabalhos mostraram a ocorrência e dispersão da espécie na região sul do país e, pouco tempo depois, já em regiões mais distantes como Amazônia, Brasília e Pantanal.

Corbicula manilensis - Espécie de água doce pertencente à família Corbiculidae, endêmica da Ásia Oriental. Possui um alto grau de tolerância às variações ambientais, a períodos de seca, e a cursos d'água aparentemente poluídos (Gardner et al. 1976; Jenkinson 1979). Foi registrada pela primeira vez para a América em 1938 para o Rio Columbia, no estado de Washington, Estados Unidos da América (Dundee & Dundee 1958). Seu primeiro registro em território brasileiro foi feito por Veitenheimer-Mendes (1981) na Bacia do Jacuí e do Guaíba, Rio Grande do Sul.

Corbicula largillieri - Espécie de água doce pertencente à família Corbiculidae, endêmica da Ásia Oriental. Assim como as outras espécies do gênero citadas, a *C. largillieri* possui tolerância ao estresse ambiental e a diferentes substratos, além de alta capacidade reprodutiva e crescimento rápido. Porém, já foi observado que essa espécie leva desvantagem quando se encontra em competição com *C. fluminea*, o que gera uma queda drástica de tamanho populacional (Takeda et al. 2000; Mansur et al. 1987, 2003). Seu primeiro registro para a América do Sul ocorreu no século passado, sendo registrado na Argentina e na região Sul do Brasil no final dos anos 60 (Ituarte 1994).

Limnoperna fortunei - Mais conhecido com mexilhão-dourado, é uma espécie de água doce pertencente à família Mytilidae, endêmica do sul da Ásia. É capaz de se fixar em uma grande variedade de substratos. Possui grande capacidade adaptativa. Densidades de até 150.000 indivíduos/m². Com 30 dias e aproximadamente 0,5 cm já começam a reproduzir. No Brasil, essa espécie foi registrada em 1998, no Pantanal Mato-Grossense (Oliveira 2003) e no sistema da Lagoa dos Patos (Mansur et al. 1999, 2003). Tornou-se uma praga nas bacias do Paraná, Paraguai, Uruguai e Jacuí/Patos. Os danos ambientais causados pelo mexilhão dourado são documentados na literatura, principalmente para o abastecimento público de água, destruição de habitats e a diminuição da fauna nativa (Magara et al. 2001).

Crassostrea gigas - Espécie de ostra marinha pertencente à família Ostreidae, endêmica do Oceano Pacífico na Coréia, China e Japão. Também conhecida como ostra-do-pacífico, essa espécie tem capacidade de desenvolver populações com densidades elevadas, e em muitas áreas, tem chances de passar a ser a espécie dominante podendo

causar alterações na comunidade nativa. Ela foi introduzida em muitos países com finalidade de aquicultura. Entre os países em que foi introduzida, além do Brasil, é possível citar: Inglaterra, França, Espanha, Portugal, Marrocos, Mar Mediterrâneo, Estados Unidos, Canadá, Coréia, China, Nova Zelândia, Panamá e Caribe. Essa ostra foi trazida para o Brasil na década de 70 (Costa 1985), sendo que possui uma atual importância na indústria de aquicultura nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Rio de Janeiro. A *C. gigas* não se reproduzia naturalmente na costa brasileira, entretanto Melo et al. (2010) registraram a sua ocorrência em bancos naturais de Florianópolis e Laguna (SC).

Há uma quantidade significativa de trabalhos com estas espécies de bivalves invasores no Brasil, entretanto, a maior parte são estudos ecológicos, ou seja, não envolvem genética. O número de trabalhos genéticos com espécies invasoras no Brasil é reduzido, como por exemplo, os trabalhos de Villela et al. (2006) com *Limnoperna fortunei*, os de Pie et al. (2006) e Melo et al. (2010) com a *Crassostrea gigas* e o de Simonato et al. (2010) com *Corbicula fluminea*. E dependendo do bivalve invasor em questão, como o *Isognomon bicolor*, os trabalhos genéticos são ainda mais escassos (Aranha 2010).

1.4. *Isognomon bicolor*

O *Isognomon bicolor* (C.B.Adams 1845) é um bivalve marinho invasor encontrado no litoral do Brasil (Figura 3). Essa espécie é nativa do mar do Caribe e invadiu a costa brasileira, provavelmente, por meio de incrustação nos cascos de navios e em águas de lastro (Henriques & Casarini 2009). Possui fecundação externa, com a liberação de gametas na coluna d'água e presença de estágio larval planctotrófico (Temkin 2006; López 2008). Está presente no litoral brasileiro desde meados da década de 70, quando foi registrado em Atol das Rocas (Natal, RN) (Domaneschi & Martins 2002).



FOTOS: JOEL WOOSTER

Figura 3: Bivalve invasor *Isognomon bicolor*.

Os espécimes encontrados em Atol das Rocas foram identificados inicialmente como *Isognomon alatus* (Matthews & Kempf 1970). Na década de 80, Abbott & Dance (1983) registraram *I. alatus* e, também, *I. radiatus* para a costa brasileira, mas a partir do final da década de 90 começaram a surgir dúvidas com relação a identificação correta dessas espécies no país. Só então Martins (2000), após a realização de análises e comparações morfológicas entre indivíduos coletados em grande parte da costa brasileira e provenientes de coleções de museus internacionais, concluiu que os espécimes anteriormente identificados como *I. alatus* ou *I. radiatus*, se tratavam, na

verdade, de *Isognomon bicolor*, única espécie do atlântico oeste que, a princípio, não ocorria no Brasil (Domaneschi & Martins 2002).

Atualmente, *I. bicolor* pode ser encontrado em grande parte da costa brasileira, incluindo as regiões Nordeste (RN, PE e BA), Sudeste (SP e RJ) e Sul (PR e SC) (Figura 4). Ele possui rápido crescimento, apresentando altas densidades nos costões rochosos, ocorrendo desde a faixa superior do médio litoral até sete metros de profundidade. Suas conchas têm um tamanho médio que varia entre 28mm e 38mm, adotando as mais diversas formas e isso permite que este bioinvasor possa se expandir entre e sobre os demais organismos incrustantes do costão rochoso, limitando assim, a habilidade que estes organismos poderiam ter para obtenção de alimento (Zamprogno et al. 2010).



Figura 4: Distribuição do *Isognomon bicolor* no território brasileiro.

A variação gênica do *Isognomon bicolor* já foi estudada por Aranha (2010) com espécimes coletados ao longo do litoral sudeste do Brasil. Porém, o trabalho do referido autor teve abordagem geográfico-ecológica, utilizando a técnica de eletroforese de aloenzimas para caracterizar os níveis de variação e estruturação genética do *I. bicolor* e do bivalve *Brachidontes solisianus*, com o objetivo de comparar a variação gênica da

espécie invasora com a espécie nativa. Já o atual estudo tem como objetivo de avaliar como os níveis de variação gênica da espécie evoluíram no tempo.

1.5. Eletroforese de aloenzimas

Uma técnica molecular muito utilizada para mensuração da variação gênica e que já teve grande impacto nos estudos populacionais é a eletroforese de aloenzimas (Figura 5). De uma forma bem resumida, essa técnica pode ser definida como a migração de partículas sob a ação de uma corrente elétrica. Ela se baseia nas características fisico-químicas das proteínas, ou seja, nas suas diferentes cargas elétricas (Silva 2009).

Outro fator relevante é que, pelos princípios da biologia molecular, espera-se certa correspondência entre a sequência de nucleotídeos no DNA e a sequência de aminoácidos na proteína por ele codificada, ou seja, entre o gene e o seu produto. Proteínas diferentes apresentam cargas elétricas também diferentes, fato que irá se manifestar em diferentes mobilidades eletroforéticas (Silva 2004).

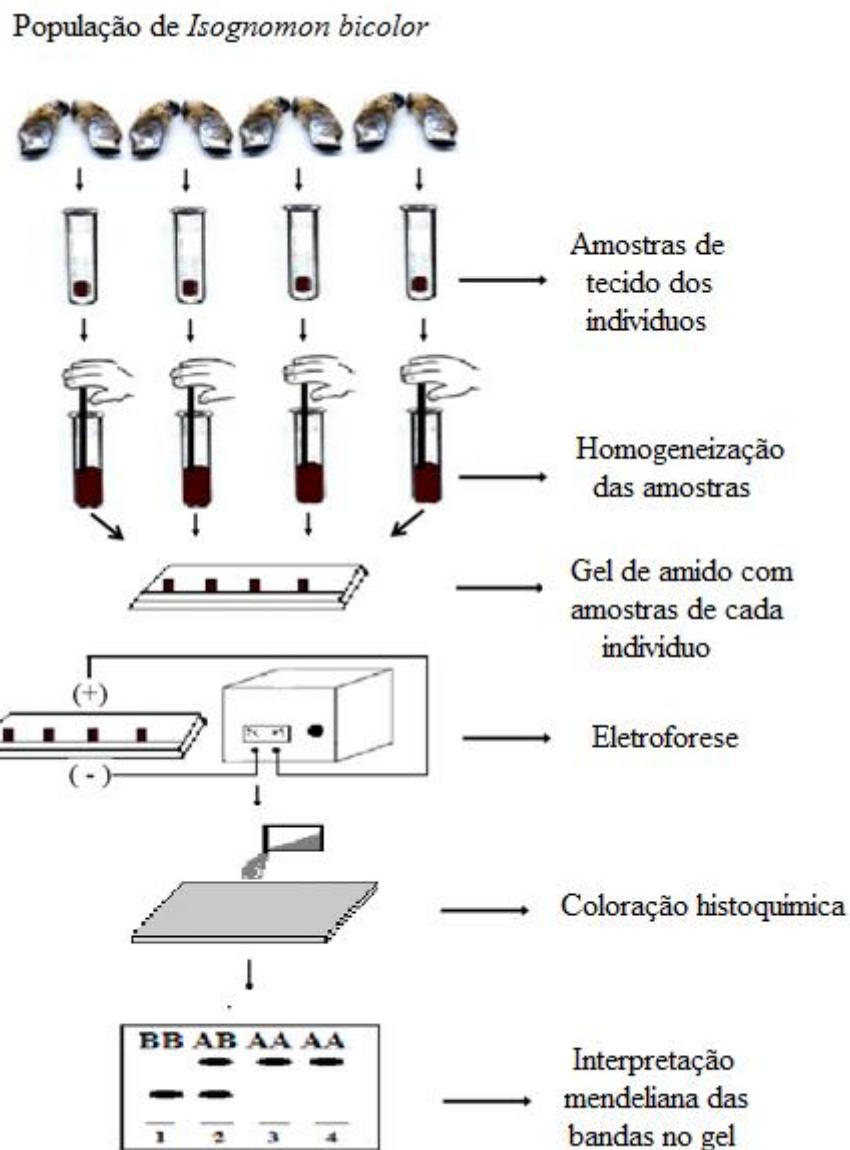


Figura 5: Resumo da aplicação do método de eletroforese de aloenzimas para a amostragem da variação gênica nas populações de *Igonomon bicolor*.

A aplicação da técnica de eletroforese de aloenzimas para o estudo de espécies invasoras apresenta como vantagens a fácil preparação de extratos, o preço relativamente barato e sua objetividade. No entanto, seu uso também apresenta algumas limitações, como por exemplo, a subestimativa da variação gênica total. Por eletroforese não são detectadas substituições de aminoácidos que não mudam a carga da proteína, alterações silenciosas no DNA e variação em íntrons (Silva 2009).

Além disso, trabalhos com aloenzimas demandam uma quantidade razoável de material biológico (10 a 50 mg por loco gênico analisado), que deve estar obrigatoriamente fresco ou congelado. Mas, talvez, a maior limitação do método esteja no fato de que a variação amostrada por eletroforese seja, na realidade, uma variação fenotípica, ou seja, dos produtos diretos dos genes e não dos genes ou DNA em si.

A eletroforese de aloenzimas já auxiliou com sucesso alguns trabalhos com bioinvasores no Brasil e em outros países, por exemplo, bivalves do gênero *Mytilus* no Chile (Cárcamo et al. 2005), o mexilhão zebra *Dreissena polymorpha* no Canadá (Hebert et al. 1989), a lagosta *Orconectes limosus* (Rafinesque 1817) na França (Filipová et al. 2009) e no Brasil, a mosca *Zaprionus indianus* (Gupta 1970) (Machado et al. 2005). Em todos estes casos, a eletroforese de aloenzimas se mostrou uma boa técnica para o estudo das bioinvasões. Portanto, devido a todos os fatores citados acima, a eletroforese de aloenzimas foi a técnica escolhida para avaliar a evolução dos níveis temporais de variação gênica do bivalve invasor *Isognomon bicolor* na Praia de Itaipu, Niterói - RJ.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Estudar a evolução dos padrões de variação gênica do bivalve invasor *Isognomon bicolor* na Praia de Itaipu (Niterói – RJ).

2.2. Objetivos Específicos

- Estimar os parâmetros genéticos básicos (polimorfismo, número de alelos, heterozigosidade) da espécie *I. bicolor* em três momentos no tempo (2005, 2009 e 2013);
- Realizar uma análise temporal dos níveis de variação gênica da espécie;
- Avaliar processos de redução/expansão populacional da espécie em Itaipu ao longo de oito anos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de amostras: As amostras dos anos de 2005, 2009 e 2013 foram coletadas na Praia de Itaipu (Figura 6) ($22^{\circ}59' S$ - $43^{\circ}04' W$), Niterói – RJ, de forma aleatória. Todas as amostras foram colocadas em um balde contendo água do local de coleta para que pudessem ser encaminhadas ao Laboratório de Genética Marinha e Evolução (LGME) da UFF. Ao chegar no laboratório, as amostras foram lavadas, ensacadas, e congeladas, sendo mantidas a $-20^{\circ} C$ até serem usadas para eletroforese de aloenzimas.

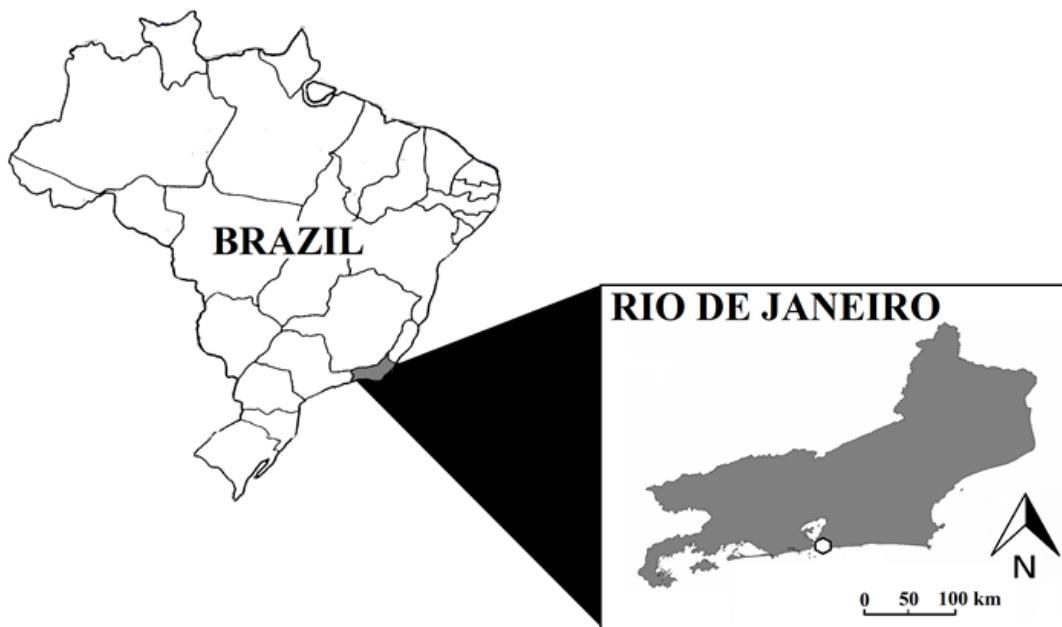


Figura 6: Ponto de coleta de amostras (Praia de Itaipu)

Eletroforese de aloenzimas: Eletroforese em gel horizontal foi realizada por métodos convencionais, utilizando géis de 12,5% de amido (Harris & Hopkinson 1972). Os géis foram corados para sete sistemas enzimáticos, que deram resultados interpretáveis como a expressão de onze locos gênicos: leucina aminopeptidase (*Lap - 1*, *Lap - 2* e *Lap - 3*), desidrogenase phosphogliconate (*Pgd*), phosphoglucoseisomerase (*Pgi*), malato desidrogenase (*Mdh*) superóxido dismutase (*Sod*), a alfa-esterase (α -*Est - 1* e α -*Est - 2*), e enzima málica (*Me- 1* e *Me-2*). O tampões utilizados foram Tris Citrato pH 8,0 (Martin

& Ames, 1961) para os três primeiros sistemas enzimáticos e Hidróxido de Lítio descontínuo pH 8,0 (Smith et al. 1973) para os últimos quatro sistemas enzimáticos. Os alelos foram nominados em ordem alfabética na ordem decrescente de mobilidade eletroforética nas suas correspondentes aloenzimas.

Análise estatística: Análise dos dados foi realizada utilizando os aplicativos GENEPOP 3.3 (Raymond & Rousset 2001), BYOSYS 2.0 (Swofford & Selander 1997), FSTAT 2.9.3 (Goudet 2001) e BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet & Luikart 1996). A variação genética foi estimada em nível de população através do número de locos polimórficos, número de alelos por loco e o número médio de heterozigotos observados e esperados (H_{OBS} e H_{EXP} , respectivamente) por loco (Nei 1987). Frequências genotípicas observadas em cada população de todos os locos analisados foram testados para a conformação de equilíbrio de Hardy-Weinberg utilizando o teste exato de Rousset & Raymond (1995). A hipótese nula testada foi uma união aleatória dos gametas e a hipótese alternativa foi déficit ou excesso de heterozigoto. Os valores de P foram obtidos pelo método exato da cadeia de Markov (Guo & Thompson 1992). Desequilíbrio genotípico foi analisado através da realização de testes exatos usando o método de cadeia de Markov. Os índices de endocruzamento de Wright foram usados para mensurar a variação gênica dentro de cada população (f) e entre a população (θ) utilizando o método de Weir e Cockerham (Weir & Cockerham 1984), que leva em conta as diferenças de tamanho entre as amostras. Distâncias genéticas foram calculadas de acordo com Nei (1972) e dendrogramas construídos pelo algoritmos médias aritméticas não ponderadas (UPGMA). Utilizou-se o programa BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet & Luikart 1996) para testar possíveis efeitos de diminuição dos N_e , com base no princípio de que as populações que passaram por um gargalo genético recente

mostram uma redução mais rápida do número de alelos do que o esperado (Luikart et al. 1998). O modelo de alelos infinitos (IAM) foi assumido para todos os locos gênicos analisados (Kimura & Crow 1964). A significância foi avaliada usando o teste de Wilcoxon, com base em 1.000 repetições.

4. RESULTADOS

Sete sistemas enzimáticos foram interpretados como onze locos gênicos: α -Est-1, α -Est-2, Lap-1, Lap-2, Lap-3, Me-1, Me-2, Mdh, Pgd, Pgi e Sod, sendo que todos os onze foram considerados polimórficos. O número de alelos por loco variou de 2 a 5 (Tabela I). O valor de heterozigosidade média observada foi alto, variando 0,324-0,534 (valor médio de todos os locos e populações = 0,430, Tabela II).

Desvios ao equilíbrio de Hardy-Weinberg foram testados para cada loco em cada população. Apenas dois locos apresentaram desvios significativos da distribuição genotípica esperada (Mdh em 2005, e α -Est em 2013, Tabela III), nos dois casos devido ao déficit de heterozigotos.

O valor geral de θ e o valor f foram, respectivamente, 0,104 e 0,220, os quais não foram significativamente diferentes de zero (Tabela IV).

A distância genética (Nei 1978) entre os três tempos investigados foi calculada. Como pode ser visto na Tabela V, as populações de 2005 e 2013, se mostraram mais semelhantes entre si. A análise de agrupamento é mostrada na Figura 7.

O teste de Wilcoxon evidenciou que os resultados foram significativos para as populações de 2005 e 2013, com valores de 0,00684 e 0,00488, respectivamente (Tabela VI). Quanto ao Sign test, nenhum resultado foi significativo, o que indica que as populações estudadas não passaram por bottlenecks recentes.

Não foi encontrado nenhum caso de desequilíbrio de ligação entre nenhum dos locos para nenhuma das populações estudadas ($p < 0,005$, após a correção de Bonferroni).

Tabela I: Frequências alélicas do bivalve *Isognomon bicolor* para cada loco e ano.

Locos	Alelo	População		
		2005	2009	2013
α -Est-1	A	0.167	0.235	0.021
	B	0.646	0.147	0.583
	C	0.167	0.382	0.354
	D	0.021	0.235	0.042
N		24	17	24
α -Est- 2	A	0.950	1.000	0.976
	B	0.050	0.000	0.024
N		50	24	42
Lap -1	A	0.250	0.053	0.088
	B	0.500	0.132	0.559
	C	0.250	0.605	0.324
	D	0.000	0.184	0.029
	E	0.000	0.026	0.000
N		2	19	17
Lap -2	A	0.167	0.111	0.132
	B	0.500	0.056	0.447
	C	0.333	0.722	0.421
	D	0.000	0.111	0.000
N		3	9	19
Lap -3	A	0.389	0.250	0.250
	B	0.500	0.125	0.432
	C	0.111	0.500	0.318
	D	0.000	0.063	0.000
	E	0.000	0.063	0.000
N		9	8	22

Tabela I: Frequências alélicas do bivalve *Isognomon bicolor* para cada loco e ano (continuação).

Locos	Alelo	População		
		2005	2009	2013
<i>Me-1</i>	A	0.500	0.200	0.833
	B	0.500	0.250	0.167
	C	0.000	0.550	0.000
N		1	10	12
<i>Me-2</i>	A	0.500	0.719	0.474
	B	0.500	0.281	0.526
N		5	16	19
<i>Mdh</i>	A	0.545	0.719	0.275
	B	0.364	0.281	0.450
	C	0.091	0.000	0.225
	D	0.000	0.000	0.050
N		11	16	40
<i>Pgd</i>	A	0.000	0.143	0.333
	B	0.500	0.643	0.542
	C	0.500	0.214	0.125
N		1	7	12
<i>Pgi</i>	A	0.000	0.045	0.155
	B	0.500	0.705	0.534
	C	0.444	0.250	0.259
	D	0.056	0.000	0.052
N		9	22	29
<i>Sod</i>	A	0.083	0.063	0.042
	B	0.917	0.938	0.958
N		12	24	12

Tabela II: Tamanho médio de amostras, número médio de alelos por loco, grau de polimorfismo (%) e heterozigosidades médias observadas e esperadas para cada população. Desvio padrão entre parênteses.

População	Tamanho médio	Nº médio de	% de locos	Heterozigosidade média	
	de amostra	alelos	polimórficos*	Observada	Esperada**
2005	11.5 (\pm 4.3)	2.6 (\pm 0.2)	100.0	0.534 (\pm 0.104)	0.610 (\pm 0.088)
2009	15.6 (\pm 1.9)	3.1 (\pm 0.4)	90.9	0.430 (\pm 0.076)	0.465 (\pm 0.069)
2013	22.5 (\pm 3.2)	3.0 (\pm 0.3)	100.0	0.324 (\pm 0.052)	0.479 (\pm 0.069)
Média todas as pops	16.53	2.9	96.7	0.43	0.52

* Um loco foi considerado polimórfico se mais de um alelo foi detectado

** Estimativa não-viciada (Nei 1978)

Tabela III: Probabilidade (P) de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Ho: união de gametas ao acaso) por loco e ano.

LOCO	População		
	2005	2009	2013
$\alpha - Est - 1$	0.2125	0.0664	0.0008*
$\alpha - Est - 2$	0.0994	-	1.0000
$Lap - 1$	0.3333	0.6393	0.0169
$Lap - 2$	1.0000	1.0000	0.5148
$Lap - 3$	0.0878	1.0000	0.0994
$Me - 1$	-	0.1541	0.2547
$Me - 2$	1.0000	0.5301	0.1637
MDH	0.0007*	1.0000	0.2388
PGD	-	0.1049	0.0644
PGI	0.5024	0.1631	0.0026
SOD	1.0000	1.0000	-

* Significativo após correção de Bonferroni ($\alpha=0.001724$)

Tabela IV: Índices de endocruzamento de Weir & Cockerham (1984) para todos os locos.

LOCO	F	θ	f
<i>a – Est – 1</i>	0.324	0.127	0.226
<i>a – Est – 2</i>	0.268	0.003**	0.266
<i>Lap – 1</i>	0.294	0.143	0.177
<i>Lap – 2</i>	0.121**	0.107	0.016**
<i>Lap – 3</i>	0.268	0.044	0.234
<i>Me – 1</i>	0.473**	0.381**	0.149
<i>Me – 2</i>	0.306	0.040	0.277
<i>MDH</i>	0.316	0.106	0.235
<i>PGD</i>	0.393**	-0.079**	0.437**
<i>PGI</i>	0.268	0.014	0.257
<i>SOD</i>	-0.066**	-0.027**	-0.038**
TODOS	0.301	0.104	0.220

** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; ns = não significativo para bootstrapping

Tabela V: Matriz de similaridade genética entre as populações de *Isognomon bicolor*. Acima da diagonal: identidade genética (Nei 1978); abaixo da diagonal: valores de θ (Weir & Cockerham 1984).

População	2005	2009	2013
2005	*****	0.871	0.984
2009	0,1004	*****	0.844
2013	-0.0081	0.1325	*****

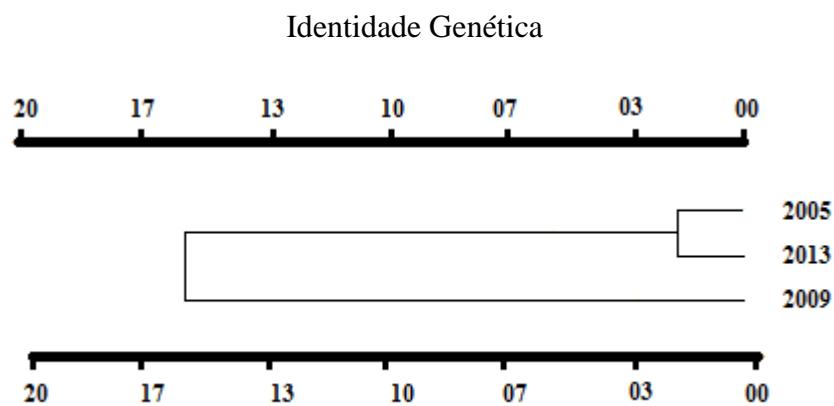


Figura 7: Dendrograma de UPGMA de identidades genéticas para as populações estudadas.

Tabela VI: Número de locos com deficiência/ excesso de heterozigotos sob IAM para a detecção de bottleneck em cada uma das populações *Isognomon bicolor* estudadas.

	Populações		
	2005	2009	2013
Número esperado de loci com excesso de heterozigotos	5.79	5.62	5.96
Deficiência/excesso de heterozigotos	8/3	4/6	2/9
Sign Test	0.08253	0.53547	0.05819
Wilcoxon Test	0.00684*	0.23242	0.00488*

* Significante para $p < 0,05$

5. DISCUSSÃO

Neste estudo apenas dois locos apresentaram desvios significativos ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (*Mdh* em 2005 e *α-Est-1* em 2013) devido ao déficit de heterozigotos.

A deficiência de heterozigotos já é tida como comum para bivalves marinhos (Zouros & Foltz 1984; Gallardo et al. 1998) e ela pode ser explicada por algumas hipóteses, como a presença de alelos nulos, seleção natural, endocruzamento, aneuploidia e efeito *Wahlund*, além de artefatos associados à técnica, como erros de leitura (Andrade et al. 2005).

Erros de leitura provocados pela baixa resolução dos géis, não são uma boa hipótese explicativa, pois, no presente estudo, só foram utilizados os locos com padrão claro de bandas nos géis.

Alelos nulos já foram observados em bivalves (Mallet et al. 1985). Esses alelos geralmente ocorrem em baixa frequência (Plutchak et al. 2006) e são produzidos por mutações que não codificam proteínas funcionais. Neste caso, indivíduos heterozigotos podem ser confundidos com indivíduos homozigotos, pois apenas um dos alelos forma banda no gel (Beaumont & Pether 1996). Essa é uma boa hipótese explicativa caso a deficiência de heterozigotos limite-se a poucos locos (Rio-Portilla & Beaumont 2000), assim como neste trabalho. Mas, a deficiência de heterozigotos observada ocorreu em dois locos diferentes e em diferentes anos, o que torna essa hipótese pouco provável, uma vez que não existe nenhuma evidência que alelos nulos possam estar presentes em um ano e desaparecer nos anos seguintes, a menos que estejam sob ação seleção natural.

Seleção natural atuando em locos enzimáticos já foi observada em moluscos de costão rochoso (Mallet et al. 1985; Beaumont 1991; Andrade et al. 2005; José & Solferini 2007), sendo uma força evolutiva que atua em locos específicos (Beaumont &

Pether 1996). Esta seria uma boa hipótese explicativa, caso as deficiências de heterozigotos encontradas estivessem presentes nas populações dos três anos estudados, mas as mesmas não foram observadas na população de 2009. Além disso, quando a seleção natural atua sistematicamente contra heterozigotos, há perda de variação gênica, resultando em locos com menor heterozigosidade média (Beaumont & Pether 1996). Entretanto, neste trabalho os locos com deficiência de heterozigotos apresentam heretozigosidades elevadas ($H_{obs} = 0.532$ e 0.669 para α -*Est-1* em 2013 e *Mdh* em 2005, respectivamente) o que indica que a seleção natural não é um mecanismo provável para explicar as deficiências encontradas.

O cruzamento entre indivíduos aparentados (endocruzamento) é, também, uma hipótese pouco provável para explicar as deficiências de heterozigotos encontradas neste trabalho. *Isognomon bicolor* possui fecundação externa, com liberação de gametas na coluna d'água, o que amplia as chances de cruzamento ao acaso (Introíni 2005). Além disso, *I. bicolor* ainda possui estágio larval pelágico com grande capacidade de dispersão (Monteiro-Ribas et al. 2006), o que pode reduzir em poucas gerações, os efeitos locais causados pela endogamia (Andrade et al. 2003). Contudo, Vargas et al. (2008) trabalhando com o *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve 1850), bivalve que também possui fecundação externa e alto potencial de dispersão, encontraram deficiência de heterozigotos significativas em um grande número de locos e especularam que, se os gametas liberados na coluna d'água permanecessem unidos antes da fecundação, isto poderia aumentar as chances de endogamia. Porém, é pouco provável que isso tenha acontecido com o *I. bicolor* devido ao reduzido número de locos que apresentaram deficiência de heterozigotos, bem como a sua ocorrência em períodos alternados.

Aneuploidia consiste na perda ou inativação de cromossomos inteiros dos pares de homólogos (Beaumont & Pether 1996), o que pode gerar confusão entre heterozigotos e homozigotos durante a interpretação das bandas no gel. De acordo com David (1998), a aneuploidia é comum quando apenas um tipo de tecido (ex.: hepatopâncreas) é utilizado nas análises, o que faz essa hipótese pouco satisfatória para os resultados encontrados, pois, no presente estudo, os indivíduos foram macerados inteiros para as eletroforeses.

A mistura de grupos espacial ou temporalmente separados com frequência alélica heterogênea (efeito *Wahlund*) pode causar deficiência de heterozigotos. Tracey et al. (1975), trabalhando com o bivalve *Mytilus californianus* (Conrad 1837), discutem a formação de pequenos grupos reprodutivos capazes de dividir uma população em subpopulações geneticamente diferenciadas e sugerem que essas subpopulações podem ser formadas pela assincronia no período de desova. A formação desses grupos reprodutivos poderia justificar a deficiência de heterozigotos encontrada para o *Isognomon bicolor*. No entanto, a formação e manutenção desses grupos é pouco provável em organismos com desenvolvimento larval planctônico e liberação de gametas na coluna d'água (Tracey et al. 1975). Assim, como Tracey e colaboradores (1975), admite-se aqui que o efeito *Wahlund* não é uma boa hipótese explicativa para deficiência de heterozigotos observada.

A deficiência de heterozigotos também pode ser provocada pela mistura de diferentes espécies numa mesma amostra (Raymond et al. 1997), sendo que essa mistura causaria também muitos desequilíbrios de ligação (Hartl & Clark 1997). Até a década de 90, o *Isognomon bicolor* vinha sendo confundido com outras espécies do gênero (Matthews & Kempf 1970; Rios 1970, 1994). Porém, Domaneschi & Martins (2002) demonstraram por meio de análises morfológicas que a única espécie que ocorre

no país é o *I. bicolor*. A ausência de desequilíbrios de ligação neste trabalho é uma evidência molecular que corrobora com os resultados de Domaneschi & Martins (2002), descartando a ocorrência de mais de uma espécie do gênero *Isognomon* no local estudado, eliminando assim, também, a chance desta ser a possível explicação para as deficiências de heterozigotos observadas. Desta forma, nenhuma das hipóteses explicativas aventadas parece se adequar aos resultados obtidos neste trabalho. A solução para o problema dos déficits de heterozigotos em bivalves não é simples e a sua explicação em casos específicos, como aqueles observados aqui, pode demandar um esforço que foge ao escopo deste trabalho (ver Hedgecock et al. 1996).

As fases iniciais do processo de bioinvasão geralmente representam eventos fundadores, portanto, é esperado que populações invasoras apresentem baixos níveis de variação gênica, devido à intensificação dos efeitos de deriva genética (Eckert et al. 1996). Entretanto, os níveis de variação gênica estimados para *Isognomon bicolor* na Praia de Itaipu foram altos, mesmo quando comparados com os níveis de variação gênica já descritos para outros bivalves invasores (Soroka et al. 1996; Berg et al. 1998; Laudien et al. 2003; Vargas et al. 2008). Mais que isso, esses níveis de variação gênica permaneceram estáveis nas três amostras estudadas ao longo de oito anos.

Allendorf & Lundquist (2003) afirmam que a ocorrência de múltiplos episódios de introdução na área invadida pode contribuir para aumento e manutenção dos níveis de variação gênica em espécies invasoras. Este fenômeno já foi demonstrado para bivalves invasores e outros organismos da região entremarés de costão rochoso (Martel et al. 2004; Therriault et al. 2005; Zardus & Hadfield 2005; Viard et al. 2006). Múltiplos episódios de introdução podem ser o mecanismo responsável pela alta variação gênica encontrada para a população de *Isognomon bicolor* estudada neste trabalho, uma vez que o principal vetor de introdução da espécie descrito na literatura é

a descarga de água de lastro (Carlton & Geller 1993; MacIsaac et al. 2002; Henriques & Casarini 2009; Zamprogno et al. 2010). Roman (2006) e Malacrida et al. (2007) afirmam que o esforço de introdução aumenta quanto maior a pressão de propágulos da espécie invasora e a frequência dos episódios de introdução, o que pode influenciar positivamente os níveis de variação gênica das populações invasoras. Segundo Holland (2001), a liberação frequente de indivíduos possibilita a mistura de populações espacialmente ou temporalmente separadas, minimizando as chances de extinção da espécie na área invadida pela redução dos efeitos de deriva genética nas populações. Esse fenômeno de mistura, como discutido anteriormente, é o chamado efeito *Wahlund* (Johnson & Black 1984; Gaffney et al. 1990; Frankham 2005).

Numa população que é o resultado da mistura de grupos geneticamente distintos, as frequências dos alelos são diferenciadas, portanto, o equilíbrio de Hardy-Weinberg só pode ser alcançado depois de várias gerações de cruzamentos ao acaso. Antes que isto aconteça, muitas das combinações esperadas de alelos não serão encontradas na população misturada (Hartl & Clark, 1997). Portanto, o efeito *Wahlund*, além de promover o aumento da variação gênica, gera muitos desvios significativos ao equilíbrio Hardy-Weinberg, o que não foi observado no presente estudo, bem como desequilíbrio de ligação entre locos (Laudien et al. 2003) que, também, não foram observados aqui.

A ausência de muitos desvios significativos ao equilíbrio Hardy-Weinberg e desequilíbrio de ligação entre locos de *Isognomon bicolor* na população de Itaipu pode ser o resultado da interação de alguns fatores naturais como a heterogeneidade ambiental, a reprodução sexuada e ciclo de vida com estágio larval de longa duração da espécie.

Já se sabe que ambientes heterogêneos favorecem a variação gênica e segundo Powell (1971), a heterogeneidade ambiental é uma característica marcante do costão rochoso. De acordo com Allendorf & Lundquist (2003), o tipo de reprodução e o ciclo de vida também podem permitir o aumento e manutenção da variação gênica das espécies invasoras e auxiliá-las no processo de invasão.

A reprodução sexuada pode colaborar para o aumento da variação gênica das populações. Roman & Darling (2007), realizando um trabalho de revisão, observaram que populações invasoras com reprodução sexuada apresentaram maior capacidade de manutenção ou aumento de variação gênica quando comparados com populações com reprodução assexuada e isso se deve ao fato de haver troca de gametas, com consequente recombinação gênica.

Ciclo de vida com estágio larval de longa duração é comum a muitas espécies invasoras, incluindo o *Isognomon bicolor* (Stepien et al. 2005; Viard et al. 2006). Larvas que permanecem por um tempo maior na coluna d'água possuem maior potencial de dispersão e conexão com populações geograficamente distantes, o que dificulta a sua estruturação e favorece a variação gênica (Hanski 1989). Aranha (2010) estudando a estrutura genética de *I. bicolor* entre São Paulo e Espírito Santo encontrou que frequências alélicas foram homogêneas entre as populações para a maioria dos locos (10 de 14). Embora o coeficiente de estruturação genética das populações de *I. bicolor* tenha sido baixo ($\theta = 0,023$; Intervalo de confiança = 0,011 - 0,040) foi significativo. Os valores de θ calculados entre os pares de populações dessa espécie foram significativos apenas entre São Paulo e as demais amostras. Estes resultados indicam uma grande capacidade dispersiva da espécie na costa sudeste brasileira. Um grande fluxo de indivíduos minimiza as chances de extinção da espécie na área invadida e reduz os efeitos de deriva genética (Hartl & Clark 1997).

Desta forma, é possível que a heterogeneidade ambiental e a reprodução sexuada e ciclo de vida da espécie tenham contribuído para levar a população de Itaipu a alcançar de maneira rápida o equilíbrio de Hardy-Weinberg para maioria dos locos bem como o equilíbrio de ligação entre eles.

Analizando a teoria sobre o processo de bioinvasão, bem como o histórico deste processo para o *Isognomon bicolor* na região, é possível imaginar um cenário que explique os altos níveis de variação gênica, e a sua estabilidade na população da Praia de Itaipu, tendo sido causado por múltiplos eventos de invasão (efeito *Wahlund*) sem, contudo, apresentar as marcas genéticas características deste fenômeno (desequilíbrios de Hardy-Weinberg para maioria dos locos e desequilíbrio de ligação entre eles).

O primeiro registro do *Isognomon bicolor* na baía de Guanabara e arredores ocorreu no ano de 1998 (Silva et al. 1999). Supondo que, a partir dessa data, ocorreram múltiplos episódios de introdução na região, isso pode ter acelerado o processo de invasão da espécie, elevando o nível de variação gênica populacional (Roman & Darling 2007). Esse fato, adicionado a heterogeneidade ambiental do costão rochoso (Powell 1971) e as características biológicas da espécie, como reprodução sexuada (Introíni 2005), estágio larval de longa duração e alto potencial de dispersão (Aranha 2010), podem ter colaborado para que o *Isognomon bicolor* chegasse ao clímax do processo de invasão em um tempo relativamente curto, alcançando assim, o equilíbrio de Hardy-Weinberg e equilíbrio de ligação entre os locos.

O clímax de qualquer processo de invasão ocorre quando a espécie exótica apresenta amplas distribuições geográficas e, também, altas densidades nos locais invadidos, tornando-se dominante (Colaut & MacIsaac, 2004). Esse estágio já foi registrado para o *Isognomon bicolor*, em anos anteriores a 2005 (primeiro ano de coleta deste trabalho). Estudos realizados em praias do Rio de Janeiro, nos municípios de

Arraial do Cabo (Rocha 2002; Breves-Ramos 2004; Rapagnâ 2004; Fernandes et al. 2004) e Angra dos Reis (Breves-Ramos, 2004) observaram altas densidades e dominância do *I. bicolor*, principalmente nas regiões médias e inferiores do costão rochoso. Ou seja, no ano de 2005, as populações desse bivalve já estavam em clímax.

No ano de 2006, foi registrada uma mortalidade em massa nas populações de *Isognomon bicolor* no litoral do estado do Rio de Janeiro (López 2008). Para tentar explicar tal efeito foi cogitada a possibilidade de interação entre alguns fenômenos como grande variação de temperatura, predação e parasitismo (Shea & Cheson 2002; Wallentinus & Nyberg, 2007). Entretanto, a existência desta interação não foi demonstrada. Esse evento de mortalidade em massa resultou na redução da densidade da espécie, o que pode ser facilmente observado nos dias atuais. Assim, este bivalve se apresenta, agora, com grande destribuição geográfica e densidades moderadas (Aranha 2010). Isso indica, provavelmente, que o *I. bicolor* passou a fazer parte efetiva da biota local, interagindo com as demais espécies da comunidade em que está inserido. Portanto, é possível que, assim como o bivalve *Perna perna*, o *Isognomon bicolor* já possa ser considerado uma espécie naturalizada.

Está se propondo aqui, portanto, que se estabeleça uma distinção entre “espécie invasora estabelecida” e “espécie invasora naturalizada” (Carlton, 1996). Assim, espécies invasoras estabelecidas são aquelas que alcançam o clímax do processo de bioinvasão. Por outro lado, espécies invasoras naturalizadas seriam aquelas que também alcançaram o estágio de clímax, porém já sofreram um processo de acomodação e assimilação pelo novo ambiente no sentido da teoria cognitiva piagetiana (Piaget 1970). Esta tentativa de distinção apresenta a vantagem de introduzir uma diferença qualitativa entre “processo de invasão biológica” e “processo ecológico”. Embora toda invasão biológica seja um processo ecológico em última instância esta distinção oferta uma

perspectiva dialética para interpretação do fenômeno (Silva 2001; Solha & Silva 2004; Andrade & Silva 2011; Silva & Andrade 2012, ver Figura 8).

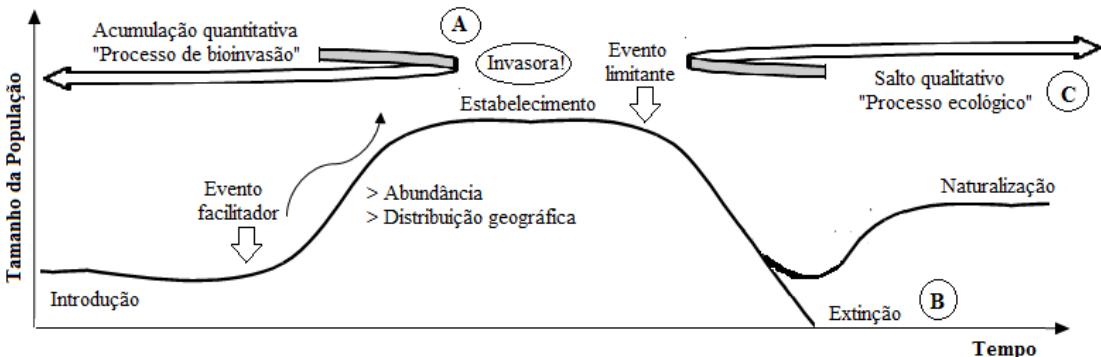


Figura 8: Interpretação dialética dos possíveis caminhos do processo de invasão biológica. **A-** Estabelecimento, **B-** Extinção, **C-** A possível sequência de eventos seguida pela população de *Isognomon bicolor* na Praia de Itaipu.

A heterogeneidade ambiental, a reprodução sexuada e ciclo de vida da espécie, bem como o estado de clímax da espécie na costa brasileira, pode ser tanto uma explicação para ausência de desequilíbrios de ligação entre locos e presença de poucos locos em desacordo com a hipótese de equilíbrio de Hardy-Weinberg, quanto, também, pode ter contribuído para um apagamento das marcas dos efeitos de deriva genética sobre a população, a ponto de não ter sido possível a detecção de *bottlenecks* recentes na população de *I. bicolor* em Itaipu. Evidentemente, outras explicações de cunho estatístico não podem ser descartadas. No entanto, a interpretação biológica com sua “roupagem” dialética do fenômeno da bioinvasão, senão correta, é sedutora.

6. CONCLUSÃO

- Os níveis de variação gênica da espécie *Isognomon bicolor* foram elevados e estáveis ao longo dos oito anos estudados.
- Não foi possível identificar para nenhum dos anos estudados redução populacional significativa (aparente ausência de *bottlenecks* recentes).
- Estas conclusões em conjunto indicam que a espécie *Isognomon bicolor* na Praia de Itaipu apresenta-se naturalizada e, portanto, com baixa chance de ser eliminada. Desta forma, é provável que esta espécie não represente, no presente, uma ameaça para biodiversidade local, embora não seja possível descartar a possibilidade de que, no passado, ela possa ter tido efeitos ecológicos silenciosos sobre a biodiversidade dos costões rochosos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott RT & Dance SP (1983) *Compendium of seashells*. 2^a edição. Dutton EP (ed.) Nova Iorque, 410 p.
- Addison JA & Hart MW (2004) Analysis of population genetic structure of the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*) using microsatellites. *Mar. Biol.* 144: 243-251
- Ahmad M, Skibinski DOF & Beardmore JA (1977) An estimate of the amount of genetic variation in the common mussel *Mytilus edulis*. *Biochemical Genetics*, 15: 833-846.
- Allendorf FW & Lundquist LL (2003) Introduction: population biology, evolution, and control of invasive species. *Conservation Biology*, 17: 24-30.
- Andrade LAB & Silva EP (2011) *Por que as galinhas cruzam as estradas? História das idéias sobre a vida e a sua origem*. Vieira & Lent, Rio de Janeiro, 96 p.
- Andrade SCS, Magalhães CA & Solferini VN (2003) Patterns of genetic variability in Brazilian Littorinids (Mollusca): a macrogeographic approach. *Journal of Zoological Systematic and Evolutionary Research*, 41: 249-255.
- Andrade SCS, Medeiros HF & Solferini VN (2005) Homogeneity test of Hardy-Weinberg deviations in Brazilian littorinids: evidence for selection? *Journal of Molluscan Studies*, 71: 167-174.
- Aranha TP (2010) *Situação atual da ocorrência do bivalve invasor Isognomon bicolor no litoral norte paulista e variabilidade genética da espécie no sudeste brasileiro*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas – SP, 104p.
- Beaumont AR & Beveridge CM (1984) Electrophoretic survey of genetic variation in *Pecten maximus*, *Chlamys opercularis*, *C varia* and *C distorta* from the Irish Sea. *Mar Biol*, 81: 299-306.
- Beaumont AR (1991) Genetic studies of laboratory reared mussels, *Mytilus edulis*: heterozygote deficiencies, heterozygosity and growth. *Biological Journal of the Linnean Society*, 44: 273-285.
- Beaumont AR & Zouros E (1991) *Genetics of scallops*. In: Shumway SE. *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*, vol. 21, Elsevier, Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Amsterdam, p. 585-623.
- Beaumont AR & Pether SMJ (1996) Allozyme variation and gene flow between cockle *Cerastoderma edule* populations in southern United Kingdom. *Fisheries Research*, 28: 263-275.
- Benzie JAH & Ballment E (1994) Genetic differences among black-lipped pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) populations in the western Pacific. *Aquaculture*, 127: 145-156.
- Berg DJ, Cantonwine EG, Hoeh WR & Guttman SI (1998) Genetic structure of *Quadrula quadrula* (Bivalvia: Unionidae): little variation across large distances. *Journal of Shellfish Research*, 17: 1365-1373.

- Billio UC (2004) *Variação genética e morfológica em populações do mexilhão Perna perna (Linnaeus, 1788)*. Dissertação de Mestrado. Departamento de Biologia Marinha. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 136p.
- Brand LE (1982) Genetic variability and spatial patterns of genetic differentiation in the reproductive rates of the marine coccolithophores *Emiliania huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica*. *Limnol. Oceanogr.*, 27(2): 236–245.
- Breves-Ramos A (2004) *Distribuição, abundância relativa e estrutura populacional de Isogonomon bicolor (Adams, 1845) no litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil*. Dissertação de mestrado, Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. 109p.
- Carlton JT (1996) Pattern, process and prediction in marine invasion ecology. *Biol. Conserv.*, 78: 97–106.
- Carlton JT & Geller JB (1993) Ecological roulette: The global transport of non-indigenous marine organism. *Science*, 261:78–82.
- Cárcamo C, Comesaña ÁS, Winkler FM & Sanjuan A (2005) Allozyme identification of mussels (Bivalvia: *Mytilus*) on the pacific coast of South America. *Journal of Shellfish Research*, 24(4): 1101–1115.
- Cohen AN & Carlton JT (1998) Accelerating invasion rate in highly invaded estuary. *Science*, 279: 555–558.
- Cornuet JM & Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144: 2001–2014.
- Colautti RI & MacIsaac HJ (2004) A neutral terminology to define ‘invasive’ species. *Diversity and Distributions*, 10: 135–141.
- Costa PF (1985) *Ostreicultura: biologia e tecnologia para o cultivo de Ostras*. p.1–38. In: Manual de Maricultura. Ministério da Marinha. Instituto de Pesquisa da Marinha, Projeto Cabo Frio, p. 500.
- David P (1998) Heterozygote-fitness correlations: new perspectives on old problems. *Heredity*, 80: 531–537.
- Diehl WJ & Biesiot PM (1994) Relationships between multilocus heterozygosity and morphometric indices in a population of the deep-sea red crab *Chaceon quinquedens* (Smith). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 182: 237–250.
- Domâneschi O & Martins CM (2002) *Isognomon bicolor* (C. B. Adams) (Bivalvia: Isognomonidae): primeiro registro para o Brasil, redescrição da espécie e considerações sobre a ocorrência e distribuição de *Isognomon* na costa brasileira. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19: 611–627.
- Duffy MA, Perry LJC, Kearns M, Weider LJ & Hairston NG (2000) Paleogenetic evidence for a past invasion of Onondaga Lake, New York, by exotic *Daphnia curvirostris* using mtDNA from dormant eggs. *Limnol. Oceanogr.*, 45:1409–1414.
- Dundee DS & Dundee HA (1958) Extensions of known ranges of 4 mollusks. *Nautilus*, 72 (/): 51–53.
- Eckert CG, Manicacci D & Barrett SCH (1996) Genetic Drift and Founder Effect in Native Versus Introduced Populations of an Invading Plant, *Lythrum salicaria* (Lythraceae). *Evolution*, 50: 1512–1519.

- Fernandes F da C, Souza RCCL de & Silva EP (2011) *Bivalves marinhos introduzidos no Brasil*. In: Fernandez MA, Santos SB dos, Pimenta A & Thiengo SC (ORG.) Tópicos em Malacologia: Ecos do XIX Encontro Brasileiro de Malacologia. Sociedade Brasileira de Malacologia – SBMa. Rio de Janeiro: Technical Books editora p. 300–307.
- Fernandes CF, Rapagnã LC & Bueno GDB (2004) Estudo da população do bivalve exótico *Isognomon bicolor* (C.B. Adams, 1845) (Bivalvia, Isognomonidae) na Ponta da Fortaleza em Arraial do Cabo – RJ: In: Silva, JSV. Souza, RCCL. (Org). *Água de Lastro e Bioinvasão*. Ed. Interciênciac, Rio de Janeiro. 133-141pp.
- Filipová L, Kozubíková E & Petrusek A (2009) Allozyme variation in Czech populations of the invasive spiny-cheek crayfish *Orconectes limosus* (Cambaridae). *Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst.*, n. 10, p. 394–395.
- Frankham R (2005) Invasion biology – resolving the genetic paradox in invasive species. *Heredity*, 94: 385.
- Gaffney PM, Scott TM, Koehn RK & Diehl WJ (1990) Interrelationships of heterozygosity, growth rate and heterozygote deficiency in the coot clam, *Mulinia lateralis*. *Genetics*, 124: 687–699.
- Gardner JA, Woodall WR, Staats AA & Napoli JF (1976) The invasion of the Asiatic clam (*Corbicula manalensis* PHILIPPI) in the Altamaha river, Georgia. *Nautilus*, 90(3): 117–25.
- Gallardo MH, Penaloza L & Clasing E (1998) Gene flow and allozymic population structure in the clam *Venus antiqua* (King of Broderip), (Bivalvia, Veneridae) from Southern Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 230:193–205.
- Gelembiuk GW, May GE & Lee (2006) CE Phylogeography and systematics of zebra mussels and related species. *Molecular Ecology*, 15:1033–1050.
- Geller JB, Darling JA & Carlton JT (2010) Genetic perspectives on marine biological invasions. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 2: 367–93.
- Gillespie J (1974) The role of environmental grain in the maintenance of genetic variation. *American Naturalist*, 108: 831–836.
- Gomulkiewicz R, Holt RD, Barfield M & Nuismer SL (2010) Genetics, adaptation, and invasion in harsh environments. *Evolutionary Application* 3: 97–108.
- Guo SW & Thompson EA (1992) Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 48: 361–372.
- Goudet J (2001) *FSTAT 2.9.3: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices*. Software, <http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html>.
- Hanski I (1989) Metapopulation dynamics: does it help to have more of the same? *Trends in Ecology and Evolution*, 4: 113–114.
- Harris H & Hopkinson DA (1972) Average heterozygosity per locus in man: an estimate based on the incidence of enzyme polymorphisms. *Annals of Human Genetics*, 36: 9–20.
- Hartl DH & Clark AG (1997) *Principles of Population Genetics*. 3^a edição. Sinauer Associates, Massachusetts. 542p.

- Hebert PDN, Muncaster BW & Mackie GL (1989) Ecological and genetic studies on *Dreissena polymorpha* (Pallas): a new mollusc in the Great Lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46(9): 1587–1591.
- Hedgecock D, McGoldrick DJ, Manahan DT, Vavra J, Appelmann N & Bayne BL (1996) Quantitative and molecular genetic analyses of heterosis in bivalve molluscs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 203: 49–59.
- Henriques MB & Casarini LM (2009) Avaliação do crescimento do mexilhão *Perna perna* e da espécie invasora *Isognomon bicolor* em banco natural da Ilha de Palma, Baía de Santos, Estado de São Paulo, Brasil. *B. Inst. Pesca*, 35: 577–586.
- Holland BS (2000) Genetics of marine bioinvasions. *Hydrobiologia*, 420: 63–71.
- Holland BS (2001) Invasion without a bottleneck: Microsatellite variation in natural and invasive populations of the brown mussel *Perna perna* (L.). *Marine Biotechnology*, 3: 407–415.
- Introíni GO (2005) *Ultra-estrutura dos espermatozóides de Brachidontes darwinianus, B. solisianus e Isognomon bicolor e estudo cromossômico de B.darwinianus e Isognomon bicolor (Mollusca, Bivalvia)*. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 72p.
- Ituarte CF (1981) Primeira noticia acerca de la presencia de pelecípodos asiáticos em el área rioplatense. *Neotropica*, 27: 79–82.
- Ituarte C (1994) *Corbicula* and *Neocorbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Paraná, Uruguay, and Río de La Plata Basins. *Nautilus*, 107(4): 129–135.
- Jenkinson JJ (1979) The occurrence and spread of *Corbicula manilenlis* in East-Central Alabama. *Nautilus*, 94(4): 149–53.
- Johnson MS & Black R (1984) The *Wahlund* effect and the geographical scale of variation in the intertidal limpet *Siphonaria* sp. *Marine Biology*, 79: 295–302.
- José J & Solferini VN (2007) Population genetics of *Collisella subrugosa* (Patellogastropoda: Acmaeidae): evidence of two scales of population structure. *Genética*, 130: 73–82.
- Kimura M & Crow JF (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49: 725–738.
- Kolbe JJ, Glor RE, Schettino LR, Lara AC, Larson A & Losos JB (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature*, 432: 177–181.
- Krieger MJB & Ross KG (2002) Identification of a major gene regulating complex social behavior. *Science* 295, 328–332.
- Laudien J, Flint NS, Van Der Bank FH & Brey T (2003) Genetic and morphological variation in four populations of the surf clam *Donax serra* (Röding) from southern African sandy beaches. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31: 751–772.
- Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends Ecol. Evol.*, 17(8): 386–391.
- Levinton JS (1973) Genetic variation in a gradient of environmental variability: marine Bivalvia (Mollusca). *Science*, 180: 75–76.
- Levinton JS (1975) Levels of genetic polymorphism at two enzyme encoding loci in eight species of the genus *Macoma* (Mollusca: Bivalvia). *Marine Biology*, 33: 41–47.

- López MS (2008) *O bivalve invasor Isognomon bicolor (C.B. Adams, 1845) e seu papel nas comunidades de entremarés rochoso na região de ressurgência do Cabo Frio, RJ.* Tese de doutorado. Programa de Ecologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro–RJ, 227 p.
- Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM & Sherwin WB (1998) Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity*, 89: 238–247.
- Machado T de M, Solé-Cava AM, David JR & Bitner-Mathé BC (2005) Allozyme variability in an invasive drosophilid, *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae): comparison of a recently introduced Brazilian population with Old World populations. *Ann. Soc. Entomol. Fr.*, 41(1): 7–13.
- MacIsaac HJ, Robbins TC & Lewis MA (2002) Biological invasions of aquatic habitats in Europe and the Great Lakes: modeling ships' ballast water as invasion threats to the Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59: 1245–1256.
- Magalhães M, Martinez RF & Gaiotto A (2007) Genetic diversity of *Litopenaeus vannamei* cultivated in Bahia state, Brazil. *Pesq. Agropec. Bras.*, 42(8): 1131–1136.
- Magara Y, Matsui Y, Gotto Y & Yuasa A (2001) Invasion of the non-indigenous nuisance mussel, *Limnoperna fortunei*, into water supply facilities in Japan. *Journal of Water Supply: Research and Technology – AQUA, Amherst* 50(3): 113–124.
- Malacrida AR, Gomulski LM, Bonizzoni M, Bertin S, Gasperi G & Guglielmino CR (2007) Globalization and fruit fly invasion and expansion: the medfly paradigm. *Genetica* 131: 1–9.
- Mallet AL, Zouros E, Gartner-Kepkay KE, Freeman KR & Dickie LM (1985) Larval viability and heterozygote deficiency in populations of marine bivalves: evidence from pair matings of mussels. *Marine Biology*, 87: 165–172.
- Manchenko GP, Dautova TN & Latypov YY (2000) High level of genetic divergence between sympatric color morphs of the littoral sea anemone *Anthopleura orientalis* (Anthozoa: Actiniaria). *Biochemical Systematics and Ecology* 28: 737–750.
- Manchenko GP & Yakovlev SN (2001) Genetic divergence between three sea urchin species of the genus *Stroylocentrotus* from the Sea of Japan. *Biochem Syst Ecol*, 29: 31–44.
- Mansur MCD, Shultz C & Garces LMMP (1987) Moluscos Bivalves de água doce: Identificação dos gêneros do Sul e Leste do Brasil. *Act. Biol. Leopol.*, 2: 181–202.
- Mansur MCD, Richiniti LMZ & Santos CP dos (1999) *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) molusco bivalve invasor na bacia do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biociências*, 7(2):147–149.
- Mansur MCD, Santos CP dos, Darrigan G, Heydrich I, Callil CT & Cardoso FR (2003) Primeiros dados qualitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Rev. Bras. Biol.*, 20(1): 75–84.
- Martel C, Viard F, Bourguet D & Garcia-Meunier P (2004) Invasion by the marine gastropod *Ocinebrellus inornatus* in France. II. Expansion along the Atlantic coast. *Marine Ecology Progress Series*, 273: 163–172.

- Martin RG & Ames BN (1961) A Method for Determining the Sedimentation Behavior of Enzymes: Application to Protein Mixtures. *Journal of Biological Chemistry*, 236:1372–1379.
- Martins CM (2000) *Isognomon bicolor* (C.B. Adams, 1845) (Bivalvia, Isognomonidae): *Ocorrência nova, redescruição e anatomia descritiva e funcional*. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 99p.
- Maruyama T & Fuerst PA (1985) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. Genetics Society of America. *Genetics*, 111: 675–689.
- Matthews HR & Kempf M (1970) Moluscos marinhos do Norte e Nordeste do Brasil. II –Moluscos do arquipélago de Fernando de Noronha. *Arquivos de Ciências do Mar*, 10: 1–53.
- Melo C, Silva FC, Gomes CHAM, Solé-Cava AM & Lazoski C (2010) *Crassostrea gigas* in natural oyster banks in southern Brazil. *Biological Invasions*, 12: 441–449.
- Milne RI & Abbott RJ (2000) Origin and evolution of invasive naturalized material of *Rhododendron ponticum* L. in the British Isles. *Mol. Ecol.*, 9: 541–556.
- Monteiro-Ribas W, Rocha-Miranda F, Romano RC & Quintanilha J (2006) Larval development of *Brachidontes solisianus* (Bivalvia, Mytilidae), with notes on differences between its hinge system and that of the mollusk *Perna perna*. *Brazilian Journal of Biology*, 66: 109–116.
- Moro MF, Souza VC, Oliveira-Filho ATde, Queiroz LPde, Fraga CNde, Rodal MJN, Araújo FS de & Martins FR (2012) Alienígenas na sala: o que fazer com espécies exóticas em trabalhos de taxonomia, florística e fitossociologia? *Acta Bot. Bras.* 26(4): 991–999.
- Morton B (1997) *The aquatic nuisance species: a global perspective and review*. In: D’itri F (ed.) *Zebra Mussels and other Aquatic Species*. Ann Arbor Press, Ann Arbor, Michigan, p. 54.
- Nei M (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283–292.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583–590.
- Nei M (1987) *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, 512p.
- Oliveira MD (2003) *Ocorrência e impactos do Mexilhão dourado Limnoperna fortunei (Dunker, 1857) no Pantanal Mato Grossense*. Corumbá: Circular Técnica EMBRAPA, Mato Grosso do Sul. n. 38, 6p.
- Piaget J (1970) *Epistemologia Genética*. 4^a edição. Martins Fontes, São Paulo, 136 p.
- Pie MR, Ribeiro RO, Boeger WA, Ostrensky A, Falleiros RM & Angelo A (2006) A simple PCR-RFLP method for the discrimination of native and introduced oyster species (*Crassostrea brasiliiana*, *C. rhizophorae* and *C. gigas*; Bivalvia: Ostreidae) cultured in Southern Brazil. *Aquaculture Research*, 37(15): 1598–1600.

- Plutchak LL, Simmons R & Woodruff DS (2006) Multilocus allozyme heterozygote deficiencies in *Crepidula onyx*: Geographic and temporal patterns among adult snails in Mission bay, California. *Journal of Molluscan Studies*, 72: 337–348.
- Porter SD & Savignano DA (1990) Invasion of polygyne fire ants decimates native ants and disrupts arthropod community. *Ecology*, 71, 2095–2106.
- Powell R (1971) Genetic polymorphisms in varied environments. *Science*, 174, 1035–1036.
- Prentis PJ, Wilson JRU, Dormontt EE, Richardson DM & Lowe AJ (2008) Adaptive evolution in invasive species. *Trends in Plant Science*, 16(6): 288–294.
- Purchon RD (1977) *The biology of the Mollusca*. Elsevier Science Limited, vol. 57, 560p.
- Rapagnã LC (2004) *Estudo da estrutura das populações dos bivalves Isognomon bicolor (C.B. Adams, 1845), Perna perna (Linnaeus, 1758) e Pinctada imbricata (Roding, 1798) nos costões rochosos de Arrail do Cabo, RJ, Brasil*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 81p.
- Raymond M & Rousset F (1995) GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3). Software, <ftp://cefe.cnrs-mop.fr>.
- Raymond M, Vaanto RL, Thomas, F, Rousset F, De Meeus T & Renaud F (1997) Heterozygote deficiency in the mussel *Mytilus edulis* species complex revisited. *Marine Ecology Progress Series*, 156: 225–237.
- Rio-Portilla MA & Beaumont AR (2000) Larval growth, juvenile size and heterozygosity in laboratory reared mussels, *Mytilus edulis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 254: 1–17.
- Rios EC (1970) *Coastal Brazilian Seashells*. Rio Grande: Fundação Cidade do Rio Grande. Museu Oceanográfico do Rio Grande, 225 p.
- Rios EC (1994) *Seashells of Brazil*. 2^a edição, Museu Oceanográfico da FURG, Rio Grande do Sul, 492 p.
- Rocha FM (2002) *Recrutamento e sucessão de uma comunidade bentônica de mesolitoral dominada pela espécie invasora Isognomon bicolor (Bivalvia: Isognomonidae) C.B. Adams, 1748 em dois costões rochosos submetidos a diferentes condições de batimento de ondas*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. 87p.
- Roman J (2006) Diluting the founder effect: cryptic invasions expand a marine invader's range. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 273: 2453–2459.
- Roman J & Darling JA (2007) Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 22: 454–464.
- Rousset F & Raymond M (1995) Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics*, 140: 1413–1419.
- Schaeffer SW, Keller ECJ & Buroker NE (1985) Population genetics of *Melampus bidentatus* (Gastropoda: Pulmonata): the effect of planktonic development on gene flow. *Genetica*, 66: 223–229.

- Shea K & Chesson P (2002) Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 17: 170–176.
- Silva EP (2002) *Genética marinha*. In: Soares-Gomes A & Pereira RC (eds). Biologia Marinha. Interciências, Rio de Janeiro, p. 335–351.
- Silva EP (2004) *Marcadores moleculares no rastreamento da bioinvasão*. In: Silva JSV da & Souza RCCL de (orgs.). Água de lastro e Bioinvasão. Interciência, Rio de Janeiro-RJ, p. 191–203.
- Silva EP (2001) A short history of evolutionary theory. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*, 8(3):671–687.
- Silva EP (2009) *Genética marinha*. In: Soares-Gomes A & Pereira RC (eds). Biologia Marinha. 2^a edição. Interciências, Rio de Janeiro, p. 49–69.
- Silva EP & Andrade LAB (2012) *Para um estudante de Biologia saber*. UFF-CEAD. Niterói, 268p.
- Silva MAGF (2008) *Variação temporal da estrutura e das relações interespecíficas na comunidade bentônica invadida por Isognomon bicolor (Adams, 1845) (Mollusca:Bivalvia) no costão rochoso da praia Vermelha (RJ, Brasil)*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, 112p.
- Silva SHG, Yoneshigue-Valentin Y, Junqueira AOR, Lavrado HP, Souza MM, Falcão APC, Viana MS & Mayer-Pinto M. (1999) Comunidades de substrato consolidado na Baía de Guanabara, RJ (Brasil): variações espaço-temporais relacionadas ao grau de eutrofização. Resumenes ampliados del VIII Congresso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar v.1, p. 467–469.
- Simonato JD, Martinez CBR & Sofia SH (2010) Genetic damage in the bivalve mollusk *Corbicula fluminea* induced by the water-soluble fraction of gasoline. *Mutation Research*, 700: 80–85.
- Sin FYT, Khoo J & Parker GR (1990) Enzyme variation between littoral and sublittoral population of the green-lipped mussel *Perna canaliculus*. *Comparative Biochemistry and Physiology B – Biochemistry & Molecular Biology*, 95: 419–422.
- Siokou I, Ateş AS, Ayas D, Ben Souissi J, Chatterjee T, Dimiza M, Durgham H, Dogrammatzi K, Erguden D, Gerakaris V, Grego M, Issaris Y, Kadis K, Katağan T, Kapiris K, Katsanevakis S, Kerkhof F, Papastergiadou E, Pešić V, Polichronidis L, Rifi M, Salomidi M, Sezgin M, Triantaphyllou M, Tsiamis K, Turan C, Tziortzis I, D'udekem D'acoz C, Yaglioglu D, Zaouali J & Zenetos, A (2013) New Mediterranean Marine biodiversity records. *Medit. Mar. Sci.*, 14(1): 238–249.
- Smith MH, Selander RK & Johnson WE (1973) Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I: Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). *Journal of Mammalogy*, 54: 1–13.
- Snow AA, Andersen B & Jørgensen RB (1999) Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from *Brassica napus* into weedy *B. rapa*. *Mol. Ecol.*, 8: 605–615.
- Solé-Cava AM & Thorpe JP (1991) High level of genetic variation in natural populations of marine lower invertebrates. *Biological Journal of the Linnean Society*, 44: 65–80.
- Solé-Cava AM, Silva EP & Lôbo-Hajdu G (2004) *Evolução*. Vol. 2. Fundação CECIERJ: Rio de Janeiro, 194p.

- Solha GCF & Silva EP (2004) Onde está o lugar do conceito de gene? *Episteme*, 19:45–68.
- Soroka M, Wachowiak-Zielinska M & Zielinski R (1996) Genetic variability in selected Polish population of *Dreissena polymorpha* (Pallas) (Bivalvia: Dreissenidae). *Journal of Applied Genetics*, 37: 105–120.
- Souza RCCL de, Ferreira CEL, Pereira RC (2009a) *Bioinvasão Marinha*. In: Soares-Gomes A & Figueiredo AG (org.) Biologia Marinha. 2^a edição. Rio de Janeiro: Editora Interciênciac, p. 559–560.
- Souza RCCL de, Calazans SH & Silva EP (2009b) Impactos das espécies invasoras no ambiente aquático. *Ciência e Cultura*, 61(1): 35–41.
- Stepien CA, Brown JE, Neilson ME & Tumeo MA (2005) Genetic diversity of invasive species in the Great Lakes versus their Eurasian source populations: insights for risk analysis. *Risk Analysis*, 25: 1043–1060.
- Swofford DL & Selander RB (1981) BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematic. *Journal of Heredity*, 72: 281–283.
- Takeda AM, Higuti J, Fujita DS & Bubena MR (2000) *Proliferação de uma espécie de bivalve invasora, Corbicula fluminea, na área alagável do Alto rio Paraná (Brasil)*. In: Seminário Brasileiro sobre Água de Lastro, 1, Arraial do Cabo, p.11.
- Temkin I (2006) Bivalvia – a look at the Branches. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 148: 253–312.
- Theriault TW, Orlova MI, Docker MF, MacIsaac HJ & Heath DD (2005) Invasion genetics of a freshwater mussel (*Dreissena rostriformis bugensis*) in eastern Europe: high gene flow and multiple introductions. *Heredity*, 95:16–23.
- Tracey ML, Bellet NF & Graven CD (1975) Excess allozyme homozygosity and breeding population structure in the mussel *Mytilus californianus*. *Marine Biology*, 32: 303–311.
- Vargas K, Asakura Y, Ikeda M, Taniguchi N, Obata Y, Hamasaki K, Tsuchiya K & Kitadas S (2008) Allozyme variation of littleneck clam *Ruditapes philippinarum* and genetic mixture analysis of foreign clams in Ariake Sea and Shiranui Sea off Kyushu Island, Japan. *Fisheries Science*, 74: 533–543.
- Veitenheimer-Mendes IL (1981) *Corbicula manilensis* (Philippi, 1844) molusco asiático, na bacia do Jacuí e do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Corbiculidae). *Iheringia, Série Zoológica*, 60: 63–74.
- Villela IV, Oliveira IM de, SILVA J da & Henriques JAP (2006) DNA damage and repair in haemolymph cells of golden mussel (*Limnoperna fortunei*) exposed to environmental contaminants. *Mutation Research*, 605: 78–86.
- Viard F, Ellien C & Dupont L (2006) Dispersal ability and invasion success of *Crepidula fornicata* in a single gulf: insights from genetic markers and larval-dispersal model. *Helgoland Marine Research*, 60: 144–152.
- Wallentinus I & Nyberg CD (2007) Introduced marine organisms as habitat modifiers. *Marine Pollution Bulletin*, 55: 323–332.
- Wares JP, Hughes AR & Grosberg RK (2005) Mechanisms that drive evolutionary change. *Insights from species introductions and invasions*. p. 229–257. In: Sax DF,

- Stachowicz, JJ & Ganes SD. Species Invasions: Insights into Ecology, Evolution, and Biogeography Sinauer Associates Inc., Sunderland, p. 480.
- Weir BS & Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 38: 1358–1370.
- Williamson MH & Fitter A (1996) The characteristics of successful invaders. *Biological Conservation*, 78:163–170.
- Zamprogno GC, Fernandes LL & Fernandes FC (2010) Spatial variability in the population of *Isognomon bicolor* (C.B. ADAMS, 1845) (Mollusca, Bivalvia) on rocky shores in Espírito Santo, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 58: 23–29.
- Zardus JD & Hadfield MG (2005) Multiple origins and incursions of the Atlantic barnacle *Chthamalus proteus* in the Pacific. *Molecular Ecology*, 14: 3719–3733.
- Zouros E & Foltz DW (1984) Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia*, 25: 583–591.

8. APÊNDICES

Apêndice A: Frequências genotípicas da população da Praia de Itaipu em três momentos no tempo (2005, 2009 e 2013).

Pontos					
Enzima	Genótipo	2005	2009	2013	Somatória
<i>a - Est-1</i>	AA	1	2	0	
	AB	6	1	3	
	AC	0	3	0	
	BB	9	0	12	
	BC	7	4	1	
	CC	0	2	6	
	CD	1	2	2	
	DD	0	3	0	
	N	24	17	24	65,00

<i>a - Est-2</i>	AA	46	24	40	
	AB	3	0	2	
	AC	0	0	0	
	BB	1	0	0	
	BC	0	0	0	
	CC	0	0	0	
	N	50	24	42	116,00

<i>Lap-1</i>	AA	0	0	0	
	AB	0	0	3	
	AC	1	2	0	
	BB	1	0	7	
	BC	0	3	2	
	BD	0	2	0	
	CC	0	7	4	
	CD	0	4	1	
	CE	0	0	0	
	DE	0	1	0	
	N	2	19	17	38,00

Apêndice A: Frequências genotípicas da população da Praia de Itaipu em três momentos no tempo (2005, 2009 e 2013)(continuação)...

Enzima	Genótipo	2005	2009	2013	Somatória
<i>Lap-2</i>	AA	0	0	1	
	AB	1	0	2	
	AC	0	2	1	
	BB	0	0	4	
	BC	2	1	7	
	CC	0	4	4	
	CD	0	2	0	
	N	3	9	19	31,00

<i>Lap-3</i>	AA	2	0	4	
	AB	3	1	3	
	AC	0	3	1	
	BB	3	0	5	
	BC	0	1	5	
	BD	0	0	0	
	CC	1	1	4	
	CD	0	1	0	
	CE	0	1	0	
	DE	0	0	0	
	N	9	8	22	39,00

<i>Me-1</i>	AA	0	0	9	
	AB	1	3	2	
	AC	0	1	0	
	BB	0	0	1	
	BC	0	2	0	
	CC	0	4	0	
	N	1	10	12	23,00

<i>Me-2</i>	AA	1	9	6	
	AB	3	5	6	
	AC	0	0	0	
	BB	1	2	7	
	BC	0	0	0	
	CC	0	0	0	
	N	5	16	19	40,00

Apêndice A: Frequências genotípicas da população da Praia de Itaipu em três momentos no tempo (2005, 2009 e 2013)(continuação)...

Enzima	Genótipo	2005	2009	2013	Somatória
Mdh	AA	6		6	
	AB	0	7	7	
	AC	0	0	2	
	AD	0	0	1	
	BB	3	1	9	
	BC	2	0	9	
	BD	0	0	2	
	CC	0	0	3	
	CD	0	0	1	
	N	11	16	40	67,00

Pgd	AA	0	0	3	
	AB	1	1	1	
	AC	0	1	1	
	BB	0	4	5	
	BC	0	0	2	
	CC	0	1	0	
	N	1	7	12	20,00

Pgi	AA	0	0	3	
	AB	0	2	3	
	BB	3	12	9	
	BC	3	5	8	
	CC	2	3	2	
	CD	1	0	3	
	DD	0	0	1	
	N	9	22	29	60,00

Sod	AA	0	0	0	
	AB	2	3	1	
	AC	0	0	0	
	BB	10	21	11	
	BC	0	0	0	
	CC	0	0	0	
	N	12	24	12	48,00

Σ de genótipos por ano	132,00	196,00	248,00	
Total de Genótipos				576,00

Apêndice B: Tabela de heterozigosidade observada e esperada para cada locos e ano.

Local	α-Est-1		α-Est-2		Lap -1		Lap-2	
	H_{obs}	H_{esp}	H_{obs}	H_{esp}	H_{obs}	H_{esp}	H_{obs}	H_{esp}
2005	0.527	0.538	0.095	0.096	0.625	0.833	0.611	0.733
2009	0.721	0.743	0.000	0.000	0.579	0.595	0.451	0.477
2013	0.532	0.543	0.046	0.047	0.574	0.592	0.605	0.622

Tabela de heterozigosidade observada e esperada para cada locos e ano (continuação).

Local	Lap-3		Me - 1		Me- 2		Mdh	
	H_{obs}	H_{obs}	H_{esp}	H_{obs}	H_{obs}	H_{esp}	H_{obs}	H_{esp}
2005	0.586	0.621	0.500	1.000	0.500	0.556	0.562	0.589
2009	0.664	0.708	0.595	0.626	0.404	0.417	0.404	0.417
2013	0.650	0.665	0.278	0.290	0.499	0.512	0.669	0.677

Tabela de heterozigosidade observada e esperada para cada locos e ano (continuação).

Local	Pgd		Pgi		Sod	
	H_{obs}	H_{esp}	H_{obs}	H_{esp}	H_{obs}	H_{esp}
2005	0.500	1.000	0.549	0.582	0.153	0.159
2009	0.520	0.560	0.439	0.449	0.117	0.120
2013	0.580	0.605	0.621	0.632	0.080	0.083

Apêndice C: Bivalves exóticos encontrados no Brasil

Myoforceps aristatus



Mytilopsis leucophaeta



Perna perna



Corbicula fluminea



Corbicula manilensis



Corbicula largillieri

Apêndice C: Bivalves exóticos encontrados no Brasil (continuação)

Crassostrea gigas



Limnoperna fortunei