



**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
MARINHA E AMBIENTES COSTEIROS**

**ANÁLISE ESPAÇO-TEMPORAL DA VARIAÇÃO GÊNICA
E MORFOLÓGICA DE *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck,
1818) DO ATLÂNTICO TROPICAL SUDOESTE**

TAINARA RAVAGLIA FERREIRA GONÇALVES

**Niterói
Dezembro, 2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
MARINHA E AMBIENTES COSTEIROS**

ANÁLISE ESPAÇO-TEMPORAL DA VARIAÇÃO GÊNICA E MORFOLÓGICA DE *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck, 1818) DO ATLÂNTICO TROPICAL SUDOESTE

TAINARA RAVAGLIA FERREIRA GONÇALVES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Marinha e Ambientes Costeiros, Departamento de Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Biologia Marinha e Ambientes Costeiros.

Orientadores:

Prof^a. Dra. Michelle Rezende Duarte
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Edson Pereira da Silva
Universidade Federal Fluminense

**Niterói
Dezembro, 2020**

Ficha catalográfica automática - SDC/BCV
Gerada com informações fornecidas pelo autor

G635a Gonçalves, Tainara Ravaglia Ferreira
 Análise espaço-temporal da variação genica e
 morfológica de *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck, 1818) do
 Atlântico tropical sudoeste / Tainara Ravaglia Ferreira
 Gonçalves ; Michelle Rezende Duarte, orientadora ; Edson
 Pereira da Silva, coorientador. Niterói, 2020.
 72 p. : il.

 Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense,
 Niterói, 2020.

 DOI: <http://dx.doi.org/10.22409/PBMAC.2020.m.02075133174>

 1. Variação Gênica. 2. Variação morfológica. 3.
 Bivalves. 4. *Iphigenia brasiliensis*. 5. Produção
 intelectual. I. Duarte, Michelle Rezende, orientadora. II.
 Silva, Edson Pereira da, coorientador. III. Universidade
 Federal Fluminense. Instituto de Biologia. IV. Título.

CDD -

**ANÁLISE ESPAÇO-TEMPORAL DA VARIAÇÃO GÊNICA E MORFOLÓGICA
DE *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck, 1818) DO ATLÂNTICO TROPICAL
SUDOESTE**

TAINARA RAVAGLIA FERREIRA GONÇALVES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Marinha e Ambientes Costeiros, Departamento de Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Biologia Marinha e Ambientes Costeiros.

Banca Examinadora:

Dr. Flavio da Costa Fernandes
Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira

Dr. Júlio César Monteiro
Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira

Dra. Michelle Rezende Duarte (Orientadora)
Universidade Federal Fluminense

AGRADECIMENTOS

Principalmente aos meus orientadores Edson e Michelle, por todo o suporte, conhecimento compartilhado e dedicação nessa jornada, que me ajudou a superar diversas barreiras e a superar minhas próprias expectativas. Meu muito obrigada.

Aos meus queridíssimos colegas de Laboratório, Maira, Jessica, Felipe, Breno, Luca, Tate e Sara, por todos os momentos de descontração, por todos os papo e ajudas que deram ao longo dessa jornada.

Aos meus pais Mara e Jose, e ao meu irmão Leonardo que estão sempre do meu lado em todas as minhas decisões e que sempre me deram força pra seguir meus sonhos. E por fim, devo agradecer imensamente ao namorado Mateus, que esteve ao meu lado ao longo de muitas madrugadas, me ajudando em diversas situações ou só mesmo me dando apoio moral para continuar, muito obrigada.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	V
LISTA DE TABELAS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo Geral.....	6
2.2. Objetivos Específicos	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1. Área de Estudo.....	8
3.2. Coleta	8
3.3. Variação Gênica	11
3.4. Variação Morfológica.....	16
4. RESULTADOS.....	20
4.1. Eletroforese de Aloenzimas	21
4.2. Morfometria Tradicional	28
4.3. Morfometria Geométrica.....	32
5. DISCUSSÃO	37
5.1. Variação Gênica	38
5.2. Variação Morfológica.....	42
6. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Número de valvas usadas para as análises da Morfometria Tradicional (MT), Morfometria Geométrica (MG) e número de indivíduos usados nas análises Genéticas (GN) de cada local por ano e ambiente.	10
Tabela II. Enzimas usadas, com abreviações, número de comissão (E.C.), número de subunidades, número de <i>loci</i> interpretados e tampões utilizados. .	13
Tabela III. Sistemas de tampão utilizados e receita dos tampões de gel e eletrodo.	13
Tabela IV. Receitas dos sistemas de tampão usados para revelação (Harris & Hopkinson 1976; Richardson <i>et al.</i> 1986).	13
Tabela V. Receitas dos sistemas enzimáticos revelados (Harris & Hopkinson 1976; Richardson <i>et al.</i> 1986).	14
Tabela VI. Frequências alélicas das unidades amostrais. Legenda: N = Tamanho de amostra; A, B, C, D, E = Alelos; ROC = Rio das Ostras Canal; ROM = Rio das Ostras Mangue; NITC = Niterói Canal; NITM = Niterói Mangue; PAC = Paraty Canal; PAM=Paraty Mangue; 2015, 2016, 2017, 2018 = Ano da coleta.	23
Tabela VII. Tamanho médio de amostra, número médio de alelos por <i>locus</i> e heterozigosidades médias observadas e esperadas das unidades amostrais de <i>Iphigenia brasiliensis</i> do Atlântico Tropical Sudoeste (Desvios-padrão entre parêntesis. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.	24
Tabela VIII. Probabilidades (P) de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Ho: união de gametas ao acaso). Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.	25
Tabela IX. Índices de endocruzamento de Weir & Cockerham (1984) com os intervalos de confiança para as médias por <i>Jackknife</i> e <i>Bootstrap</i>	25
Tabela X. Porcentagem de indivíduos de <i>Iphigenia brasiliensis</i> classificados corretamente em sua unidade amostral a partir da análise discriminante das 13 medidas lineares. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.	34
Tabela XI. Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA) entre as doze unidades amostrais de <i>Iphigenia brasiliensis</i> utilizando os 19 coeficientes de Fourier. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.	35

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização dos pontos de coleta ao longo da costa Sudeste do Brasil no Atlântico Tropical Sudoeste. Imagem adaptada de Bonner e colaboradores (2019).09
- Figura 2.** Resumo do método de Eletroforese de Aloenzimas. Imagem adaptada de Neto e colaboradores (2019).15
- Figura 3.** Descrição das 13 medidas lineares utilizadas para descrição da forma das valvas de *Iphigenia brasiliensis*. Legenda: **(A)** Representa a medida da largura da valva (*Wid*); **(B)** Representa as medidas do comprimento do umbo até a extremidade ventral posterior (*X*); comprimento do umbo até a extremidade ventral anterior (*Y*); Comprimento da valva (*Ls*); altura da valva (*He*); **(C)** Representa as medidas de distância entre o umbo e a charneira (*Umhg*); comprimento da charneira (*Hg*); **(D)** Representa as medidas do comprimento do músculo adutor anterior (*Aam*); distância do músculo adutor anterior à margem anterior (*Aamx*); distância do músculo adutor anterior à extremidade ventral da valva (*Aampo*); comprimento do músculo adutor posterior (*Pam*); distância entre a linha paleal e o músculo adutor posterior (*Plpam*); distância entre a linha paleal e a extremidade ventral do contorno da valva (*Plpo*). Imagem adaptada de Ferreira (2019).18
- Figura 4.** Posicionamento da câmera e das valvas; (A) Imagem do aparato fotográfico utilizado para execução das fotografias e (B) Representação do posicionamento de uma valva esquerda para obtenção do registro fotográfico.19
- Figura 5.** Imagem representativa da marcação dos 38 pontos definidos ao longo do contorno de uma valva esquerda da espécie *Iphigenia brasiliensis* (Ferreira 2019).19
- Figura 6.** Dendrograma de UPGMA de Identidades Genéticas entre as unidades amostrais. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.26
- Figura 7.** Valores de Delta *K* em relação ao numero de populações (*K*) testadas obtidos no programa STRUCTURE através da Análise Bayesiana, onde o maior valor de Delta *K* refere-se ao numero de populações mais provável.26
- Figura 8.** Gráfico obtido no programa STRUCTURE através da Análise Bayesiana, demonstrando as estruturas genéticas entre as doze unidades amostrais coletadas das populações de *Iphigenia brasiliensis* formando três grupos. O gráfico apresenta a qual grupo os indivíduos de cada unidade amostral estão mais presentes. A maioria dos indivíduos de ROC 2017, NITC 2016, PAC 2017 e PAM 2017 estão presentes no Grupo 1 (■); a maioria dos indivíduos de ROM 2017 e NITM 2016 estão presentes no Grupo 2 (□); e a maioria dos indivíduos de ROC 2015, ROM 2015, NITC 2018, NITM 2018, PAC 2018 e PAM 2018 estão presentes no Grupo 3 (▣).Legenda com as abreviações das unidades populacionais estão na Tabela VI.27

Figura 9. Gráfico de dispersão das 12 unidades amostrais *Iphigenia brasiliensis* em função dos dois primeiros componentes principais utilizando as 13 medidas lineares. Legenda dos símbolos: ○ROC2015; ■ROC2017; ▲ROM2015; ✱ROM2017; ▼NITC2016; △NITC2018; ▒NITM2016; □NITM2018; ✕PAC2017; ◇PAC2018; ◆PAM2017; ■PAM2018. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.30

Figura 10. Dendrograma de UPGMA gerado a partir das Distâncias Euclidianas das 12 unidades amostrais de *Iphigenia brasiliensis* analisadas através de 13 medidas lineares. Os valores nos ramos indicam o suporte associado a cada um desses agrupamentos. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.31

Figura 11. Gráfico de dispersão das 12 unidades amostrais *Iphigenia brasiliensis* em função dos dois primeiros componentes principais utilizando os 19 Coeficientes de Fourier. A legenda dos símbolos está na Figura 6. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela II.33

Figura 12. Dendrograma de UPGMA gerado a partir das Distâncias Euclidianas das 12 unidades amostrais de *Iphigenia brasiliensis* analisadas através de 19 coeficientes de Fourier. Os valores nos ramos indicam o suporte associado a cada um desses agrupamentos. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.36

RESUMO

Iphigenia brasiliensis (Lamarck, 1818) é um molusco bivalve explorado como recurso de mariscagem e subsistência na costa brasileira, especialmente nas regiões Norte e Nordeste. Nesta dissertação a variação gênica (eletroforese de aloenzimas) e morfológica (morfometria multivariada das valvas) da espécie foram estudadas nas dimensões geográfica (445km da região sudoeste do atlântico tropical), ambiental (manguezais e canais de comunicação com o mar de três estuários no estado do Rio de Janeiro) e temporal (ao longo de dois anos). Os resultados genéticos revelaram indícios de influência temporal na estruturação indicando, possivelmente, oscilações na dinâmica de dispersão entre as unidades amostrais e, também, oscilações temporais nos tamanhos de população devido à influência antropogênica nos estuários estudados. Os resultados de variação morfológica, inferida a partir da análise de Fourier, indicaram que influência semelhante pode estar ocorrendo sobre a forma das valvas. Neste sentido, é possível que as populações estudadas estejam organizadas numa dinâmica de metapopulações. Finalmente, é importante ressaltar que os dados apresentados representam os primeiros sobre variação morfológica e genética da espécie nas dimensões latitudinal, ambiental e temporal estudados simultaneamente e, portanto, fornecem informações relevantes para a exploração, manejo e conservação dessa espécie comercialmente importante.

Palavras-chave: Aloenzimas, Morfometria, Variação Morfológica, Variação Gênica, Bivalves.

ABSTRACT

Iphigenia brasiliensis (Lamarck, 1818) is a mollusk bivalve exploited as a seafood and subsistence resource on the Brazilian coast, especially in the North and Northeast regions. In this dissertation, the genetic variation (alloenzyme electrophoresis) and morphological (multivariate morphometry of the valves) of the species were studied in the geographical dimension (445km from the southwest region of the tropical Atlantic), environmental (mangroves and channels of communication with the sea from the three estuaries studied in the state of Rio de Janeiro) and temporal (over two years). The genetic results revealed evidences of temporal influence on the population structure of the species in the studied area, possibly indicating oscillations in the dynamics of dispersion between the sample units and, also, temporal oscillations in the population sizes due to the anthropogenic influence in the studied estuaries. The results of morphological variation, inferred from the Fourier analysis, also showed similar evidences of temporal influence on the shape of the valves. In this sense, it is possible that the populations of *Iphigenia brasiliensis* studied are organized in a dynamic of metapopulations. Finally, it is important to note that the data presented here represent the first on morphological and genetic variation of the species in the latitudinal, environmental and temporal dimensions studied simultaneously and, therefore, provide relevant information for the exploration, management and conservation of this commercially important species.

Key-words: Allozymes, Morfometry, Morphological Variation, Genetic Variation, Bivalves.

1. INTRODUÇÃO

A variação gênica é influenciada por diversos fatores, tanto de natureza estocástica, como a deriva genética, endogamia, oscilação temporal dos tamanhos de população; quanto determinística, como a seleção natural e os regimes migratórios (Fenderson *et al.* 2020; Grant 2001; Stapley *et al.* 2017). Todos esses fatores estão sujeitos a mudanças espaciais, ligadas aos diferentes ambientes e temporais, relacionadas aos diferentes ciclos naturais (Barton & Charlesworth 1984). Mais lábil ainda é a variação morfológica que, além de diretamente ligada aos padrões de variação gênica (Cheverud 1984), está sujeita as diferentes normas de reação dos genótipos (Gupta & Lewontin 1982; Sultan 2017), sua plasticidade fenotípica (Bonamour *et al.* 2019; Scheiner 1993; West-Eberhard 1989), a variação epigenética (Jablonka & Lamb 1989; Jablonka 2012) e, ainda, os ruídos ambientais, que podem provocar modificações nos padrões normais de desenvolvimento devido a distúrbios ambientais ou genéticos (Kight & Swaddle 2011; Markow 1995). A multiplicidade de fatores regulando os padrões de variação gênica e morfológica impõem desafios importantes para os estudos interessados nesses fenômenos (Auld *et al.* 2010; Clark 2000).

Com relação à variação morfológica, as técnicas de Morfometria Tradicional e Morfometria Geométrica têm permitido descrever os padrões de forma dos organismos dentro e entre populações, bem como correlacioná-los com variações de natureza latitudinal, temporal e ambiental (Bitner-Mathé *et al.* 1995; Buskirk 2009; Telesca *et al.* 2018). A Morfometria tradicional teve seu início no final do século XIX e se consolidou no século XX com o desenvolvimento das técnicas de análises multivariadas que permitiram estudar a variação na forma dos organismos através de correlações entre medidas de distâncias entre estruturas biológicas. Contudo, com sua incapacidade de capturar a forma dos organismos como um todo (Rohlf & Marcus 1993), bem como circunscrever o problema do crescimento alométrico (Adams *et al.* 2004) a Morfometria Tradicional ainda apresentava limitações. O desenvolvimento da Morfometria Geométrica, a partir dos anos de 1990, foi capaz de resolver boa parte desses limites pela aplicação de técnicas como as análises de contorno. Nesse caso, a forma do corpo é representada como um todo e permite a

comparação direta da forma que é detectada em todas as direções, o que compensa erros aleatórios de medição (Adams *et al.* 2004; Rohlf & Marcus 1993; Roth & Mercer 2000; Zelditch *et al.* 2012).

Nos tocante aos padrões de variação gênica das populações naturais, desde a publicação dos trabalhos seminais de Lewontin e Hubby (Hubby & Lewontin 1966; Lewontin & Hubby 1966), eles têm sido descritos pela técnica de eletroforese de aloenzimas (Bernstein *et al.* 1973; Carson & Johnson 1975; Fins & Seeb 1986; Hamrick *et al.* 1992; Rick *et al.* 1979; Sugama *et al.* 1999; Taggart *et al.* 1981; Uthicke & Purcell 2004), mesmo com o desenvolvimento das diversas técnicas de DNA (Silva & Russo 2000; Skibinski 1994) e a consolidação e generalização do sequenciamento de última geração (Behjati & Tarpey 2013). Apesar de algumas limitações técnicas (tipo de material que pode ser usado, ser um registro de fenótipos, subestimar a variação gênica total etc.) e teóricas (discussão quanto a neutralidade dos *loci*) as aloenzimas ainda são um bom descritor da variação gênica (Arunkumar *et al.* 2018; Jormalainen *et al.* 2019; Pazoto *et al.* 2018), especialmente quando os estudos dizem respeito a influência dos efeitos latitudinais, temporais e ambientais sobre a variação gênica (Bonner *et al.* 2019; Kuzishchin *et al.* 2018; Lauterjung *et al.* 2019; Montagna *et al.* 2018; Rossi *et al.* 2019). O mesmo pode ser dito quando o objetivo é investigar as relações entre variação gênica e morfológica (Cruz *et al.* 2011; Duarte *et al.* 2018; Ryman *et al.* 1984; Vetrova *et al.* 2016; Zink 1988).

Dentre os modelos que têm sido utilizados para o estudo da correlação entre variação gênica e morfológica e os diferentes fatores relacionados a ela estão os moluscos bivalves (Begum *et al.* 2018; Bonner *et al.* 2019; Inoue *et al.* 2013; Kong *et al.* 2007; Laudien *et al.* 2003; Zieritz *et al.* 2010), uma vez que são organismos que apresentam uma ampla distribuição geográfica, ocupam uma gama relativamente grande de condições ambientais e são relativamente abundantes (Lorion *et al.* 2010; Simpson & Harnik 2009), além de serem animais de importância comercial. A região tropical a sudoeste do oceano atlântico, em especial na costa brasileira, abriga uma grande biodiversidade de bivalves (Soares *et al.* 2011), como as espécies de moluscos bivalves *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791), *Crassostrea rhizophorae* (Guilding

1928) e *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck, 1818) (Nascimento *et al.* 1980; Maia *et al.* 2018; Teixeira & Campos 2019). A *Anomalocardia brasiliensis* é uma espécie exclusivamente brasileira que vem sendo estudada desde os anos 70 em diversas abordagens (Arruda *et al.* 2009; Corte *et al.* 2017; Mouëza *et al.* 1999; Narchi 1972b; Silva-Cavalcanti & Costa 2011). O mesmo podendo ser dito da espécie *Crassostrea rhizophorae* (Freitas *et al.* 2006; Kanhai *et al.* 2014; Leal *et al.* 2008; Martino & Cruz 2004). A *Iphigenia brasiliensis*, entretanto, apesar da sua relevância comercial, é muito pouco estudada (Bonner *et al.* 2019; Ceuta *et al.* 2010; Costa *et al.* 2019; Narchi 1972a).

Iphigenia brasiliensis ocorre na Florida (EUA), Suriname, partes do mar do Caribe e no Brasil, entre os estados do Pará (0°07'04"S, 49°23'17"W) e de Santa Catarina (29°19'46"S, 49°42'39"W) (Rios 1994; Scarabino *et al.* 2015), onde é possível encontrá-la em estuários e manguezais (Narchi 1972a) que são corpos de água nos quais a água do mar é diluída com água doce derivada da drenagem terrestre, apresentando um gradiente horizontal de salinidade (Bazin *et al.* 2014). Essas regiões apresentam uma alta variação nos aspectos físicos (como temperatura, mudanças de mares) e químicos (como salinidade, pH, oxigênio dissolvido) que podem variar no tempo e no espaço (Bazin *et al.* 2014; Chapman & Wang 2001; McLusky 1993). Com isso, esta espécie está sujeita a uma gama de variáveis ambientais que oscilam tanto no tempo quanto no espaço (Kefford *et al.* 2016). Levando em consideração essa ampla gama de variações espaço-temporais do nicho ecológico ocupado pela espécie mais o fato dela ser muito explorada como recurso de mariscagem na costa brasileira, o objetivo deste trabalho foi descrever a variação gênica e morfológica da espécie no Atlântico Tropical Sudoeste nas dimensões geográfica, ambiental e temporal. Correspondências entre os padrões de variação gênica e morfológica nas três dimensões amostradas foram analisadas. Os resultados obtidos fornecem informações importantes para o entendimento da ação dos fatores que regulam os padrões de variação gênica e morfológica das populações naturais e, também, para o desenvolvimento de estratégias de exploração racional, manejo e conservação dessa espécie.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Descrever a variação gênica e morfológica espaço-temporal de populações de *Iphigenia brasiliensis* em três pontos na costa do estado do Rio de Janeiro.

2.2. Objetivos Específicos

- I. Descrever a variação gênica e morfológica das populações de *Iphigenia brasiliensis* nas dimensões espacial, ambiental e temporal;
- II. Buscar associações entre as variações gênicas e morfológicas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de Estudo

Foram obtidas amostras em estuários de três localidades ao longo de 445 km da costa do estado do Rio de Janeiro (Brasil) no Atlântico Tropical Sudoeste (Figura 1) como segue: Praia do Cemitério, onde deságua o Rio das Ostras (Rio das Ostras, 22°32'02"S, 41°56'08"W); Praia de Itaipu, com canal de comunicação com a Lagoa de Itaipu (Niterói, 22°57'58"S, 43°02'41"W) e Praia de Jabaquara, onde deságua o rio Perequê-Açú (Paraty, 23°12'41"S, 44°42'55"W). Para cada um dos três estuários foram coletados indivíduos de dois ambientes diferentes (manguezal e canal) totalizando seis unidades amostrais. Cada uma dessas unidades amostrais teve coletas realizadas em dois anos diferentes (Rio das Ostras em 2015/2017, Niterói em 2016/2018 e Paraty em 2017/2018) como mostrado na Tabela I.

3.2. Coleta

Um total de 429 indivíduos da espécie *Iphigenia brasiliensis* foi obtido cavando-se o substrato até cerca de 20 cm de profundidade. O número de indivíduos coletados nos locais estudados variou de 16 a 30 indivíduos, dependendo da disponibilidade nos locais de coleta (Tabela I). O material coletado foi transportado vivo ou em gelo seco para o laboratório onde cada espécime foi descarnado e a parte mole de todos os indivíduos foi mantida em freezer a -20° até a realização do trabalho de eletroforese. As valvas de cada indivíduo foram enumeradas e registradas as informações referentes ao local, ambiente e data de coleta. Foram selecionadas as valvas esquerdas para tomada de medidas e fotografias referentes às análises morfométricas.

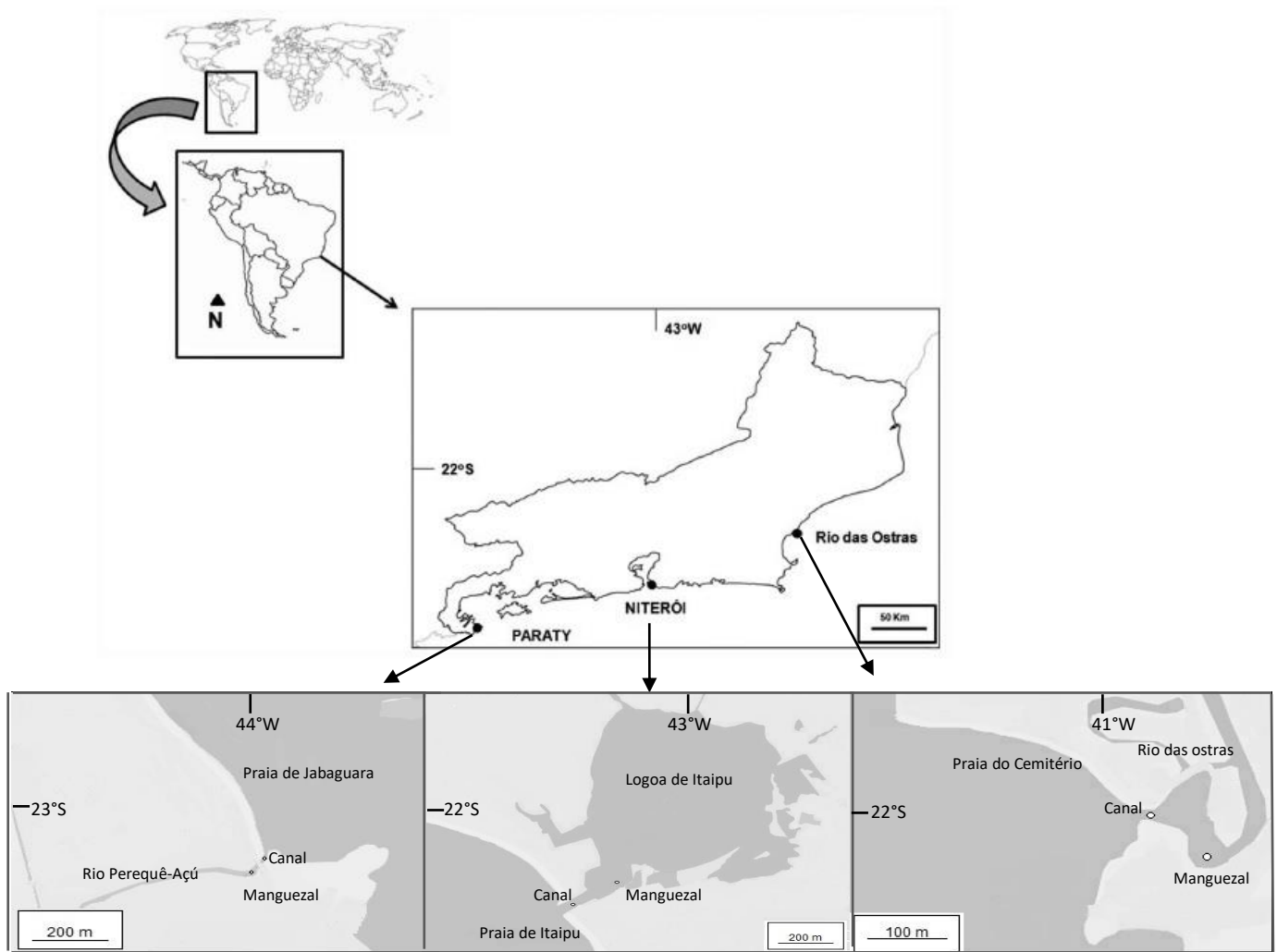


Figura 1. Localização dos locais de coleta ao longo da costa Sudeste do Brasil no Atlântico Tropical Sudoeste. Imagem adaptada de Bonner e colaboradores (2019).

Tabela I. Número de valvas usadas para as análises da Morfometria Tradicional (MT), Morfometria Geométrica (MG) e número de indivíduos usados

Local	Ano	Ambiente	MT	MG	GN
Rio das Ostras - RJ	2015	Manguezal	30	30	32
		Canal	30	28	32
	2017	Manguezal	17	17	17
		Canal	25	25	28
Niterói - RJ	2016	Manguezal	30	30	35
		Canal	30	30	38
	2018	Manguezal	16	16	17
		Canal	25	25	29
Paraty - RJ	2017	Manguezal	30	30	36
		Canal	30	30	60
	2018	Manguezal	30	30	54
		Canal	30	30	51
Total			323	321	429

nas análises Genéticas (GN) de cada local por ano e ambiente.

3.3. Variação Gênica

A variação gênica foi amostrada pelo método de Eletroforese de aloenzimas com base em seis sistemas enzimáticos (Esterase-alfa, Leucina Aminopeptidase, Desidrogenase do Malato, Enzima Málica, Desidrogenase do Fosfogliconato, Isomerase da Glicose-6-Fosfato) interpretados como oito *loci* gênicos: α -Est-1, α -Est-2, *Lap*-2, *Mdh*, *Me*-1, *Me*-2, *Pgd* e *Pgi* (Tabela II).

As eletroforeses foram realizadas em quatro etapas: (1) foi feita a preparação do suporte de gel de amido na concentração de 27,5 g de amido e 220 mL de tampão. Os sistemas de tampões utilizados foram Tris-hidroxido de Lítio pH 8,0 (TLiOH) para as enzimas α -Est, *Lap* e *Mdh*, e Tris Citrato pH 8,0 (TC 8,0) para as enzimas *Me*, *Pgd* e *Pgi* (Selander *et al.* 1971), que estão descritos na Tabela III; (2) foi feita a preparação dos extratos, onde os indivíduos foram retirados do *freezer* e colocados em uma bandeja com gelo. Para cada um dos indivíduos foi retirado um pedaço de tecido que foram maceradas e homogeneizadas com um bastão de vidro, e depois levados ao gel através de papeis de filtro (da marca Schleicher e Schuell) com cerca de 3x10mm que foram embebidos no homogeneizado; (3) na etapa seguinte foi realizada a corrida eletroforética, onde os géis foram postos nas cubas dentro de uma geladeira com uma temperatura média de 5°C e submetidos a uma voltagem média de 3500 mw, com o tempo de corrida de 6-9h na dependência do tampão. Após a corrida os géis foram fatiados a uma espessura de 1 mm em uma mesa com um fio de aço inoxidável, para que então fosse realizada a quarta etapa, onde foi feita a (4) coloração histoquímica dos géis para revelação. As soluções reveladoras utilizadas estavam de acordo com o que foi descrito por Harris & Hopkinson (1976) e Richardson e colaboradores (1986), consistindo em um tampão com pH próximo do que é considerado ideal para a enzima, substratos das enzimas e seus cofatores, além de substâncias apropriadas para detectar a reação ou formação do produto, que estão descritos nas Tabelas IV e V. Após a revelação, os padrões de bandas foram interpretados de forma mendeliana e anotados em folhas de papel pautado. A Figura 2 mostra um esquema do processo de eletroforese de aloenzimas. Todos os géis foram fixados, embalados e guardados.

A variação gênica foi aferida com base no número médio de heterozigotos observados e esperados por *locus*, número de *locus* polimórficos, e número de alelos por *locus*, sendo estimados através do *software* BIOSYS-2 (Swofford & Selander 1997). Os testes de equilíbrio de Hardy-Weinberg foram realizados para todas as localidades, ambientes e tempos usando o *software* GENEPOP 3.3 (Rousset 2008) e os níveis de significância (p) corrigidos utilizando o método de Bonferroni (Haynes 2013). Para estimar o grau de estruturação populacional entre as 12 unidades amostrais (dois tempos, três locais e dois ambientes) foram calculadas as estatísticas F de Weir & Cockerham (1984) utilizando o *software* Fstat 2.9.3.2 (Goudet 2001). Foi realizada ainda uma Análise Bayesiana para inferir o número de populações mais provável no conjunto de dados utilizando do *software* STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard *et al.* 2000). As identidades gênicas entre as 12 unidades amostrais foram calculadas pelo método de Nei (1972) e usadas para construir um dendrograma com base no algoritmo de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean Averaging*) utilizando o *software* BIOSYS-2 (Swofford & Selander 1997).

Tabela II. Enzimas usadas, com abreviações, número de comissão (E.C.), número de subunidades, número de *loci* interpretados e tampões utilizados.

Abreviatura	Enzima	Nº E.C.	Nº sub.*	Nº <i>loci</i>	Tampão
<i>α-Est</i>	Esterase, alfa	3.1.1.1	1	2	TLiOH
<i>Lap</i>	Leucina Aminopeptidase	3.4.1.1	1	1	TLiOH
<i>Mdh</i>	Desidrogenase do Malato	1.1.1.37	2	1	TLiOH
<i>Me</i>	Enzima Málica	1.1.1.40	4	2	TC 8,0
<i>Pgd</i>	Desidrogenase do Fosfogliconato	1.1.4.4	2	1	TC 8,0
<i>Pgi</i>	Isomerase da Glicose-6-Fosfato	5.3.1.9	2	1	TC 8,0

*1 = monomérica; 2 = dimérica; 4 = tetramérica

Tabela III. Sistemas de tampão utilizados e receita dos tampões de gel e eletrodo.

Tampão	Receita		Referência
	Eletrodo	Gel	
Tris-hidróxido de lítio pH 8,0	Hidróxido de lítio 2,51 g Ácido bórico 18,55 g Água destilada 1,0 L	Trizma base 3,63 g Ácido cítrico 1,05 g Água destilada 1,0 L	Selander <i>et al.</i> 1971
Tris Citrato pH 8,0	Tris 30,3 g Ácido cítrico 12,00 g Água destilada 1,0 L	Tampão Tris Citrato 8,47 mL Água destilada 212 mL	Selander <i>et al.</i> 1971

Tabela IV. Receitas dos sistemas de tampão usados para revelação (Harris & Hopkinson 1976; Richardson *et al.* 1986).

Tampão	pH	Receita
TRIS Maleato 0,02M	5,3	Água destilada 1,0 L
		TRIZMA base 1,2 g
		Ácido maleico 2,3 g
TRIS HCl	8,0	Água destilada 1,0 L
		TRIS HCl 2,4 g

Tabela V. Receitas dos sistemas enzimáticos revelados (Harris & Hopkinson 1976; Richardson *et al.* 1986).

Enzima	Receita	Tampão de revelação
<i>α-Est</i>	<i>α</i> -naphthyl acetate 10mg*	Tris Maleato
	Fast blue 20mg	
<i>Lap</i> ***	L-Leucyl-β-Naphthylamide 15mg**	Tris Maleato
	Fast Black K 20mg	
	MgCl ₂ 10mg	
<i>Mdh</i>	NAD 8mg	Tris HCl
	MTT 5mg	
	PMS 1mg	
	Malate 50mg	
<i>Me</i>	NADP 8mg	Tris-HCl
	MTT 5mg	
	PMS 1mg	
	MgCl ₂ 10mg	
	Malate 50mg	
<i>Pgd</i>	Phospogluconate 20mg	Tris-HCl
	NADP 5mg	
	MTT 5mg	
	PMS 1mg	
	MgCl ₂ 10mg	
<i>Pgi</i>	NADP 3mg	Tris HCl
	MTT 5mg	
	PMS 1mg	
	MgCl ₂ 25mg	
	G6PDH 1,4u	
	Fructose-6-phosphate 25mg	

* dissolvido em 0,5 mL de EtOH

** dissolvido em 0,5 mL de acetona

*** pré-incubado em ácido bórico por 20 minutos.

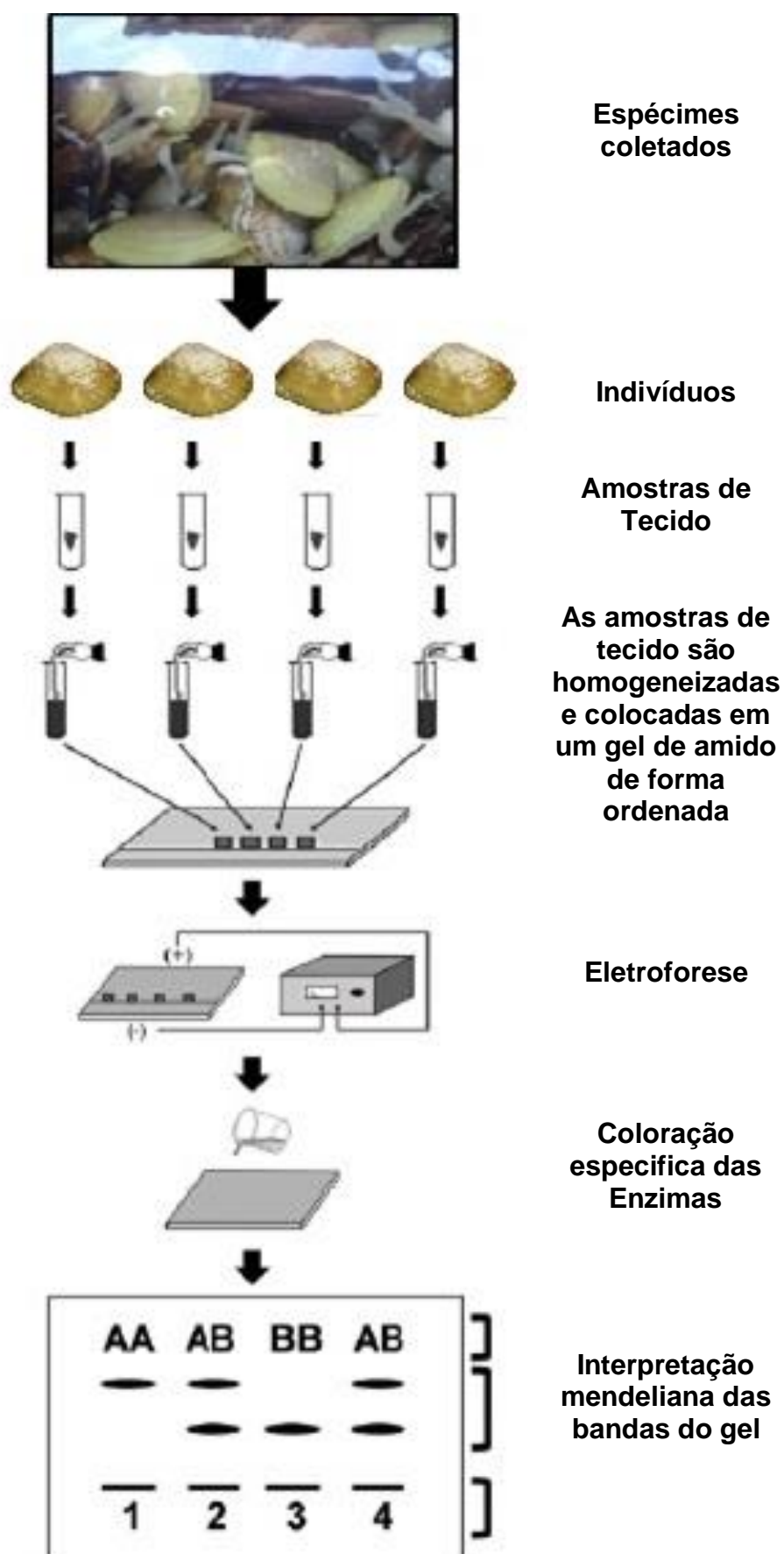


Figura 2. Resumo do método de Eletroforese de Aloenzimas. Imagem adaptada de Neto e colaboradores (2019).

3.4. Variação Morfológica

Para descrever a forma dos indivíduos pela Morfometria Tradicional foram utilizadas treze medidas lineares entre estruturas anatômicas presentes nas valvas esquerdas da espécie *Iphigenia brasiliensis* tomadas com um paquímetro digital marca *Mitutoyo* com precisão de 0,01 mm. Todas as medidas utilizadas estão discriminadas na Figura 3. O efeito de alometria relacionado às medidas lineares foi tratado com o método alométrico de Burnaby (Burnaby 1966) utilizando-se o *software* PAST 3.24 (Hammer *et al.* 2001).

Para a Morfometria Geométrica foi utilizado o método de Análise Elíptica de Fourier (EFA). A EFA permite analisar a forma do objeto a partir dos coeficientes elípticos de Fourier. O contorno do objeto é decomposto em uma série de elipses harmônicas (curvas trigonométricas harmonicamente relacionadas) que são descritas por quatro Coeficientes de Fourier (CFs). Desta maneira, os CFs descrevem numericamente o tamanho, a forma e a orientação de cada elipse harmônica, podendo ser utilizados para análises multivariadas da forma do objeto (Crampton 1995; Wishkerman & Hamilton 2018).

As fotografias para EFA, foram tomadas com uma câmera digital Cânon EOS Rebel XTi. Para o posicionamento das valvas, foi utilizado um papel quadriculado numerado para manter todas as conchas na mesma posição e como referencial para as análises foi utilizada uma escala de 10 cm. A Figura 4 mostra o aparato utilizado para obtenção das fotos.

Todas as condições fotográficas (distância da câmera, *zoom* etc.) foram mantidas constantes para todas as fotos. Para a definição do contorno do objeto, as fotos foram transferidas para o programa *tpsDig 2.16* (Rohlf 2015) no qual foram marcados 38 pontos ao longo do contorno das valvas (Figura 5). As coordenadas obtidas foram compiladas em um único arquivo através do programa *tpsUtil 1.76* (Rolf 2015). Para obter os CFs foi utilizado o *software* PAST 3.24 (Hammer *et al.* 2001).

A variação morfológica da forma das valvas obtidas pela Morfometria Tradicional (13 medidas lineares) e pela Morfometria Geométrica (19

Coeficientes de Fourier) foi submetida a análises exploratórias de Componentes Principais (PCA - *Principal Component Analysis*) e Análises de Discriminante (AD). Para verificar uma provável diferença da forma das valvas entre as unidades amostrais, foi utilizada a Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA). As probabilidades associadas ao teste da PERMANOVA foram corrigidas através da correção de Bonferroni de modo a evitar os erros derivados de múltiplas comparações (Haynes 2013). Além disso, foram construídos Dendrogramas seguindo o algoritmo de UPGMA (Gronau & Moran 2007) utilizando as Distâncias Euclidianas entre os valores de centróide das unidades amostrais. As análises multivariadas foram realizadas no *software* PAST 3.24 (Hammer *et al.* 2001).

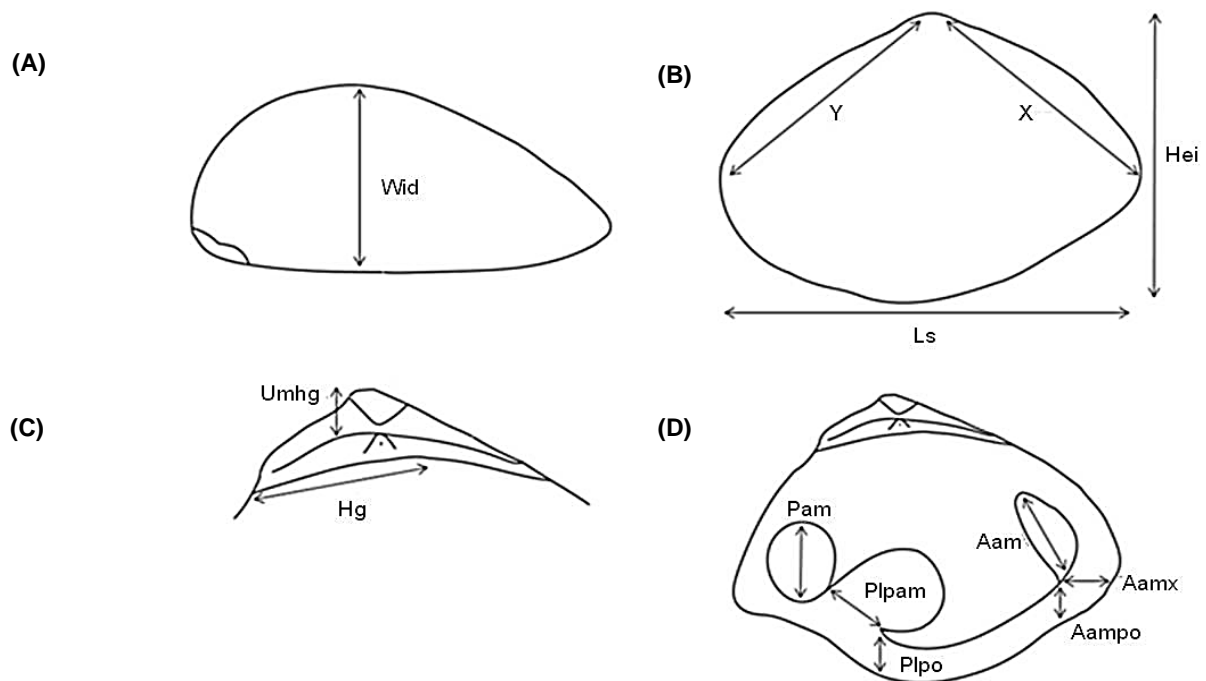


Figura 3. Descrição das 13 medidas lineares utilizadas para descrição da forma das valvas de *Iphigenia brasiliensis*. Legenda: **(A)** Representa a medida da largura da valva (*Wid*); **(B)** Representa as medidas do comprimento do umbo até a extremidade ventral posterior (*X*); comprimento do umbo até a extremidade ventral anterior (*Y*); Comprimento da valva (*Ls*); altura da valva (*Hei*); **(C)** Representa as medidas de distância entre o umbo e a charneira (*Umhg*); comprimento da charneira (*Hg*); **(D)** Representa as medidas do comprimento do músculo adutor anterior (*Aam*); distância do músculo adutor anterior à margem anterior (*Aamx*); distância do músculo adutor anterior à extremidade ventral da valva (*Aampo*); comprimento do músculo adutor posterior (*Pam*); distância entre a linha paleal e o músculo adutor posterior (*Plpam*); distância entre a linha paleal e a extremidade ventral do contorno da valva (*Plpo*). Imagem adaptada de Ferreira (2019).

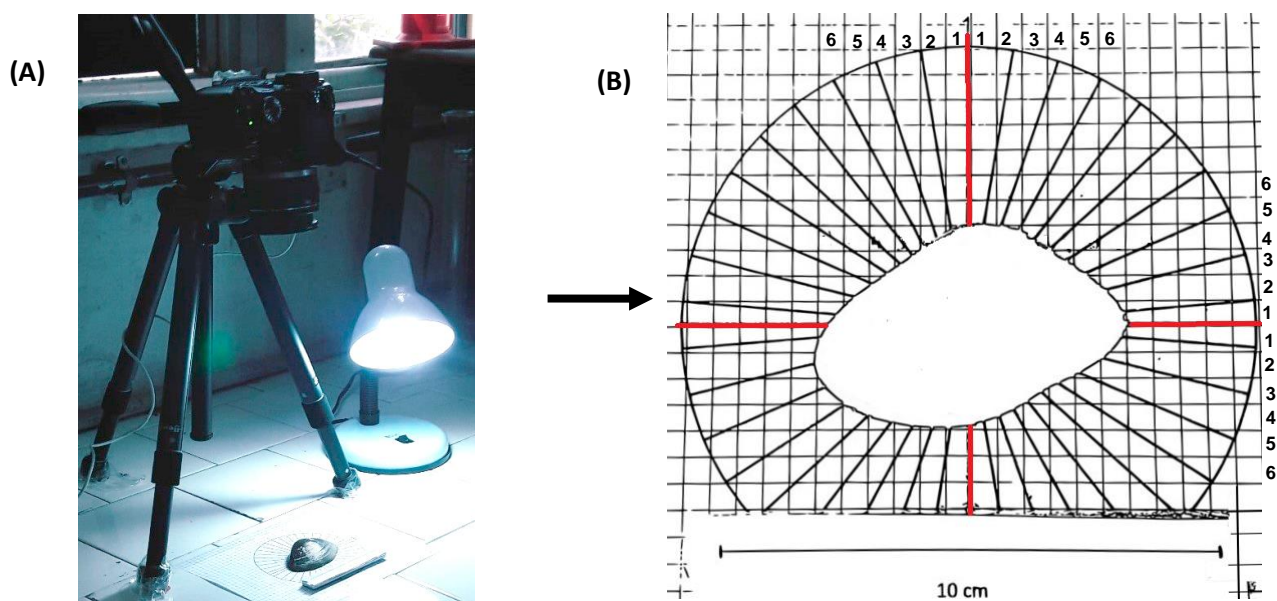


Figura 4. Posicionamento da câmera e das valvas; (A) Imagem do aparato fotográfico utilizado para execução das fotografias e (B) Representação do posicionamento de uma valva esquerda para obtenção do registro fotográfico.

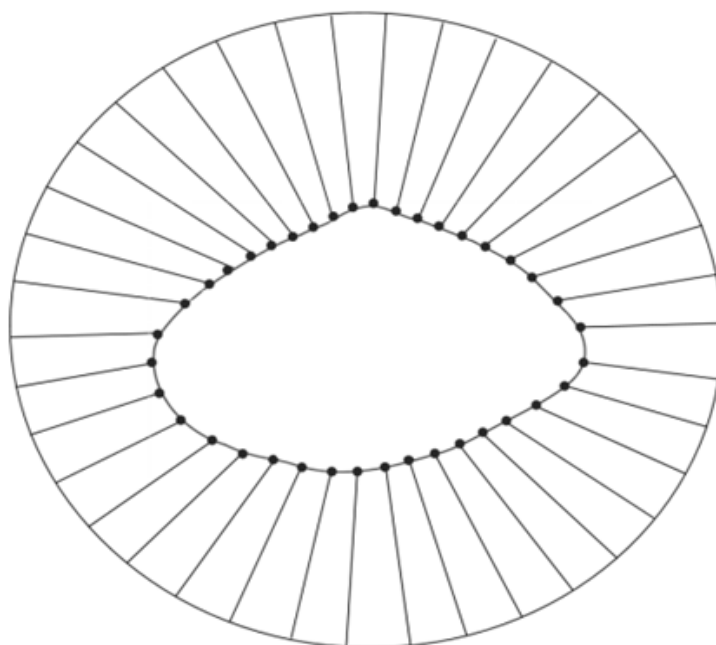


Figura 5. Imagem representativa da definição e marcação dos 38 pontos pelo programa *tpsDig* 2.16 (Rohlf 2015) ao longo do contorno de uma valva esquerda da espécie *Iphigenia brasiliensis* (Ferreira 2019).

4. RESULTADOS

4.1. Eletroforese de Aloenzimas

Os seis sistemas enzimáticos analisados foram interpretados como oito *loci* gênicos. Desses, Apenas o *locus* α -Est-2 na população de Paraty do ambiente de manguezal de 2018 (PAM 2018) se apresentou monomórfico (Tabela VI). O número médio de alelos por *locus* variou entre 2,8 e 3,4 e a heterozigosidade média observada variou entre 0,441 (para a unidade amostral de Rio das Ostras do ambiente de manguezal de 2015-ROM 2015) a 0,675 (para a unidade amostral de Niterói do ambiente de manguezal de 2018-NITM 2018) (Tabela VII).

A maioria dos *loci* não desviou significativamente do esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg após a correção de Bonferroni (Tabela VIII). Contudo, foram encontrados sete desvios significativos, o que é um número maior do que o que se esperaria ao acaso (5% de 91 Testes = 4,55). A maioria dos desvios ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi no sentido de um déficit de heterozigotos, a exceção do *locus* α -Est-2 que mostrou evidências de excesso de heterozigotos nas unidades amostrais de Paraty dos ambientes de canal e de manguezal do ano 2017 (PAC 2017 e PAM 2017). Os índices de endocruzamento estão apresentados na Tabela IX e nenhum deles apresentou resultados estatisticamente significativos quando tomada a média de todos os *loci*.

O dendrograma de UPGMA (Figura 6) apresentou três agrupamentos formados: (1) pelas unidades amostrais do ano de 2015; (2) pelas unidades amostrais do ano de 2018; e (3) pelas unidades amostrais de 2016 e 2017. A análise Bayesiana dos 429 indivíduos também identificou três grupos, como o número mais provável de populações (Figura 6). A identificação dos indivíduos de cada um destes grupos (Figura 7) indicou a seguinte composição: Grupo 1- formado com maioria dos indivíduos das unidades amostrais de Rio das Ostras de ambiente de canal do ano de 2017 (ROC 2017), Niterói do ambiente de canal do ano de 2016 (NITC 2016) e Paraty dos ambientes de canal e de manguezal do ano de 2017 (PAC 2017, PAM 2017); Grupo 2- constituído por uma maioria de indivíduos das unidades amostrais de Rio das Ostras do

ambiente de manguezal do ano de 2017 (ROM 2017) e Niterói do ambiente de manguezal do ano de 2016 (NITM 2016); e Grupo 3- com a maioria dos indivíduos advindos das unidades amostrais de Rio das Ostras dos ambientes de canal e de manguezal do ano de 2015 (ROC 2015, ROM 2015), Niterói dos ambientes de canal e de manguezal do ano de 2018 (NITC 2018, NITM 2018) e Paraty dos ambientes de canal e de manguezal do ano de 2018 (PAC 2018, PAM 2018). Tomados em conjunto, estes resultados indicam que dentre as dimensões analisadas (espaço, tempo e ambiente), a dimensão temporal é a que parece exercer maior influência na estruturação das unidades amostrais de *Iphigenia brasiliensis* analisadas neste trabalho.

Tabela VI. Frequências alélicas das unidades amostrais. Legenda: N = Tamanho de amostra; A, B, C, D, E = Alelos; ROC = Rio das Ostras Canal; ROM = Rio das Ostra Mangue; NITC = Niterói Canal; NITM = Niterói Mangue; PAC = Paraty Canal; PAM=Paraty Mangue; 2015, 2016, 2017, 2018 = Ano da coleta.

<i>Locus</i>	Unidades Amostrais											
	ROC 2015	ROC 2017	ROM 2015	ROM 2017	NITC 2016	NITC 2018	NITM 2016	NITM 2018	PAC 2017	PAC 2018	PAM 2017	PAM 2018
<i>α-Est-1</i>												
A	0,339	0,381	0,354	0,500	0,300	0,357	0,172	0,389	0,314	0,367	0,267	0,443
B	0,435	0,238	0,521	0,462	0,357	0,500	0,552	0,278	0,402	0,400	0,317	0,371
C	0,226	0,381	0,125	0,038	0,343	0,143	0,276	0,333	0,284	0,233	0,417	0,186
N	31	21	24	13	35	7	29	9	51	30	30	35
<i>α-Est-2</i>												
A	0,733	0,607	0,759	0,433	0,513	0,676	0,684	0,929	0,621	0,974	0,515	1,000
B	0,267	0,375	0,167	0,467	0,461	0,206	0,289	0,071	0,379	0,026	0,470	0,000
C	0,000	0,018	0,074	0,100	0,026	0,118	0,026	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000
N	30	28	27	15	38	17	19	14	58	38	33	46
<i>Lap-2</i>												
A	0,136	0,318	0,125	0,450	0,394	0,083	0,308	0,100	0,186	0,135	0,250	0,179
B	0,818	0,523	0,604	0,550	0,485	0,708	0,615	0,833	0,716	0,824	0,563	0,679
C	0,045	0,136	0,271	0,000	0,121	0,167	0,077	0,067	0,098	0,041	0,188	0,143
D	0,000	0,023	0,000	0,000	0,000	0,042	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
N	0,22	22	24	10	33	12	13	15	51	37	32	42
<i>Mdh</i>												
A	0,156	0,268	0,308	0,281	0,125	0,500	0,121	0,375	0,373	0,117	0,129	0,179
B	0,625	0,429	0,500	0,406	0,597	0,500	0,379	0,500	0,364	0,467	0,614	0,482
C	0,219	0,304	0,192	0,313	0,278	0,000	0,500	0,063	0,264	0,417	0,257	0,304
D	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,036
N	32	28	26	16	36	6	33	8	55	30	35	28
<i>Me-1</i>												
A	0,188	0,167	0,231	0,269	0,284	0,409	0,129	0,500	0,163	0,250	0,274	0,344
B	0,667	0,548	0,615	0,462	0,459	0,591	0,258	0,250	0,478	0,625	0,452	0,563
C	0,146	0,286	0,154	0,269	0,257	0,000	0,500	0,250	0,348	0,125	0,274	0,094
D	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,113	0,000	0,011	0,000	0,000	0,000
N	24	21	26	13	37	11	31	2	46	24	31	16
<i>Me-2</i>												
A	0,444	0,222	0,182	0,192	0,320	0,750	0,321	0,500	0,273	0,813	0,241	0,500
B	0,556	0,556	0,636	0,538	0,420	0,250	0,464	0,500	0,455	0,188	0,426	0,292
C	0,000	0,222	0,182	0,269	0,260	0,000	0,214	0,000	0,258	0,000	0,333	0,208
D	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000
N	9	18	11	13	25	2	14	1	33	8	27	12
<i>Pgd</i>												
A	0,500	0,333	0,750	0,250	0,306	0,238	0,214	0,111	0,346	0,231	0,281	0,220
B	0,500	0,429	0,000	0,156	0,500	0,548	0,321	0,611	0,365	0,462	0,313	0,520
C	0,000	0,238	0,250	0,531	0,194	0,214	0,429	0,278	0,250	0,308	0,406	0,260
D	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,036	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000
N	1	21	2	16	31	21	14	9	26	39	16	25
<i>Pgi</i>												
A	0,000	0,050	0,125	0,100	0,077	0,100	0,279	0,375	0,150	0,058	0,000	0,040
B	0,619	0,125	0,625	0,100	0,212	0,300	0,441	0,625	0,200	0,192	0,063	0,260
C	0,190	0,400	0,125	0,550	0,096	0,600	0,279	0,000	0,112	0,404	0,271	0,400
D	0,119	0,250	0,125	0,100	0,173	0,000	0,000	0,000	0,363	0,308	0,500	0,300
E	0,071	0,175	0,000	0,150	0,442	0,000	0,000	0,000	0,175	0,038	0,167	0,000
N	21	20	16	10	26	5	34	4	40	26	24	25

Tabela VII. Tamanho médio de amostra, número médio de alelos por *locus* e heterozigosidades médias observadas e esperadas das unidades amostrais de *Iphigenia brasiliensis* do Atlântico Tropical Sudoeste (Desvios-padrão entre parêntesis). Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.

Unidades Amostrais	Tamanho médio de amostra	Nº médio de alelos por <i>locus</i>	Porcentagem de <i>loci</i> polimórficos*	Heterozigosidade média	
				Observada	Esperada**
ROC 2015	21,30 ($\pm 3,90$)	2,80 ($\pm 0,30$)	100,00	0,553 ($\pm 0,100$)	0,565 ($\pm 0,072$)
ROC 2017	22,40 ($\pm 1,30$)	3,40 ($\pm 0,30$)	100,00	0,602 ($\pm 0,570$)	0,635 ($\pm 0,025$)
ROM 2015	19,50 ($\pm 3,20$)	3,00 ($\pm 0,20$)	100,00	0,441 ($\pm 0,038$)	0,547 ($\pm 0,025$)
ROM 2017	13,30 ($\pm 0,80$)	3,30 ($\pm 0,30$)	100,00	0,659 ($\pm 0,107$)	0,623 ($\pm 0,021$)
NITC 2016	32,60 ($\pm 1,70$)	3,30 ($\pm 0,30$)	100,00	0,569 ($\pm 0,51$)	0,630 ($\pm 0,023$)
NITC 2018	10,10 ($\pm 2,30$)	2,80 ($\pm 0,30$)	100,00	0,493 ($\pm 0,069$)	0,549 ($\pm 0,022$)
NITM 2016	23,40 ($\pm 3,30$)	3,30 ($\pm 0,20$)	100,00	0,547 ($\pm 0,049$)	0,609 ($\pm 0,027$)
NITM 2018	7,80 ($\pm 1,80$)	2,80 ($\pm 0,30$)	100,00	0,675 ($\pm 0,116$)	0,590 ($\pm 0,098$)
PAC 2017	45,00 ($\pm 3,90$)	3,50 ($\pm 0,30$)	100,00	0,562 ($\pm 0,064$)	0,627 ($\pm 0,039$)
PAC 2018	29,00 ($\pm 3,60$)	3,00 ($\pm 0,30$)	100,00	0,482 ($\pm 0,097$)	0,482 ($\pm 0,082$)
PAM 2017	28,50 ($\pm 2,20$)	3,10 ($\pm 0,10$)	100,00	0,624 ($\pm 0,085$)	0,623 ($\pm 0,021$)
PAM 2018	28,60 ($\pm 4,20$)	3,00 ($\pm 0,30$)	87,50	0,487 ($\pm 0,099$)	0,541 ($\pm 0,080$)
Média para todas as pops	23,40	3,10	98,90	0,557	0,585

* Um *locus* foi considerado polimórfico quando mais de um alelo foi detectado

** Estimativa não-viciada (Nei 1978)

Tabela VIII. Probabilidades (P) de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Ho: união de gametas ao acaso). Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.

Unidades Amostrais	Locus							
	α -Est-1	α -Est-2	Lap-2	Mdh	Me-1	Me-2	Pgd	Pgi
ROC 2015	0,0198	0,0752	0,5381	0,2863	0,2153	0,1707	-	0,0040
ROC 2017	0,0874	0,0009	0,2000	0,4973	0,3540	0,1298	0,0070	0,0043
ROM 2015	0,2501	0,0020	0,2514	0,0001*	0,1905	0,2867	-	0,0310
ROM 2017	0,0466	0,1256	0,2455	0,2453	0,0096	0,6623	0,0000*	0,8740
NITC 2016	0,6765	0,0054	0,0013	0,6012	0,0020	0,0093	0,0174	0,0000*
NITC 2018	0,7203	0,8228	0,1108	1,0000	1,0000	-	0,0401	0,0476
NITM 2016	0,0750	1,0000	0,5755	0,1517	0,0072	0,5497	0,1224	0,7559
NITM 2018	0,5503	1,0000	0,1418	1,0000	1,0000	-	0,3363	1,0000
PAC 2017	0,2274	0,0000*	0,0000*	0,0148	0,2410	0,2496	0,0145	0,0068
PAC 2018	0,5339	0,0133	0,0218	0,0474	0,1728	1,0000	0,0599	0,0756
PAM 2017	0,2963	0,0000*	0,0000*	0,0194	0,2421	0,0569	0,6877	0,2319
PAM 2018	0,1406	-	0,0035	0,6762	0,0084	0,5229	0,8015	0,2098

*Significativo após correção de Bonferroni ($\alpha = 0,0005$)

Tabela IX. Índices de endocruzamento de Weir & Cockerham (1984) com os intervalos de confiança para as médias por *Jackknife* e *Bootstrap*.

Locus	f	Θ	F
α -Est-1	-0,095 ^{*1}	0,019 ^{*1}	-0,074 ^{*1}
α -Est-2	-0,375 ^{ns}	0,156 ^{*1}	-0,160 ^{ns}
Lap-2	0,400 ^{ns}	0,034 ^{*1}	0,420 ^{ns}
Mdh	-0,051 ^{ns}	0,037 ^{ns}	-0,012 ^{ns}
Me-1	0,072 ^{ns}	0,041 ^{ns}	0,072 ^{ns}
Me-2	0,209 ^{ns}	0,028 ^{*1}	0,231 ^{*1}
Pgd	0,294 ^{*1}	0,013 ^{*1}	0,303 ^{*1}
Pgi	0,073 ^{ns}	0,122 ^{*1}	0,186 ^{*1}
Todos	0,077 ^{ns}	0,054 ^{ns}	0,127 ^{ns}
Intervalo de confiança todos os loci calculado por <i>Jackknife</i> (95%)			
	[0,070; 0,078]	[0,018; 0,054]	[0,062; 0,127]
Intervalo de confiança todos os loci calculado por <i>Bootstrap</i> (95%)			
	[-0,060; 0,207]	[0,026; 0,090]	[0,010; 0,240]
Intervalo de confiança todos os loci calculado por <i>Bootstrap</i> (99%)			
	[-0,107; 0,247]	[0,022; 0,100]	[-0,028; 0,273]

ns = não significativo

*1 = Significativo por *Jackknife*

*2 = Significativo por *Bootstrap*

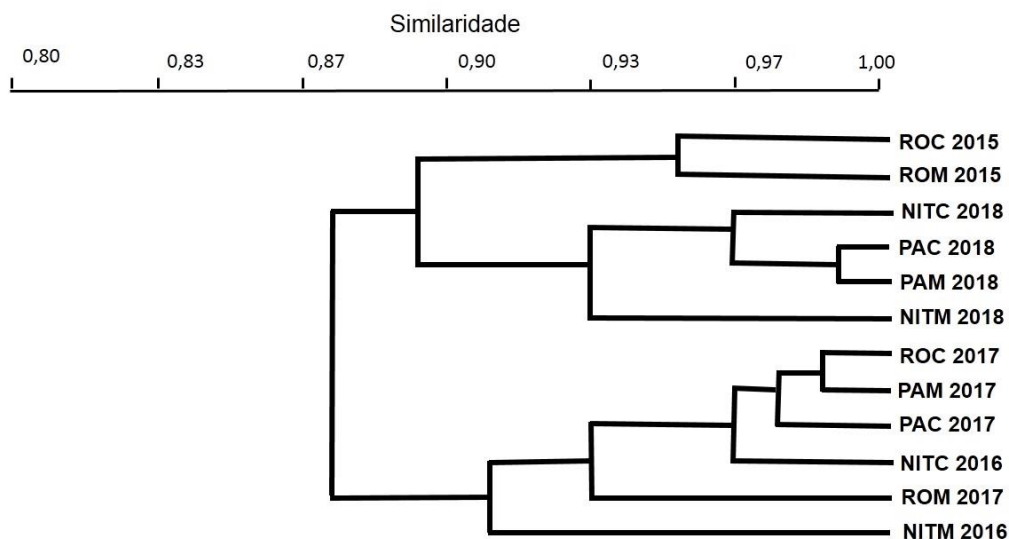


Figura 6. Dendrograma de UPGMA de Identities Genéticas entre as unidades amostrais. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.

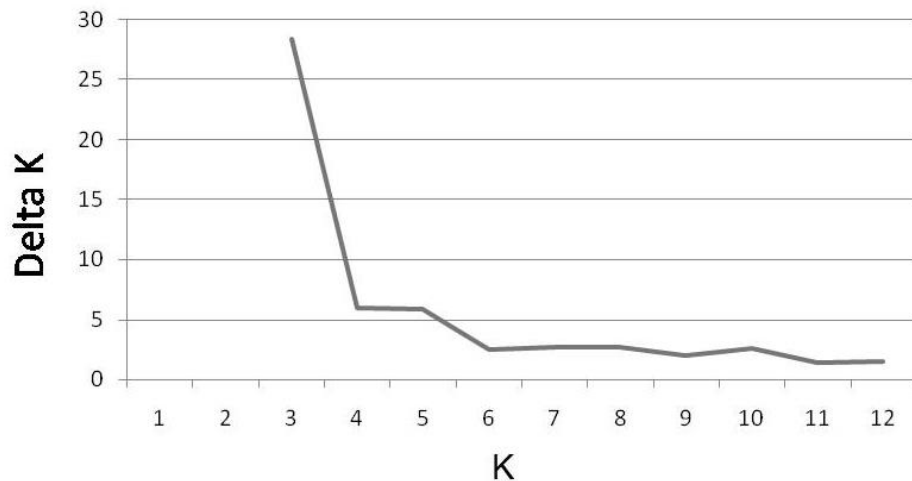


Figura 7. Valores de Delta K em relação ao número de populações (K) testadas obtidos no programa STRUCTURE através da Análise Bayesiana, onde o maior valor de Delta K refere-se ao número de populações mais provável.

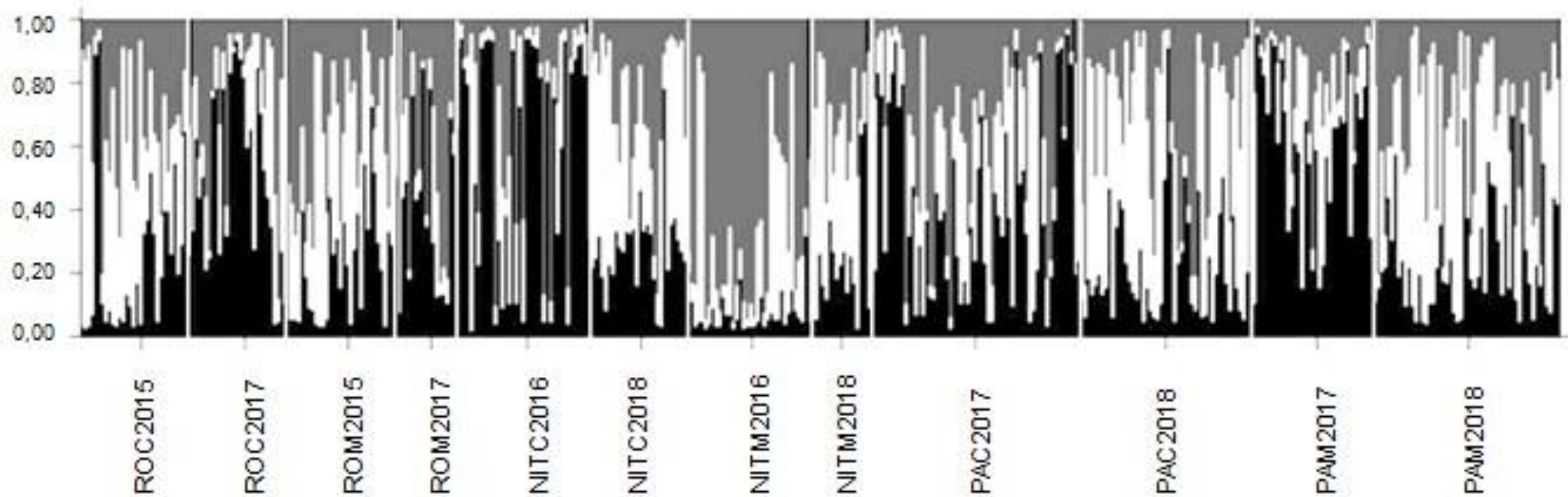


Figura 8. Gráfico obtido no programa STRUCTURE através da Análise Bayesiana, demonstrando as estruturas genéticas entre as doze unidades amostrais coletadas das populações de *Iphigenia brasiliensis* formando três grupos. O gráfico apresenta a qual grupo os indivíduos de cada unidade amostral estão mais presentes. A maioria dos indivíduos de ROC 2017, NITC 2016, PAC 2017 e PAM 2017 estão presente no Grupo 1 (■); a maioria dos indivíduos de ROM 2017 e NITM 2016 estão presente no Grupo 2 (□); e a maioria dos indivíduos de ROC 2015, ROM 2015, NITC 2018, NITM 2018, PAC 2018 e PAM 2018 estão presente no Grupo 3 (■). Legenda com as abreviações das unidades populacionais estão na Tabela VI.

4.2. Morfometria Tradicional

O PCA das medidas lineares das valvas de *I. brasiliensis* indicaram uma discriminação na forma entre as doze unidades amostrais. Os dois primeiros Componentes Principais (PC) explicaram 66,30% da variação total. O Componente Principal 1 (PC1) recuperou 47,53% da variação e o Componente Principal 2 (PC2) recuperou 18,80%. Além disso, o PC1 apresentou uma alta correlação com as medidas do comprimento do músculo adutor anterior (*Aam*) e com a altura da valva (*Hei*) com correlações de 0,96 e 0,95 respectivamente, e o PC2 apresentou uma alta correlação com a medida da distância do músculo adutor anterior à margem anterior (*Aamx*) apresentando uma correlação de 0,95. O gráfico de dispersão construído com os dados fornecidos pelo PCA, apresentado na Figura 9, indica que as 12 unidades amostrais formaram sete agrupamentos: (1) pelas unidades amostrais de Rio das Ostras dos ambientes de canal e de manguezal do ano de 2015 (ROC 2015 e ROM 2015), Rio das Ostras ambiente de canal do ano de 2017 (ROC 2017) e Niterói do ambiente de canal do ano de 2016 (NITC 2016); (2) pelas unidades amostrais de Paraty dos ambientes de canal e de manguezal do ano de 2018 (PAC 2018 e PAM 2018) e Paraty do ambiente de manguezal do ano de 2017 (PAM 2017); (3) por Niterói do ambiente de canal do ano de 2018 (NITC 2018); (4) por Rio das Ostras ambiente de manguezal do ano de 2017 (ROM 2017); (5) por Paraty do ambiente de canal do ano de 2017 (PAC 2017); (6) por Niterói do ambiente de manguezal do ano de 2016 (NITM 2016); e (7) por Niterói do ambiente de manguezal do ano de 2018 (NITM 2018).

A Análise Discriminante evidenciou que as unidades amostrais podem ser totalmente identificadas (100% de discriminação) com base na variação de suas 13 medidas lineares, a exceção da unidade amostral de Paraty do ambiente de canal do ano de 2017 (PAC 2017) com 96,7% de discriminação. A Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA) indicou, após a correção de Bonferroni, que a forma da valva variou significativamente entre todas as unidades amostrais nos diferentes ambientes, tempos e locais ($p < 0,0001$). O Dendrograma de UPGMA (Figura 9) indica a unidade amostral de Niterói do ambiente de manguezal do ano de 2018 (NITM 2018) isolada das demais. A influência da dimensão temporal (ou das outras dimensões) não

ficou evidente nos dados obtidos através das medidas lineares das valvas de *I. brasiliensis*.

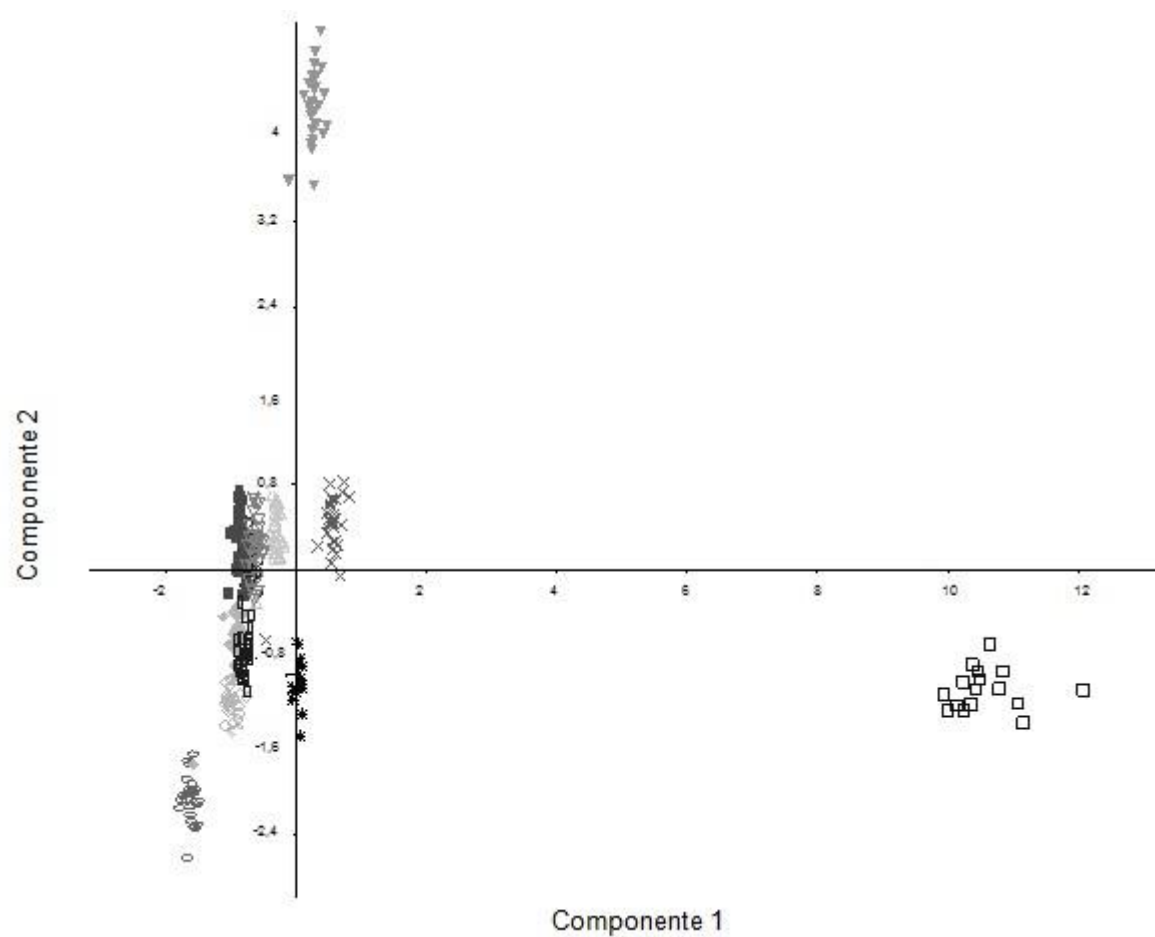


Figura 9. Gráfico de dispersão das 12 unidades amostrais *Iphigenia brasiliensis* em função dos dois primeiros componentes principais utilizando as 13 medidas lineares. Legenda dos símbolos: ○ROC2015; ■ROC2017; ▲ROM2015; ✱ROM2017; ▼NITC2016; ◇NITC2018; ▒NITM2016; □NITM2018; ✕PAC2017; ◊PAC2018; ◄PAM2017; ■PAM2018. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.

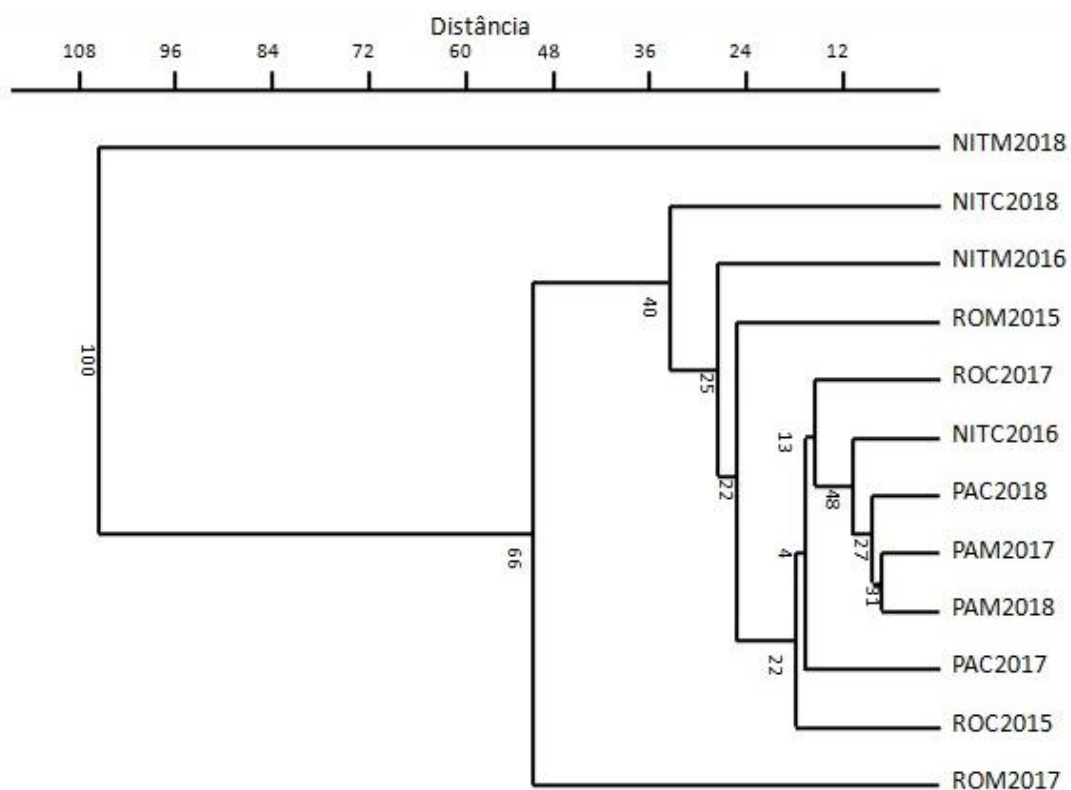


Figura 10. Dendrograma de UPGMA gerado a partir das Distâncias Euclidianas das 12 unidades amostrais de *Iphigenia brasiliensis* analisadas através de 13 medidas lineares. Os valores nos ramos indicam o suporte associado a cada um desses agrupamentos. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.

4.3. Morfometria Geométrica

Na Análise dos Componentes Principais dos dezoito coeficientes de Fourier, os dois primeiros componentes principais explicaram 92,7% da variação total. O PC1 recuperou 80,8% da variação e o PC2 recuperou 11,9%. Na Figura 10, o gráfico de dispersão, construído com os dados fornecidos pelo PCA, indicou a separação da unidade amostral de Niterói do ambiente de manguezal do ano de 2016 (NITM 2016) das demais unidades amostrais.

A Análise Discriminante evidenciou que as unidades amostrais podem ser consistentemente identificadas com base na variação dos dezoito coeficientes de Fourier (Tabela X), o que é confirmado pela PERMANOVA que apresentou resultados significativos para quase todas as unidades amostrais (Tabela XI). O Dendrograma de UPGMA apresentou uma separação da unidade amostral de Niterói ambiente de manguezal do ano de 2018 (NITM 2018) das demais unidades amostrais (Figura 11).

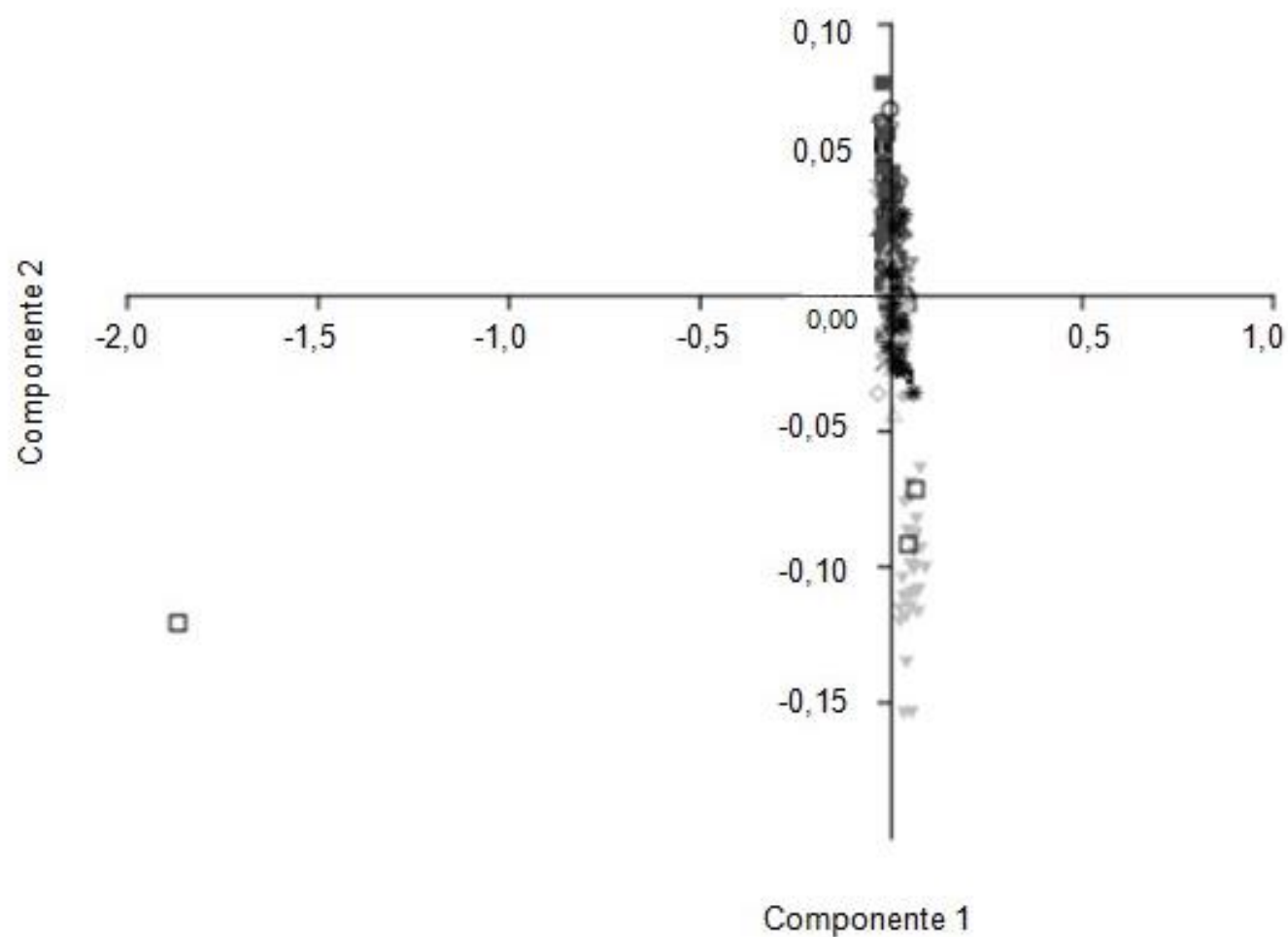


Figura 11. Gráfico de dispersão das 12 unidades amostrais *Iphigenia brasiliensis* em função dos dois primeiros componentes principais utilizando os 19 Coeficientes de Fourier. A legenda dos símbolos está na Figura 6. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela II.

Tabela XI. Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA) entre as doze unidades amostrais de *Iphigenia brasiliensis* utilizando os dezenove coeficientes de Fourier. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.

Unidades Amostrais	NITC 2016	NITC 2018	NITM 2016	NITM 2018	PAC 2017	PAC 2018	PAM 2017	PAM 2018	ROC 2015	ROC 2017	ROM 2015	ROM 2017
NITC2016	*****	0,1122	0,0066*	1,0000	1,0000	0,1650	1,0000	1,0000	0,0066*	0,0462*	0,0066*	0,7986
NITC2018	0,1122	*****	0,0066*	1,0000	0,0198*	0,0792	0,0066*	0,0396*	1,0000	0,8250	0,0066*	0,0066*
NITM2016	0,0066*	0,0066*	*****	0,0066*	0,0066*	0,0066*	0,0066*	0,0066*	0,0066*	0,0066*	0,0066*	0,0066*
NITM2018	1,0000	1,0000	0,0066*	*****	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
PAC2017	1,0000	0,0198*	0,0066*	1,0000	*****	1,0000	1,0000	1,0000	0,0066*	0,9372	0,0066*	0,0066*
PAC2018	0,1650	0,0792	0,0066*	1,0000	1,0000	*****	0,7524	0,9042	0,0528	1,0000	0,0066*	0,0066*
PAM2017	1,0000	0,0066*	0,0066*	1,0000	1,0000	0,7524	*****	1,0000	0,0066*	0,0132*	0,0132*	0,1848
PAM2018	1,0000	0,0396*	0,0066*	1,0000	1,0000	0,9042	1,0000	*****	0,0066*	0,0396*	0,0066*	0,0330*
ROC2015	0,0066*	1,0000	0,0066*	1,0000	0,0066*	0,0528	0,0066*	0,0066*	*****	1,0000	0,0066*	0,0066*
ROC2017	0,0462*	0,8250	0,0066*	1,0000	0,9372	1,0000	0,0132*	0,0396*	1,0000	*****	0,0066*	0,0066*
ROM2015	0,0066*	0,0066*	0,0066*	1,0000	0,0066*	0,0066*	0,0132*	0,0066*	0,0066*	0,0066*	*****	1,0000
ROM2017	0,7986	0,0066*	0,0066*	1,0000	0,0066*	0,0066*	0,1848	0,033*	0,0066*	0,0066*	1,0000	*****

*Significativo após a correção de Bonferroni

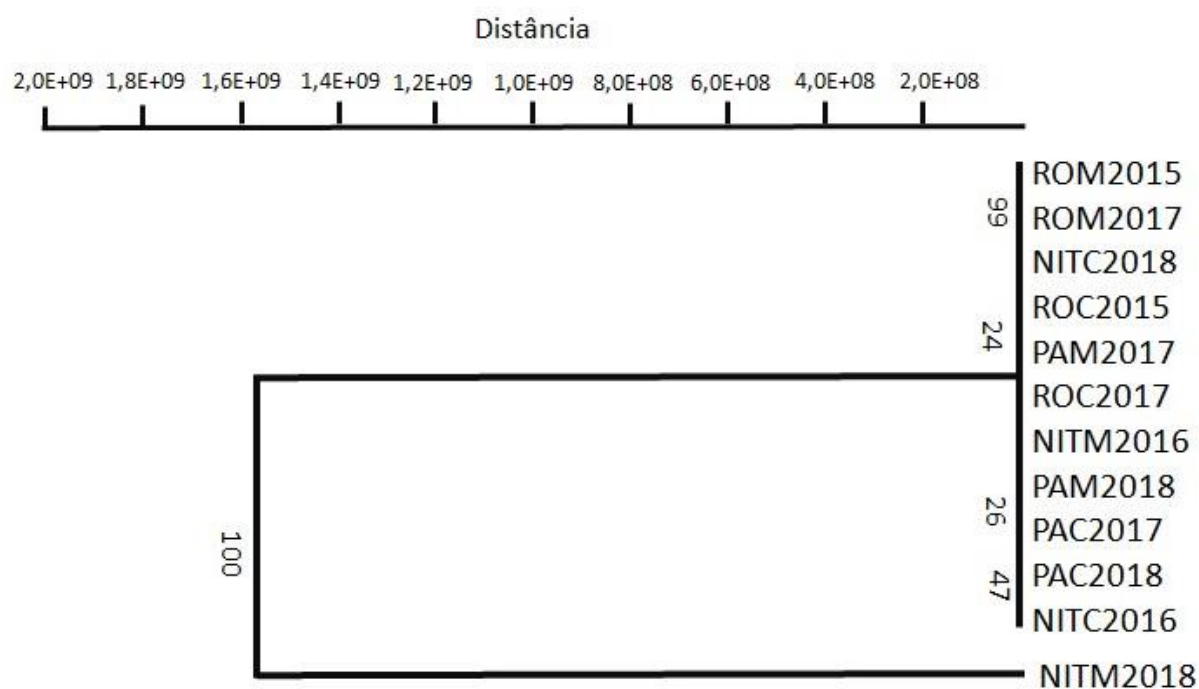


Figura 12. Dendrograma de UPGMA gerado a partir das Distâncias Euclidianas das 12 unidades amostrais de *Iphigenia brasiliensis* analisadas através de 19 coeficientes de Fourier. Os valores nos ramos indicam o suporte associado a cada um desses agrupamentos. Legenda com as abreviações das unidades amostrais estão na Tabela VI.

5. DISCUSSÃO

5.1. Variação Gênica

A variação gênica observada para a espécie *Iphigenia brasiliensis* nas unidades amostrais se mostrou elevada (H_o entre 0,441 a 0,675), contudo, similar ao que foi encontrado para *I. brasiliensis* no trabalho de Bonner e colaboradores (2019).

Com relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, sete *loci* violaram a hipótese nula de união aleatória de gametas, sendo que seis deles no sentido de um déficit de heterozigotos. A deficiência de heterozigotos é comumente relatada em pesquisas com bivalves (Laudien *et al.* 2003; Rajaei *et al.* 2014; Zhao *et al.* 2009) e sua explicação relacionada a endogamia (Bierne *et al.* 1998), seleção natural (Bonner *et al.* 2019), alelos nulos (Zhao *et al.* 2009) e efeito Wahlund (Hare *et al.* 1996). No presente estudo, o efeito Wahlund e a endogamia não parecem boas explicações, uma vez que produziriam efeitos em todos os *loci* (Zhao *et al.* 2009), o que não foi observado. Além disso, os resultados dos índices de endocruzamento (f) não foram estatisticamente significativos. As hipóteses de alelos nulos e seleção natural, no entanto, não podem ser descartadas, devido ao desenho amostral utilizado neste trabalho não permitir testes específicos para isso.

Excessos de heterozigotos não são comumente observados em bivalves, no entanto, foram observados anteriormente no trabalho do Bonner e colaboradores (2019) para o mesmo *loci* (alfa-Est-2) para indivíduos também coletados em Paraty nos ambientes de canal e mangue. O fenômeno já foi observado, também, para outros bivalves como no trabalho de Chetoui e colaboradores (2012) com a espécie *Macra corallina* e no trabalho de Hmida e colaboradores (2012) a espécie *Solen marginatus*. Nos casos descritos, as causas associadas ao excesso de heterozigotos foram a ação da seleção natural em ambiente variáveis (Bonner *et al.* 2019) ou contra a homozigose (Hmida *et al.* 2012) e uma alta taxa de migração e dispersão das larvas planctônicas (Chetoui *et al.* 2012). No presente trabalho, os excessos foram observados em 2017 para a unidade amostral de Paraty nos dois ambientes, mas não foi observado em 2018, não se podendo descartar como causa a ação

da seleção natural sob o *loci* ou variações na migração, dispersão e recrutamento das larvas.

Em organismos estuarinos espera-se encontrar estruturação geográfica entre as populações devido ao fato de que, no processo de dispersão de um estuário para outro, a migração pode não se efetivar por conta dos grandes segmentos de mar aberto entre os diferentes estuários (Calazans *et al.* 2017) e, além disso, as grandes variações de temperatura e salinidade a que as larvas são expostas no seu percurso migratório (Braby & Somero 2006). Mais ainda, devido aos estuários serem ambientes formados por habitats com diferentes níveis de salinidade, substratos etc. (Peterson 2003), as larvas imigrantes também encontram barreiras que influenciam no seu assentamento e sobrevivência nos diferentes habitats estuarinos (Christensen & Pyne 2020).

Dentre os habitats estuarinos estudados, o canal é o que apresenta níveis de salinidade maiores (devido a sua proximidade com o oceano) e substrato arenoso, diferente dos manguezais em que o substrato é lodoso e os níveis de salinidade são menores quando comparado com o canal. Espécies presentes nestes habitats, como *Iphigenia brasiliensis*, estão sempre sujeitas a variações tanto ambientais quanto temporais de temperatura, salinidade, nutrientes etc., o que pode ter um efeito sobre os padrões de variação gênica (Lee & Boulding 2009; Sgrò & Hoffmann 2004). Porém, os resultados não indicaram estruturação entre as unidades amostrais e influencia estatisticamente significativa das dimensões geográfica e ambiental estudadas na variação gênica. Contudo, embora não estatisticamente significativos, foram observados indícios de uma pequena influencia temporal nos resultados.

Analises espaço-temporais com outras espécies de bivalves já indicaram influência da dimensão temporal na estrutura de populações (Arnaud & Laval 2004; Lee & Boulding 2009). A explicação para esse fato se funda no padrão diferenciado de recrutamento que indivíduos de populações de regiões geográficas diferentes podem apresentar ao longo dos anos (Lee & Boulding 2009) ou variações no sucesso reprodutivo entre coortes (Vera *et al.* 2016). Porém, como o período de tempo estudado neste trabalho foi muito curto (dois anos), ele, provavelmente, não foi capaz de produzir mudanças genéticas que fossem estatisticamente significativas. Desse modo, a influência de mudanças

nos padrões de fluxo gênico (Wade & McCauley 1988) entre as unidades amostrais trabalhadas não podem ser negligenciadas, podendo ser o resultado de oscilações nos eventos de extinção e recolonização ao longo dos anos, o que caracteriza uma estrutura de metapopulações.

A dinâmica de metapopulações já foi descrita para bivalves como *Cerastoderma edule* no trabalho de Genelt-Yanovskiy e colaboradores (2018) e *Mytilus galloprovincialis* no trabalho de Gardner e Westfall (2012). As metapopulações podem ser definidas como uma rede formada por populações estruturadas em agrupamentos sob forte influência da dinâmica local de migração, tendo como principais processos a extinção e recolonização (Baguette *et al.* 2017; Hanski 1997). Oscilações nos processos de extinção e recolonização podem ser determinadas por fatores geográficos, ambientais e temporais que afetam a dispersão, o recrutamento e a reprodução dos organismos ao longo do tempo (Figuerola-Fábrega *et al.* 2018). Segundo Hanski (1997) uma metapopulação precisa satisfazer quatro condições: (1) o habitat considerado adequado deve ocorrer em manchas discretas e ser ocupado por populações locais que se reproduzam; (2) mesmo a maior população deve ter risco de extinção significativo; (3) as manchas de habitat não devem estar isoladas ao ponto de impedir a recolonização; (4) as populações locais não podem ter dinâmicas completamente sincronizadas.

Barreiras naturais ou a fragmentação do habitat causado, por exemplo, pelas atividades antropogênicas, podem determinar a fragmentação do habitat e a organização das populações em manchas (Collingham & Huntley 2000). Nos estuários, as barreiras naturais são formadas por diversos fatores como gradientes de salinidade e por diferentes substratos ao longo da sua extensão. Ações antropogênicas como a poluição orgânica e urbanização podem, também, causar a fragmentação no habitat (Quintino *et al.* 2009; Stocken *et al.* 2019) influenciando na conectividade entre as populações dos organismos estuarinos (Peacock & Smith 1997; Thrush *et al.* 2008). Todas estas condições são comuns nos estuários nos quais *I. brasiliensis* foi estudada para este trabalho satisfazendo, portanto, as condições 1 e 3. Contudo, os resultados não indicaram limitações de conectividade entre as unidades amostrais.

Impactos nos tamanhos de população de bivalves comercialmente importantes devido à sobre-exploração tem sido descritas na literatura para espécies de bivalves explorados comercialmente (Bhattacharya & Sarkar 2003; Blaber *et al.* 2000; Coleman & Williams 2002) como é o caso da espécie *Iphigenia brasiliensis* (Teixeira & Campos 2019). A exploração comercial de espécies de bivalves é sazonal e pode ser muito intensa em determinadas épocas do ano, devido ao tempo de maturação e crescimento (Hausmann & Meredith-Williams 2017; Katsanevakis *et al.* 2008). Além disso, dos três estuários estudados, aquele da Lagoa de Itaipu tem registros de forte influência antropogênica nas suas condições ambientais (Cerdeira *et al.* 2017; Laut *et al.* 2016) o que pode estar determinando uma fragmentação ambiental com consequente redução dos tamanhos de população satisfazendo, assim, a condições necessárias para se postular uma estrutura de metapopulações.

A dinâmica entre as subpopulações de uma metapopulação apresentam variações ao longo tempo devido a diversos fatores (barreiras naturais, mudanças ambientais, influências antropogênicas, entre outros) que podem afetar a migração entre elas ou determinar eventos de extinção de subpopulações locais (Figueroa-Fábrega *et al.* 2018). Desta forma, uma vez que a *I. brasiliensis* esta sob as mais diversas condições ambientais nos estuários, a dinâmica entre as unidades amostrais podem apresentar alterações ao longo tempo, estando assim sujeitas, assim, a condição quatro também.

Em síntese, os indícios de influencia temporal na estruturação dos padrões de variação gênica de *I. brasiliensis* podem estar indicando oscilações na dinâmica entre as unidades amostrais que refletem a ação de barreiras naturais (como gradientes de temperatura e salinidade) que interferem nos processos de dispersão e colonização (Hanski 1997) e, também, oscilações temporais nos tamanhos de população sob forte influência antropogênica determinando um regime de extinção e recolonização ao longo do tempo. Neste sentido, embora não significativo estatisticamente, é possível que os indícios de influência temporal na estruturação de *I. brasiliensis* indiquem uma possível organização em metapopulações da espécie nos locais, ambientes e tempos estudados.

5.2. Variação Morfológica

A morfometria tradicional apresentou diferenças significativas entre todas as unidades amostrais, contudo, foi incapaz de definir quais das dimensões analisadas estavam definindo estas diferenças. As variações morfológicas nos bivalves são, geralmente, associadas à seleção natural, isolamento geográfico, deriva gênica ou plasticidade fenotípica (Fassatoui *et al.* 2014). Porém, os dados genéticos não apresentaram resultados significativos entre as unidades amostrais, o que não indica a possibilidade de seleção natural, deriva gênica e isolamento geográfico como prováveis explicações. Desta forma, a explicação mais plausível é a plasticidade fenotípica, que se dá pela expressão de diversos fenótipos a partir da interação de um único genótipo com as condições ambientais locais (Agrawal 2001; Pimpinelli & Piacentini 2020; Thompson 1991). Assim, as diferentes variáveis ambientais, gradientes latitudinais e variação temporal podem ter tido um efeito sobre a forma das valvas. Em contrapartida, os resultados de morfometria geométrica mostraram indícios de influência temporal na forma das valvas de *Iphigenia brasiliensis*.

A morfometria geométrica detecta variações sutis na forma que muitas vezes não são passíveis de detecção pela morfometria tradicional (Adams & Otárola-Castillo 2013; Mitteroecker & Gunz, 2009; Zelditch *et al.* 2012). Em alguns estudos com bivalves, como em Willsie e colaboradores (2020), procurando determinar se as análises morfométricas poderiam ser usadas para distinguir de forma confiável as espécies *Fusconaia flava* e *Pleurobema sintoxia* (que são espécies semelhantes no formato de concha e coloração, resultando em muitos erros de identificação), observaram que a morfometria tradicional em comparação com a morfometria geométrica, foi menos útil na detecção de diferenças entre as duas espécies. Da mesma forma, Morán e colaboradores (2018) foram capazes de identificar variações na forma das valvas do bivalve da espécie *Ameghinomya antiqua* entre o Holoceno e o presente usando a morfometria geométrica. Neste caso, o estudo da forma das valvas desta espécie foi utilizado para reconstruções paleoambientais e os autores indicaram que as diferenças encontradas poderiam estar associadas a diferenciações nos ambientes ao longo do tempo como ações das ondas,

influências das marés, variações na temperatura e/ou substrato na superfície do mar, que tem efeito importante na forma e tamanho das conchas desta espécie.

Os indícios de influência temporal na forma das valvas de *Iphigenia brasiliensis* indicados pela morfometria geométrica coincidem com aquilo que foi observado com relação à variação gênica. Associações entre variação gênica e morfológica já foram relatadas anteriormente para bivalves (Zhao *et al.* 2009; Zieritz *et al.* 2010; Rajaei *et al.* 2014), porém, não em simultaneidade relativos a influências temporais (Paolucci *et al.* 2014). Variações nas conchas podem estar relacionadas à plasticidade fenotípica, variabilidade genética ou uma combinação de ambas. No trabalho de Rajaei e colaboradores (2014) análises da morfometria geométrica e da variação gênica encontraram diferenças significativas entre duas populações da espécie *Pinctada radiata* de locais distintos que os autores indicaram que poderiam estar sendo determinadas pelas condições estressantes dos ambientes. Além disso, também foram encontradas associações significativas entre as variações gênica e morfológicas entre populações da espécie *Coelomactra antiquata* no trabalho de Kong e colaboradores (2007) e populações da espécie *Cyclina sinensis* no trabalho de Zhao e colaboradores (2009) que apresentaram altas diferenciações entre as populações coletadas em diferentes locais ao longo da costa da China, indicando, segundo os autores, o efeito de possíveis barreiras físicas sobre o fluxo gênico.

No presente trabalho as evidências são de simultaneidade do efeito temporal sobre a variação gênica e morfológica. Efeitos desta ordem podem ser explicados por influências sazonais dos ambientes que podem agir sobre os genótipos gerando uma diversidade de fenótipos ao longo do tempo (Ghalambor *et al.* 2007). Além disso, influências temporais sob as taxas migratórias entre as unidades amostrais também podem causar variações fenotípicas, pois de acordo com o modelo proposto por Sultan & Spencer (2002), taxas de migração de moderada a alta entre subpopulações de uma metapopulação pode promover a plasticidade fenotípica, contribuindo para a diferença de padrões morfológicos entre subpopulações ao longo do tempo. Diante da heterogeneidade dos ambientes estuarinos em que a espécie *I.*

brasiliensis habita e a falta de estruturação entre as unidades amostrais, estas possibilidades tornam-se explicações plausíveis para os resultados aqui obtidos.

6. CONCLUSÃO

Os resultados indicaram que variação gênica pode estar oscilando no tempo. Apesar de não significativo, estes resultados são reforçados pelas evidências de que influência semelhante pode estar ocorrendo sobre a variação morfológica das valvas inferida pela morfometria geométrica. O fato dos resultados genéticos não serem estatisticamente significativos pode estar relacionado ao curto período de tempo analisado, ou seja, a influência da dimensão temporal pode ser maior do que foi possível inferir pelos resultados obtidos. Desta forma, seria interessante que estudos de acompanhamento temporal mais prolongado sejam mantidos com a espécie *I. brasiliensis* nestes mesmos locais, para que se possa compreender melhor a dinâmica em ação. Os dados apresentados, contudo, são os primeiros sobre variação morfológica e genética da espécie nas dimensões latitudinal, ambiental e temporal simultaneamente representando, portanto, informações relevantes para a exploração, manejo e conservação dessa espécie comercialmente importante.

7. REFERÊNCIAS

- Adams DC & Otárola-Castillo E (2013) Geomorph: An R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods in Ecology and Evolution*, 4:393-399.
- Adams DC, Rohlf FJ & Slice DE (2004) Geometric morphometrics: Ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, 71(1):5-16.
- Agrawal AA (2001) Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*, 294:321-326.
- Arnaud J-F & Laval G (2004) Stability of genetic structure and effective population size inferred from temporal changes of microsatellite DNA polymorphisms in the land snail *Helix aspersa* (Gastropoda: Helicidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 82:89-102.
- Arruda CCB, Beasley CR, Vallinoto M, Marques-Silva NDS & Tagliaro CH (2009) Significant genetic differentiation among populations of *Anomalocardia brasiliensis* (Gmelin, 1791): A bivalve with planktonic larval dispersion. *Genetics and Molecular Biology*, 32(2):423-430.
- Arunkumar AN, Warriar RR, Shanthi A & Joshi G (2018) Aozyme variations to measure genetic diversity in clonal accessions of Indian sandalwood (*Santalum album*). *International Journal of Forestry and Horticulture*, 4(1):1-8.
- Auld JR, Agrawal AA & Relyea RA (2010) Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277:503-511.
- Baguette M, Michniewicz R & Stevens VM (2017) From genes to metapopulations. *Nature Ecology and Evolution*, 1:0130.
- Barton NH & Charlesworth B (1984) Genetic revolutions, founder effects, and speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 15:133-164.
- Bazin P, Jouenne F, Friedl T, Deton-Cabanillas AF, Le Roy B & Véron B (2014) Phytoplankton diversity and community composition along the estuarine gradient of a temperate macrotidal ecosystem: Combined morphological and molecular approaches. *PloS One*, 9(4):e94110

- Begum S, Brey T & Held C (2018) Lack of association between genetical and morphological variations for bivalve *Arctica islandica* from six different sites of the NE Atlantic Ocean. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 212:34-39.
- Behjati S & Tarpey PS (2013) What is next generation sequencing?. *Archives of Disease in Childhood-Education and Practice*, 98:236-238.
- Bernstein SC, Throckmorton LH & Hubby JL (1973) Still more genetic variability in natural populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12):3928-3931.
- Bhattacharya A & Sarkar SK (2003) Impact of overexploitation of shellfish: Northeastern coast of India. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 32(1):70-75.
- Bierne N, Launey S, Naciri-Graven Y & Bonhomme F (1998) Early effect of inbreeding as revealed by microsatellite analyses on *Ostrea edulis* larvae. *Genetics*, 148:1893-1906.
- Bitner-Mathé BC, Peixoto AA & Klaczko LB (1995) Morphological variation in a natural population of *Drosophila mediopunctata*: Altitudinal cline, temporal changes and influence of chromosome inversions. *Heredity*, 75:54-61.
- Blaber SJM, Cyrus DP, Albaret J-J, Ching CV, Day JW, Elliott M, Fonseca MS, Hoss DE, Orensanz J, Potter IC & Silvert W (2000) Effects of fishing on the structure and functioning of estuarine and nearshore ecosystems. *iCES Journal of Marine Science*, 57:590-602.
- Bonamour S, Chevin LM, Charmantier A & Teplitsky C (2019) Phenotypic plasticity in response to climate change: The importance of cue variation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374 (1768):20180178.
- Bonner A, Ferreira MSN, Duarte MR & Silva EP (2019) Genetic variation and asymmetry in populations of *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck, 1818) from different localities and environments. *Journal of Natural History*, 53(1-2):73-88.

- Braby CE & Somero GN (2006) Following the heart: Temperature and salinity effects on heart rate in native and invasive species of blue mussels (genus *Mytilus*). *The Journal of Experimental Biology*, 209:2554-2566.
- Burnaby TP (1966) Growth-invariant discriminant functions and generalized distances. *Biometrics*, 22(1):96-110.
- Buskirk JV (2009) Natural variation in morphology of larval amphibians: Phenotypic plasticity in nature?. *Ecological Monographs*, 79(4):681-705.
- Calazans SH, Walters LJ, Fernandes FC, Ferreira CEL & Hoffman EA (2017) Genetic structure provides insights into the geographic origins and temporal change in the invasive charru mussel (*Sururu*) in the southeastern United States. *PLoS ONE*, 12(7):e0180619.
- Carson HL & Johnson WE (1975) Genetic variation in Hawaiian *Drosophila* I. Chromosome and allozyme polymorphism in *D. setosimentum* and *D. ochrobasis* from the island of Hawaii. *Evolution*, 29:11-23.
- Cerda M, Nunes-Barboza CD, Scali-Carvalho CN, Andrade-Jandre K & Marques AN (2017) Nutrient budgets in the Piratininga-Itaipu lagoon system (southeastern Brazil): Effects of sea-exchange management. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(2):226-238.
- Ceuta LO, Boehs G & Santos JJB (2010) Hermaphroditism among dioecious *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) (Mollusca, Psammobiidae) and *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck, 1818) (Mollusca, Donacidae) on the Cachoeira River Estuary, Ilhéus, Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 70(1):125-127.
- Chapman PM & Wang F (2001) Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1):3-22.
- Chetoui I, El Cafsi M & Boussaid M (2012) Allozymic and morphological variation in three populations of surf clam *Mactra corallina* (Bivalvia: Mactridae) from Tunisian sandy beaches. *Cahiers de Biologie Marine*, 53:409-417.
- Cheverud JM (1984) Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of Theoretical Biology*, 110:155-171.

- Christensen AB & Pyne MI (2020) The effect of a permanent saltwater barrier on *Rangia cuneata*, an indicator species of brackish conditions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 243:106800.
- Clark AG (2000) Limits to prediction of phenotypes from knowledge of genotypes. In: Clegg MT, Hecht MK, Macintyre RJ (eds) *Evolutionary Biology*. Springer. Boston, p. 205-224.
- Coleman FC & Williams SL (2002) Overexploiting marine ecosystem engineers: potential consequences for biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution*, 17(1):40-44.
- Collingham YC & Huntley B (2000) Impacts of habitat fragmentation and patch size upon migration rates. *Ecological Applications*, 10(1):131-144.
- Corte GN, Coleman RA & Amaral ACZ (2017) Environmental influence on population dynamics of the bivalve *Anomalocardia brasiliiana*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 187:241-248.
- Costa VC, Amorim FAC, Babos DV & Pereira-Filho ER (2019) Direct determination of Ca, K, Mg, Na, P, S, Fe and Zn in bivalve mollusks by wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) and laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). *Food Chemistry*, 273:91-98.
- Crampton JS (1995) Elliptic Fourier shape analysis of fossil bivalves: some practical considerations. *Lethaia*, 28:179-186.
- Cruz DT, Selbach-Schnadelbach A, Lambert SM, Ribeiro PL & Borba EL (2011) Genetic and morphological variability in *Cattleya elongata* Barb. Rodr. (Orchidaceae), endemic to the campo rupestre vegetation in northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 294:87–98.
- Duarte MR, Otegui ACP, Fernandes, FC & Silva EP (2018) High levels of genetic and morphological variability in invasive *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) populations in South America. *Malacologia*, 62(1):171-186.
- Fassatoui C, Jenhani ABR & Romdhane MS (2014) Geographic pattern of shell morphology in the endemic freshwater mussel *Unio ravoisieri* (Bivalvia:

- Unionidae) from northern Tunisia. *Journal of Molluscan Studies*, 1-9.
<https://doi.org/10.1093/mollus/eyu069>.
- Fenderson LE Kovach AI & Llamas B (2020) Spatiotemporal landscape genetics: Investigating ecology and evolution through space and time. *Molecular Ecology*, 29:218-246.
- Fernández-Pérez J, Nantón A, Arias-Pérez A, Insua A & Méndez J (2019) Fifteen novel microsatellite loci, developed using next-generation sequencing, reveal the lack of genetic structure in *Donax vittatus* from Iberian Peninsula. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 217:218-225.
- Ferreira, MSN (2019) Variação na forma das valvas de *Iphigenia brasiliensis* (Mollusca: Donacidae) do Atlântico Tropical Sudoeste: Das populações pré-históricas às atuais. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Biologia Marinha e Ambientes Costeiros. Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- Figuerola-Fábrega L, Bravo-Samaha J, Silva-Haun R & Padilla T (2018) Dinámica metapoblacional, ocupación espacial y migración en bivalvos de importancia comercial: El caso de la almeja *Tawera gayi* (Bivalvia: Veneridae) en el Mar Interior de Chiloé. *Anales del Instituto de la Patagonia*, 46(1):7-21.
- Fins L & Seeb LW (1986) Genetic variation in allozymes of western larch. *Canadian Journal of Forest Research*, 16:1013-1018.
- Freitas LELD, Feitosa CV & Araújo MED (2006) Mangrove oyster (*Crassostrea rhizophorae*) (Guilding, 1928) farming areas as artificial reefs for fish: A case study in the state of Ceará, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 54(1):31-39.
- Gardner JPA & Westfall KM (2012) Geographic distribution and molecular identification of a metapopulation of blue mussels (genus *Mytilus*) in northeastern New Zealand. *Journal of Molluscan Studies*, 78:66-73.
- Genelt-Yanovskiy E, Nazarova S, Tarasov O, Mikhailova N, Strelkov P (2018) Phylogeography of the temperate marine bivalve *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Cardiidae) in the Subarctic: Unique diversity and strong population structuring at different spatial scales. *Journal of*

Zoological Systematics and Evolutionary Research, 1-3.
<https://doi.org/10.1111/jzs.12231>.

Ghalambor CK, McKay JK, Carroll SP & Reznick DN (2007) Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21:394-407.

Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.

Grant PR (2001) Reconstructing the evolution of birds on islands: 100 years of research. *Oikos*, 92:385-403.

Gronau I & Moran S (2007) Optimal implementations of UPGMA and other common clustering algorithms. *Information Processing Letters*, 104(6):205-210.

Gupta AP & Lewontin RC (1982) A study of reaction norms in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Evolution*, 36(5):934-948.

Hammer Ø, Harper DAT & Ryan PD (2001) PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Paleontologia Electronica*, 4(1):1-9.

Hamrick JL, Godt MJW & Sherman-Broyles SL (1992) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, 6:95-124.

Hanski I (1997) Metapopulation dynamics: from concepts and observations to predictive models. In: Hanski, I., Gilpin, M.E. (Eds.), *Metapopulation Biology: Ecology, Genetics, and Evolution*. Academic Press., San Diego, pp. 69-91.

Hare MP, Karl SA & Avise JC (1996) Anonymous nuclear DNA markers in the American oyster and their implications for the heterozygote deficiency phenomenon in marine bivalves. *Molecular Biology and Evolution*, 13(2):334-345.

Harris H & Hopkinson DA (1976) *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North Holland Publishing Company, Amsterdam, 316 p.

- Hausmann N & Meredith-Williams M (2017) Seasonal patterns of coastal exploitation on the Farasan Islands, Saudi Arabia. *The Journal of Island and Coastal Archaeology*, 12(3):360-379.
- Haynes W (2013) Bonferroni correction. In: Dubitzky W, Wolkenhauer O, Cho K-H, Yokota H (eds) *Encyclopedia of Systems Biology*. Springer, New York, p. 154.
- Hmida L, Fassatoui C, Ayed D, Ayache N & Romdhane MS (2012) Genetic characterization of the razor clam *Solen marginatus* (Mollusca: Bivalvia: Solenidae) in Tunisian coasts based on isozyme markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 40:146-155.
- Hubby JL & Lewontin RC (1966) A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54(2):577-594.
- Inoue K, Hayes DM, Harris JL & Christian AD (2013) Phylogenetic and morphometric analyses reveal ecophenotypic plasticity in freshwater mussels *Obovaria jacksoniana* and *Villosa arkansasensis* (Bivalvia: Unionidae). *Ecology and Evolution*, 3(8):2670-2683.
- Jablonka E & Lamb MJ (1989) The inheritance of acquired epigenetic variations. *Journal of Theoretical Biology*, 139:69-83.
- Jablonka E (2012) Epigenetic variations in heredity and evolution. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 92(6):683-688.
- Jormalainen V, Boothroyd JC, Dove A & Shuster SM (2019) A comparison of genetic variation in two endemic thermal spring isopods, *Thermosphaeroma thermophilum* and *T. milleri* (Crustacea-Isopoda: Sphaeromatidae). In: Ghafor IM (ed) *Crustacea*. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.89212. Available from: <https://www.intechopen.com/books/crustacea/a-comparison-of-genetic-variation-in-two-endemic-thermal-spring-isopods-em-thermosphaeroma-thermophi>
- Kanhai LDK, Gobin JF, Beckles DM, Lauckner B & Mohammed A (2014) Metals in sediments and mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from the

- Caroni Swamp, Trinidad. Environmental Monitoring and Assessment, 186:1961-1976.
- Katsanevakis S, Lefkaditou E, Galinou-Mitsoudi S, Koutsoubas D & Zenetos A (2008) Molluscan species of minor commercial interest in Hellenic seas: Distribution, exploitation and conservation status. Mediterranean Marine Science, 9(1):77-118.
- Kefford BJ, Buchwalter D, Canedo-Argüelles M, Davis J, Duncan RP, Hoffmann A & Thompson R (2016) Salinized rivers: Degraded systems or new habitats for salt-tolerant faunas?. Biology Letters, 12:20151072.
- Kight CR & Swaddle JP (2011) How and why environmental noise impacts animals: An integrative, mechanistic review. Ecology letters, 14:1052-1061.
- Kong L, Li Q & Qiu Z (2007) Genetic and morphological differentiation in the clam *Coelomactra antiquata* (Bivalvia: Veneroida) along the coast of China. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 343:110-117.
- Kuzishchin KV, Gruzdeva MA, Pavlov SD, Semenova AV & Pavlov DS (2018) Features of spatial structure of mikizha *Parasalmo mykiss* in the Kol River, Western Kamchatka: On the problem of the population integration in the complex river system. Journal of Ichthyology, 58(5):694-709.
- 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.
- Laut LLM, Martins MVA, Fontana LF, Silva FS, Mendonça-Filho JG, Clemente IMMM, Frontalini F, Raposo D, Belart P & Ballalai J (2016) Ecological status evaluation of Itaipu Lagoon (Niterói) based on biochemical composition of organic matter. Journal of Sedimentary Environments, 1(3):297-315.
- Lauterjung MB, Montagna T, Bernardi AP, Silva JZ, Costa NCF, Steiner F, Mantovani A & Reis MS (2019) Temporal changes in population genetics

of six threatened Brazilian plant species in a fragmented landscape. *Forest Ecology and Management*, 435:144-150.

- Leal DAG, Pereira MA, Franco RMB, Branco N & Neto R (2008) First report of *Cryptosporidium* spp. oocysts in oysters (*Crassostrea rhizophorae*) and cockles (*Tivela mactroides*) in Brazil. *Journal of Water and Health*, 6(4):527-532.
- Lee HJ & Boulding EG (2009) Spatial and temporal population genetic structure of four northeastern Pacific littorinid gastropods: The effect of mode of larval development on variation at one mitochondrial and two nuclear DNA markers. *Molecular Ecology*, 18:2165-2184.
- Lewontin RC & Hubby JL (1966) A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54(2):595-609.
- Lorion J, Buge B, Cruaud C & Samadi S (2010) New insights into diversity and evolution of deep-sea Mytilidae (Mollusca: Bivalvia). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57:71-83.
- Maia AML, Medeiros E & Henry-Silva GG (2018) Distribution and density of the bivalve *Anomalocardia brasiliiana* in the estuarine region of Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 78(1):32-40.
- Marie AD, Lejeusne C, Karapatsiou E, Cuesta JA, Drake P, Macpherson E, Bernatchez L & Rico C (2016) Implications for management and conservation of the population genetic structure of the wedge clam *Donax trunculus* across two biogeographic boundaries. *Scientific Reports*, 6:39152.
- Markow TA (1995) Evolutionary ecology and developmental instability. *Annual Review of Entomology*, 40:105-120.
- Martino RC & Cruz GMD (2004) Proximate composition and fatty acid content of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* along the year seasons. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47(6):955-960.

- McLusky DS (1993) Marine and estuarine gradients-an overview. *Netherland Journal of Aquatic Ecology*, 27(2-4):489-493.
- Mitteroecker P & Gunz P (2009) Advances in geometric morphometrics. *Evolutionary Biology*, 36:235-247.
- Montagna T, Lauterjung MB, Candido-Ribeiro R, Silva JZD, Hoeltgebaum MP, Costa NCFD, Bernardi A & Reis MSD (2018) Spatial genetic structure, population dynamics, and spatial patterns in the distribution of *Ocotea catharinensis* from southern Brazil: Implications for conservation. *Canadian Journal of Forest Research*, 48(5):506-516.
- Morán GA, Martínez JJ, Boretto GM, Gordillo S & Boidi FJ (2018) Shell morphometric variation of *Ameghinomya antiqua* (Mollusca, Bivalvia) during the late quaternary reflects environmental changes in North Patagonia, Argentina. *Quaternary International*, 490:43-49.
- Mouëza M, Gros O & Frenkiel L (1999) Embryonic, larval and postlarval development of the tropical clam, *Anomalocardia brasiliiana* (Bivalvia, Veneridae). *Journal of Molluscan Studies*, 65:73-88.
- Narchi W (1972a) On the biology of *Iphigenia brasiliensis* Lamarck, 1818 (Bivalvia, Donacidae). *Journal of Molluscan Studies*, 40:79-91.
- Narchi W (1972b) Comparative study of the functional morphology of *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) and *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Bivalvia, Veneridae). *Bulletin of Marine Science*, 22(3):643-670.
- Nascimento IA, Pereira SA & Souza RC (1980) Determination of the optimum commercial size for the mangrove oyster (*Crassostrea rhizophorae*) in Todos os Santos Bay, Brazil. *Aquaculture*, 20:1-8.
- Nei M (1972) Genetic distance between populations. *The 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.
- Neto JL, Duarte MR & Silva EP (2019) A genética e o mar. *Revista de Ciência Elementar*, 7(1):015.

- Paolucci EM, Sardiña P, Sylvester F, Perepelizin PV, Zhan A, Ghabooli S, Cristescu ME, Oliveira MD & MacIsaac HJ (2014) Morphological and genetic variability in an alien invasive mussel across an environmental gradient in South America. *Limnology and Oceanography*, 59(2):400-412.
- Pazoto C, Ventura C, Duarte M & Silva E (2018) Genetic variation and population homogeneity of the sea star *Coscinasterias tenuispina* (Forcipulatida: Asteroidea) on the coast of Rio de Janeiro, Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 46(2):355-363.
- Peacock MM & Smith AT (1997) The effect of habitat fragmentation on dispersal patterns, mating behavior, and genetic variation in a pika (*Ochotona princeps*) metapopulation. *Oecologia*, 112:524-533.
- Peterson MS (2003) A conceptual view of environment-habitat-production linkages in tidal river estuaries. *Reviews in Fisheries science*, 11(4):291-313.
- Pimpinelli S & Piacentini L (2020) Environmental change and the evolution of genomes: Transposable elements as translators of phenotypic plasticity into genotypic variability. *Functional Ecology*, 34:428-441.
- Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2):945-959.
- Quintino V, Sangiorgio F, Ricardo F, Mamede R, Pires A, Freitas R, Rodrigues AM & Basset A (2009) In situ experimental study of reed leaf decomposition along a full salinity gradient. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85:497-506.
- Rajaei M, Farahmand H, Poorbagher H, Mortazavi MS & Farhadi A (2014) Sympatric morphological and genetic differentiation of the pearl oyster *Pinctada radiata* (Bivalvia: Pterioidea) in the northern Persian Gulf. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1-7. <https://doi.org/10.1017/S0025315414001611>.
- Richardson BJ, Baverstock PR & Adams M (1986) Allozyme electrophoresis - a handbook for animal systematics and population studies. Academic Press Inc., Sydney, 420 p.

- Rick CM, Fobes JF & Tanksley SD (1979) Evolution of mating systems in *Lycopersicon hirsutum* as deduced from genetic variation in electrophoretic and morphological characters. *Plant Systematics and Evolution*, 132:279-298.
- Rios EC (1994) *Seashells of Brazil*. Editora da FURG, Rio Grande, 492 p.
- Rohlf FJ & Marcus LF (1993) A revolution morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution*, 8(4):129-132.
- Rohlf FJ (2015) The tps series of software. *Hystrix*, 26:1-4.
- Rossi AR, Colangelo P, Berline L, Angiulli E, Ardizzone G, Fassatoui C & Sola L (2019) Influence of hydrodynamic connectivity on the genetic structure and gene flow of the common pandora *Pagellus erythrinus*. *Hydrobiologia*, 834:103-117.
- Roth VL & Mercer JM (2000) Morphometrics in development and evolution. *American Zoologist*, 40:801-810.
- Rousset F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8:103-106.
- Ryman N, Lagercrantz ULF, Andersson L, Chakraborty R & Rosenberg R (1984) Lack of correspondence between genetic and morphologic variability patterns in Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Heredity*, 53(3):687-704.
- Scarabino F, Zelaya DG, Orensanz JL, Ortega L, Defeo O, Schwindt E, Carranza A, Zaffaroni JC, Martínez G, Scarabino V & García-Rodríguez F (2015) Cold, warm, temperate and brackish: Bivalve biodiversity in a complex oceanographic scenario (Uruguay, southwestern Atlantic). *American Malacological Bulletin*, 33(2):1-18.
- Scheiner SM (1993) Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24:35-68.
- Selander RK, Smith MH, Yang SY, Johnson WE & Gentry JR (1971) Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*, I:

- Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). Studies in genetics VI. University of Texas Publ., 7103:49-90.
- Sgrò CM & Hoffmann AA (2004) Genetic correlations, tradeoffs and environmental variation. *Heredity*, 93:241-248.
- Silva EP & Russo CAM (2000) Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. *Hydrobiologia*, 420:119-135.
- Silva-Cavalcanti JS & Costa MF (2011) Fisheries of *Anomalocardia brasiliensis* in tropical estuaries. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 6(2):86-99.
- Simpson C & Harnik PG (2009) Assessing the role of abundance in marine bivalve extinction over the post-Paleozoic. *Paleobiology*, 35(4):631-647.
- Skibinski DOF (1994) The potential of DNA techniques in the population and evolutionary genetics of aquatic invertebrates. In: Beaumont AR (ed) *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Springer Science & Business Media. London, p. 177-199.
- Soares LSH, Lopez JP, Muto EY & Giannini R (2011) Capture fishery in northern Todos os Santos Bay, tropical southwestern Atlantic, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 59(1):61-74.
- Stapley J, Feulner PG, Johnston SE, Santure AW & Smadja CM (2017) Variation in recombination frequency and distribution across eukaryotes: Patterns and processes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372:20160455.
- Stocken TV, Wee AKS, Ryck DJR, Vanschoenwinkel B, Friess DA, Dahdouh-Guebas F, Simard M, Koedam N & Webb EL (2019) A general framework for propagule dispersal in mangroves. *Biological Reviews*, 94:1547-1575.
- Sugama K, Tridjoko T, Haryanti H & Cholik F (1999) Genetic variation and population structure in the humpback grouper, *Cromileptes altivelis*, throughout its range in Indonesian waters. *Indonesian Fisheries Research Journal*, 5(1):32-38.
- Sultan SE & Spencer HG (2002) Metapopulation structure favors plasticity over local adaptation. *The American Naturalist*, 160(2):271-283.

- Sultan SE (2017) Developmental plasticity: Re-conceiving the genotype. *Interface Focus*, 7(5):20170009.
- Swofford DL & Selander RB (1997) Biosys-2, a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. University of Illinois. Available from: <http://lamar.colostate.edu>.
- Taggart J, Ferguson A & Mason FM (1981) Genetic variation in Irish populations of brown trout (*Salmo trutta* L.): electrophoretic analysis of allozymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 69(3):393-412.
- Teixeira SF & Campos SS (2019) Mollusc Gathering in Tropical Regions of Brazil. In: Diarte-Plata G & Escamilla-Montes R (ed) *Molluscs*. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.83588. Available from: <https://www.intechopen.com/books/molluscs/mollusc-gathering-in-tropical-regions-of-brazil>
- Telesca L, Michalek K, Sanders T, Peck LS, Thyrring J & Harper EM (2018) Blue mussel shell shape plasticity and natural environments: A quantitative approach. *Scientific Reports*, 8:2865.
- Thompson JD (1991) Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends in Ecology and Evolution*, 6(8):246-249.
- Thrush SF, Halliday J, Hewitt JE & Lohrer AM (2008) The effects of habitat loss, fragmentation, and community homogenization on resilience in estuaries. *Ecological Applications*, 18(1):12-21.
- Uthicke S & Purcell S (2004) Preservation of genetic diversity in restocking of the sea cucumber *Holothuria scabra* investigated by allozyme electrophoresis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61:519-528.
- Vera M, Carlsson J, Carlsson JE, Cross T, Lynch S, Kamermans P, Villalba A, Culloty S & Martinez P (2016) Current genetic status, temporal stability and structure of the remnant wild European flat oyster populations: Conservation and restoring implications. *Marine Biology*, 163:239-252.

- Vetrova VP, Ekart AK, Kravchenko NA & Larionova AY (2016) Relationships between the allozyme and phenotypic diversities of *Picea ajanensis* populations. Russian Journal of Genetics: Applied Research, 6(5):560-568.
- Wade MJ & McCauley DE (1988) Extinction and recolonization: Their effects on the genetic differentiation of local populations. Evolution, 42(5):995-1005.
- Weir BS & Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population. Evolution, 38(6):1358-1370.
- West-Eberhard MJ (1989) Phenotypic plasticity and the origins of diversity. Annual Review of Ecology and Systematics, 20:249-278.
- Willsie JA, Morris TJ & Zanatta DT (2020) Morphometric Analyses Distinguish Wabash Pigtoe (*Fusconaia flava*) and Round Pigtoe (*Pleurobema sintoxia*) Mussels. Diversity, 12:337. <https://doi.org/10.3390/d12090337>
- Wishkerman A & Hamilton PB (2018) Shape outline extraction software (DiaOutline) for elliptic Fourier analysis application in morphometric studies. Applications in Plant Sciences, 6(12):e01204.
- Zelditch ML, Swiderski DL & Sheets HD (2012) Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. Academic Press, Cambridge, 480 p.
- Zhao Y, Li Q, Kong L & Mao Y (2009) Genetic and morphological variation in the venus clam *Cyclina sinensis* along the coast of China. Hydrobiologia, 635:227-235.
- Zieritz A, Hoffman JI, Amos W & Aldridge DC (2010) Phenotypic plasticity and genetic isolation-by-distance in the freshwater mussel *Unio pictorum* (Mollusca: Unionoida). Evolutionary Ecology, 24:923-938.
- Zink RM (1988) Evolution of brown towhees: Allozymes, morphometrics and species limits. The Condor, 90:72-82.