

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MARINHA

**VARIAÇÃO MORFOLÓGICA EM *Perna perna*
(Linnaeus, 1758)**

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

Helder Marques

Orientador: Dr. Edson Pereira da Silva

**Niterói – RJ
2003**

FICHA CATALOGRÁFICA**MARQUES, HELDER**VARIAÇÃO MORFOLÓGICA EM *Perna perna* (Linnaeus, 1758).

Niterói, RJ – Universidade Federal Fluminense – UFF, Instituto de Biologia, 2003.

Dissertação: Mestrado em Biologia Marinha

1. *Perna perna* 2. Morfometria 3. Análise Multivariada
4. Alometria 5. Recrutamento

I. Universidade Federal Fluminense- Instituto de Biologia
II. Título

Helder Marques

**VARIAÇÃO MORFOLÓGICA EM *Perna perna*
(Linnaeus, 1758).**

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

APROVADA EM 31 DE MARÇO DE 2003, PELA BANCA EXAMINADORA:

Dr. Edson Pereira da Silva
Departamento de Biologia Marinha
Universidade Federal Fluminense

Dr^a. Blanche Christine Bitner-Mathé
Departamento de Genética
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dr. Paulo César de Paiva
Departamento de Zoologia
Universidade Federal de Rio de Janeiro

Dr. Aguinaldo Nepomuceno Marques Júnior
Departamento de Biologia Marinha
Universidade Federal Fluminense

Para minha mãe

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho e a conclusão do curso de mestrado somente foram possíveis graças à participação de muitas pessoas. Muitas delas sequer estiveram na UFF e a talvez não tenham o menor interesse por mexilhões, no entanto, sua amizade por mim é o elo que as liga de forma definitiva a esta pequena conquista.

Ao meu orientador, Dr Edson Pereira da Silva, que com a sua grande competência profissional foi capaz de me mostrar caminhos e soluções, tranqüilizar-me nos momentos difíceis e sempre me contagiou com a sua empolgação e interesse pelo trabalho. Muito mais que um excelente orientador, Edson foi um amigo, que soube respeitar os ritmos e as diferenças de temperamento, por mais que estas diferenças o incomodassem. Apesar dos muitos anos de amizade que já nos uniam, nosso convívio durante a realização deste trabalho aumentou, em muitas ordens de grandeza, minha admiração por ele, tanto quanto profissional como quanto pessoa.

Ao Dr Louis Bernard Klaczko, meu primeiro orientador, que me ensinou tanto sobre a biologia, a vida, a amizade e o companheirismo. Tenho muito orgulho de já ter estado entre seus alunos.

Ao meu amigo Humberto Moura-Neto. Certamente sem a sua amizade seria impossível para mim a conclusão do curso. Seu companheirismo, ajuda incondicional e bom humor tornaram não só o curso de mestrado possível, como o ambiente de nosso laboratório e os últimos momentos da redação muito mais agradáveis. Espero que sua carreira prossiga com sucesso e que seus objetivos sejam alcançados. Espero ainda que sua amizade e companheirismo estejam sempre ao alcance dos seus atuais e futuros amigos.

A minha amiga Uani Cerqueira Bílio, que muito mais do que com a sua competente assistência durante seu tempo de estagiária, colaborou com seu companheirismo, sua amizade e seu toque de graça, transformando nosso laboratório em um aconchegante ambiente familiar.

Às amigas Michele Nogueira e Carmen Pazoto, que estiveram sempre dispostas em ajudar e se empenharam em manter em nosso laboratório o clima agradável de amizade e colaboração.

À amiga Rosa Cristina Correa Luz e Souza, pelo companheirismo e amizade e simpatia nos momentos alegres e nos difíceis também.

Ao amigo Luciano Rapagña, o meu mergulhador, que além da ajuda na dificílima coleta do Arraial do Cabo, se mostrou um grande amigo e um ser humano incrível. Sua inteligência, honestidade e competência, certamente farão dele um grande pesquisador.

A todos os professores do Departamento de Biologia Marinha, em especial ao Prof Abílio Soares Gomes, Ao Prof. Roberto Villaça, Prof. Renato Crespo e à Professora Valéria Laneuville Teixeira. É impossível para mim dizer quanta alegria me trouxe o que me ensinaram.

A todos os colegas da turma de 2000, Ariane, Conceição Magda, Mônica, Patrícia, Venina, e em especial, ao Paulo Guilherme Ribeiro Martins, Etiene Clavico, Ana Clara

Paz Otegui, Rosa Cristina de Souza. Sua amizade, inteligência e amor pelo conhecimento tornaram nosso convívio e nossas discussões muito mais agradáveis.

Aos Diretores do CIEP 258 Astrogildo Pereira, Professores Eliane Alves Aquino, Elizete Cruz Nunes, e Saulo Miranda Fabrício, e em especial à Coordenadora, professora Jaunilce Cruz Espíndola. Graças a sua ajuda, em todos os momentos, foi possível que este trabalho fosse concluído. Sua amizade foi fundamental na minha vida.

Às minhas grandes amigas Belkiss Cristine Freitas de Lemos e Sirley Antunes, a quem devo um lista enorme de favores, que, espero, leve a vida inteira para pagar.

Ao meu amigo Marcelo Luis de Miranda, que participou não só me incentivando, mas com sua amizade, seus conselhos, seu ouvido, sua hospedagem, enfim, é muito bom saber que posso contar com sua ajuda nos momentos difíceis da minha vida. Marcelo tem sido muito mais que um irmão, um verdadeiro exemplo de humanidade a ser seguido.

À Rosangela Rosa Santos, que me traz a tranqüilidade de ser a excelente mãe do Vinícius. Sei que compartilha comigo da felicidade pelo término desta etapa da minha vida.

À Valdira da Silva Rosa, que foi a grande responsável pela minha entrada neste curso. Desde o incentivo para que me candidatasse ao mestrado, passando pelo apoio durante as fases de avaliação, até a ajuda na redação da tese, Valdira tem sido uma presença especial na minha vida.

À minha irmãzinha Thaís Marques Vieira da Silva. É estranha esta sensação da velocidade com que o tempo passa. A poucos instantes Thaís era uma garotinha, que eu precisava proteger, agora me volto e vejo essa mulher decidida e inteligente para quem corro quando preciso de colo ou ajuda. Sem a sua proteção carinho e amizade, certamente eu não teria concluído este trabalho.

Ao meu amigo e cunhado Ricardo Machado. Tenho muito orgulho de tê-lo em minha família, sua amizade e carinho por minha família são uma grande fonte de tranqüilidade.

À Luana Rosa Soares. O seu carinho por mim é uma das minhas grandes fontes de orgulho e de tranqüilidade em muitos momentos bons e maus. Luana me ensinou que existem várias formas de se ter filhos.

Ao meu filho Vinicius Santos Marques, que fez a revolução mais maravilhosa que já ocorreu na minha vida. É incrível como a simples existência de um filho é capaz de alterar nossa percepção do mundo e de nos dar esperança no futuro.

À minha mãe, Vilma Campos Marques. Foram tantos os percalços, tanta luta, tantos sofrimentos e tantas alegrias que tivemos juntos e só agora sou capaz de perceber como é simples o fato de que as alegrias e conquistas dos filhos nos dêem tamanha felicidade. Minha mãe, ainda que não fosse minha mãe, seria certamente a grande amiga que é. Minha grande esperança é que, um dia, eu possa ser para os meus filhos tão bom e importante quanto minha mãe é para mim. Se isto acontecer, serei um homem realizado.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1- O estudo da forma.....	1
1.2- Forma e tamanho.....	2
1.3- Morfometria de mexilhões.....	4
2. OBJETIVOS.....	6
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1- Pontos de coleta.....	7
3.2- Medidas.....	10
3.3- Métodos para remover o efeito do tamanho.....	12
3.3.1- Correção pela razão do comprimento.....	12
3.3.2- Correção de Lleonart et al. (2000) para alometria.....	12
3.4- Análise Multivariada.....	14
3.4.1- Análise das funções discriminantes.....	14
3.4.2- Análise de Componentes Principais (PCA)	15
3.4.3- Estimativa dos Coeficientes de Alometria Multivariada.....	16
4. RESULTADOS.....	18
4.1- Coeficientes de correlação entre eventos de medição independentes.....	18
4.2- Variação geográfica.....	18
4.2.1- Análise das funções discriminantes.....	18
4.2.2- Análise de Componentes Principais.....	25
4.2.3- Estimativa dos Coeficientes de Alometria Multivariada.....	28
4.3- Jovens e adultos.....	31
4.3.1- Análise das funções discriminantes.....	31
4.3.2- Análise de componentes principais.....	36
4.3.3- Coeficientes de alometria.....	39
5. DISCUSSÃO.....	41
5.1- Variação geográfica.....	41
5.2- Jovens e adultos.....	48
6. CONCLUSÕES.....	55
7. BIBLIOGRAFIA.....	56
Para Pintar o Retrato de Um Pássaro.....	63

Índice de Figuras

Figura 1- Mapa dos pontos de coleta do mexilhão <i>Perna perna</i> ao longo da costa brasileira.....	9
Figura 2- Esquemas da concha de <i>Perna perna</i> indicando as 12 medidas tomadas nas valvas esquerdas. .	11
Figura 3- Plotagem de cada população geográfica em função das duas primeiras funções canônicas.....	23
Figura 4- Dendrogramas obtidos pelo método de UPGMA a partir das distâncias de Mahalanobis calculadas entre as dez populações geográficas.....	24
Figura 5- Plotagem dos indivíduos das 10 populações geográficas contra os dois primeiros componentes principais.....	27
Figura 6- Coeficientes de alometria multivariada das dez populações geográficas para as doze características estudadas...	30
Figura 7- Plotagem das seis populações de jovens e adultos em função das duas primeiras funções canônicas, resultantes da análise de discriminante.....	34
Figura 8- Dendrogramas obtidos pelo método de UPGMA a partir das distâncias de Mahalanobis calculadas entre as populações de jovens e adultos dos pontos Itaipú, Fortaleza e Sonar.....	35
Figura 9- Plotagens para os escores dos dois primeiros componentes principais para as seis populações de jovens e adultos.	38
Figura 10- Coeficientes de alometria multivariada das seis populações de jovens e adultos para as onze características estudadas.....	40

Índice de Tabelas

Tabela I- Locais de coleta dos mexilhões, abreviaturas utilizadas, intervalo de comprimento da concha por grupo e número de indivíduos medidos (N).8
Tabela II- Distribuição em classes de tamanho obtidas a partir das populações de jovens, adultos e geográficos para os pontos de coleta de Itaipú, Fortaleza e Sonar.14
Tabela III- Correlação entre dois eventos independentes de medição para cada uma das medidas tomadas neste trabalho. São identificados os instrumentos de medição.18
Tabela IV- Matriz de classificação obtida da análise de discriminante, mostrando os porcentuais de indivíduos classificados em cada grupo.16
Tabela V- Porcentuais da variação explicada para as duas primeiras funções canônicas em cada análise.20
Tabela VI- Distâncias de Mahalanobis (D^2), calculadas dois a dois entre as dez populações geográficas de <i>Perna perna</i> estudadas nesta tese.22
Tabela VII- Coeficientes de correlação entre cada variável e os três primeiros componentes principais para as três análises.25
Tabela VIII- Porcentuais da variação explicada pelos três primeiros componentes principais para cada uma das dez populações geográficas.28
Tabela IX- Médias dos coeficientes de correlação entre cada variável e o PC1 após aplicação do método <i>jackknife</i> , para cada uma das dez populações geográficas estudadas.29
Tabela X- Coeficientes de alometria multivariada para cada uma das dez populações geográficas29
Tabela XI- Matriz de classificação obtida da análise de discriminante mostrando os porcentuais de indivíduos classificados em cada grupo31
Tabela XII- Distâncias de Mahalanobis entre as populações de jovens e adultos para os três locais estudados.33
Tabela XIII- Coeficientes de correlação entre cada variável e os três primeiros componentes principais para as duas análises.37
Tabela XIV- Coeficientes de alometria multivariada para as seis populações de Jovens e adultos dos pontos de Itaipu, Fortaleza e Sonar.39

RESUMO

A variação morfológica na espécie *Perna perna* (Linnaeus, 1758) foi investigada em 9 localidades da costa brasileira e em uma da costa sul-africana. Um total de 16 populações foram amostradas. Foram extraídas 12 medidas lineares de cada valva esquerda de 862 indivíduos, além do peso.

As análises de componentes principais demonstraram que 81,33% da variação observada pode ser explicada pelos três primeiros componentes principais, sendo que 49,66 % da mesma é explicada pelo PC1, o vetor de tamanho multivariado.

O modo parece influenciar muito a morfologia de *P. perna*. Ambientes abrigados apresentam populações com morfologia semelhante entre si, independentemente da distância geográfica entre elas, do mesmo modo que os ambientes expostos.

Os coeficientes de alometria multivariada estimados entre as populações dos dez pontos geográficos são muito diferentes entre si, não apresentando nenhum padrão perceptível.

Um método de correção para alometria, a correção de Lleonart *et al.* (2000), foi aplicado para tornar possível a comparação entre a forma de organismos de diferentes tamanhos. O método mostrou-se satisfatório para remover os efeitos devidos às diferenças de tamanho e, assim, foi possível fazer uma comparação da forma multivariada entre jovens e adultos de três locais: Fortaleza, Sonar e Itaipu.

Através da comparação da morfologia entre jovens e adultos destes três pontos, tentou-se inferir padrões de recrutamento para a espécie. Os jovens e adultos das populações de Sonar e Fortaleza apresentam morfologias distintas, apesar de compartilharem os mesmos fatores ambientais. Assim, é possível sugerir que o padrão de recrutamento nestes locais parece ser aleatório, com recrutas vindo de outras populações, com diferentes respostas fenotípicas ao mesmo ambiente. A população de Itaipu, entretanto, apresentou uma morfologia entre jovens e adultos muito semelhante, o que sugere que neste caso o recrutamento seja local.

Os coeficientes de alometria multivariada estimados para jovens e adultos separadamente indicam padrões de alometria diferentes entre os jovens e adultos de Sonar e Fortaleza, reforçando a idéia de recrutamento aleatório nesses locais. Os coeficientes alométricos entre jovens e adultos de Itaipu, entretanto, apresentam uma semelhança notável, reforçando a idéia de recrutamento local neste ponto.

ABSTRACT

Morphological variation in the species *Perna perna* (Linnaeus, 1758) was investigated in 9 points of the Brazilian coast and in one on the coast of South Africa. A total of 16 populations was sampled. Twelve linear measures of each left valve were taken for 862 individuals, in addition to the weight. Principal component analysis showed that 81.33% of the observed variation can be accounted for by the three first principal components, and 49.66% of the variation is accounted for by the PC1, the multivariate size vector. The mode seems to have a great influence on the morphology of *P. perna*. Populations inhabiting sheltered environments have very similar morphologies, independently of the geographic distance separating them, and the same holds for exposed environments. Multivariate allometry coefficients estimated for the populations from the ten geographical points differ very much among themselves, showing no overall discernible pattern. A method for allometry correction, the correction of Lleonart *et al.* (2000), was employed to enable comparisons of shape between mussels of different sizes. The method proved satisfactory to remove the effects due to size differences, and allowed a multivariate comparison between adult and juveniles from three sites: Fortaleza, Sonar and Itaipu. An attempt was made to infer recruitment patterns for the species by comparing the morphology of adults and juveniles from these three sites. The young and the adults from the Sonar and Fortaleza populations present distinct morphologies, in spite of sharing the same environmental factors. It can thus be suggested that the recruitment pattern in these sites is random, with recruits coming in from other populations, presenting different phenotypic responses to the same environment. In the Itaipu population, however, adult and juveniles displayed very similar morphologies, suggesting local recruitment. Multivariate allometry coefficients estimated for adults and juveniles separately indicate different allometry patterns for adults and juveniles from both Sonar and Fortaleza, reinforcing the idea of random recruitment in those sites. The allometric coefficients between adult and juveniles from Itaipu, on the other hand, show a remarkable similarity, reinforcing the idea of local recruitment at that site.

“Apenas as pessoas superficiais não
acreditam em primeiras impressões.”

Oscar Wilde

1. INTRODUÇÃO

1.1- O estudo da forma

A forma foi o primeiro meio que o Homem utilizou para identificar os organismos. Desde que a ciência vem buscando métodos para uma classificação dos seres vivos, o principal critério para a identificação das espécies ainda é seu conjunto de caracteres morfológicos - a sua forma, em última análise. Do ponto de vista da biologia evolutiva, a existência de variações de forma entre os organismos, tanto dentro das populações quanto entre populações e espécies, é extremamente importante. A própria teoria darwinista postula que as grandes e descontínuas diferenças na morfologia das espécies originam-se do acúmulo lento e gradual destas diferenças entre as populações (Darwin, 1860).

No final do século XIX começaram a surgir estudos da variação da forma biológica que, numa tentativa de abordar a forma de maneira matemática, buscavam correlações entre medidas de partes dos organismos. Esta maneira de tentar descrever a forma dos organismos por meio de correlações entre medições inaugura a chamada escola biométrica (Roth & Mercer, 2000; Monteiro & Reis, 1999). Contudo, as características morfológicas de um organismo não são autônomas. Um organismo é um sistema integrado, onde mudanças em um aspecto da morfologia influenciam mudanças em outros. Tentando resolver este dilema, os biometristas inauguraram o uso da estatística multivariada, que possibilita o estudo da forma biológica como um problema em que muitas variáveis se relacionam simultaneamente.

O desenvolvimento das técnicas de análise multivariada, principalmente devido aos avanços da computação que permitiram análises mais complexas, mesmo quando da manipulação de grandes conjuntos de dados, permitiu o surgimento do que conhecemos hoje como morfometria multivariada. Esta pode ser definida como “a caracterização quantitativa, a análise e comparação da forma biológica” (Roth & Mercer, 2000) e tem história relativamente recente.

A morfometria multivariada permite que padrões sutis sejam percebidos, e que estados intermediários sejam detectados, aumentando em muito a quantidade de variação presente na morfologia que é passível de ser percebida. Indo de encontro a um dizer de Darwin, “As variações formam um continuum” (Darwin, 1860) se estudadas a partir de uma abordagem morfométrica.

No decorrer do século XX, algumas metodologias divergiram quanto à maneira de medir a forma biológica. Na chamada morfometria tradicional, são tomadas várias medidas lineares, ou ângulos, entre pontos fixos nas estruturas biológicas (Roth & Mercer, 2000). Uma séria crítica a essa metodologia reside no fato de que uma dimensão, geralmente a do comprimento, é privilegiada, tornando as medições redundantes (Monteiro & Reis, 1999). No entanto, em organismos que não apresentam marcos anatômicos muito bem definidos, essa metodologia simples é eficaz.

Quando é possível determinar marcos anatômicos, pode-se aplicar o método das “redes de treliça” (Strauss & Bookstein, 1982). Neste método são definidos marcos, chamados *landmarks*, sobre os quais se definem os vértices de quadriláteros contínuos, com duas diagonais. São então, tomadas todas as distâncias assim definidas.

D’Arcy Thompson (Thompson, 1917), propôs que a variação da forma dos organismos fosse discutida sob uma ótica matemática e geométrica. O método proposto por D’Arcy Thompson consistia na projeção da forma sobre um sistema de coordenadas, porém este autor não sugeriu uma análise estatística da forma (Monteiro & Reis, 1999).

Os dados resultantes de uma análise morfométrica, qualquer que seja ela, são dados multivariados. A partir dos anos 80, com o aperfeiçoamento dos computadores pessoais, uma série de pacotes estatísticos para análise multivariada ficou disponível aos pesquisadores. Isto resultou em uma explosão de trabalhos utilizando a abordagem morfométrica.

1.2- Forma e tamanho

O estabelecimento da forma de um organismo adulto é determinado pelo seu padrão de desenvolvimento ontogenético. A relação entre os padrões de crescimento das diversas partes de um organismo, durante seu desenvolvimento, afetará a sua forma final.

O crescimento simultâneo de várias partes de um organismo em que a medida de cada parte do corpo é uma função linear da outra consiste no chamado crescimento isométrico. Para comparar um organismo grande com um pequeno, a simples divisão por um fator de escala é suficiente. Numa situação como esta, a forma é totalmente independente do tamanho, pois organismos

grandes e pequenos apresentam a mesma forma, sendo os pequenos miniaturas dos grandes. No crescimento isométrico, cada medida pode ser representada por uma equação do tipo: $Y = A + BX$, onde X e Y são medidas e A e B , coeficientes de uma regressão linear (Gayon, 2000).

Nas situações em que diferentes partes do corpo crescem a taxas diferentes, à medida que o tamanho aumenta, a forma do corpo muda, e a relação entre as medidas das diferentes partes do corpo não é mais linear. Neste caso, organismos grandes e pequenos obrigatoriamente terão formas diferentes devido ao crescimento diferencial de diversas partes do corpo. A consequência desta peculiaridade do desenvolvimento é que não há mais um fator linear de escala. Este crescimento, em que há uma mudança de forma acompanhando a mudança de tamanho, é denominado de crescimento alométrico (Somers, 1986).

O termo alometria foi cunhado em 1936, em um trabalho conjunto de Julian Huxley e Georges Teissier. Neste trabalho, os autores procuravam remover as confusões existentes no campo nascente dos estudos sobre o crescimento relativo. A equação que define o crescimento alométrico foi estabelecida neste trabalho como $Y = bX^\alpha$ (Huxley & Teissier, 1936). Os trabalhos com alometria podem ser divididos em antes e depois da adoção da moderna terminologia por Huxley e Teissier (Gayon, 2000).

Em análises morfométricas, o foco da atenção está voltado para a comparação entre a forma dos organismos. Neste contexto, alometria designa a relação entre as mudanças na forma e o tamanho total do organismo (Levinton, 1988). Assim, modernamente, alometria designa as mudanças nas dimensões relativas de partes do corpo de um organismo que estão correlacionadas às mudanças no tamanho total.

Nos trabalhos de morfometria, grande parte da variabilidade dos dados deve-se a diferenças no tamanho dos organismos que são, geralmente, consideradas como fontes contingenciais de variação (Dillon & Manzi, 1989; Reis *et al.*, 1987).

Devido ao problema da alometria, as diferenças observadas na forma são, muitas vezes, devidas apenas a diferenças de tamanho entre os organismos. Existem vários procedimentos estatísticos que têm o intuito de eliminar a influência do tamanho na variação morfológica. O procedimento mais simples consiste em obter a razão entre cada medida e uma outra, considerada como um estimador do tamanho, geralmente o comprimento total. Este procedimento realmente reduz os dados à mesma magnitude, porém não remove a influência não-linear do crescimento. Assim, este tipo de abordagem somente é eficiente em casos de desenvolvimento isométrico.

Em análises multivariadas, a redução das variáveis a novos eixos de variação, os componentes principais, geralmente resulta na extração de um componente com o qual todas as medidas lineares estão positivamente correlacionadas. Este componente, geralmente o primeiro, representa o tamanho. Os demais componentes representam a forma (Reis, 1988). No entanto, em casos com alometria acentuada ou naqueles em que a variação de tamanho é extrema, é praticamente impossível separar os efeitos de forma e tamanho mesmo para o primeiro componente principal (Humphries *et al.*, 1981; Moisimann, 1970).

1.3- Morfometria de mexilhões

A variação da forma, sob a ótica da morfometria multivariada, tem sido descrita para espécies tão diversas quanto pardais da espécie *Melospiza melodia* (Smith, 1998), sapos da espécie *Bufo viridis* (Karakousis & Kyriakopoulou-Sklavounou, 1995), peixes-rei do gênero *Odontesthes* (Bemvenuti, 2002), o gastrópodo marinho *Littorina saxatilis* (Sundberg, 1988) e lagostas da espécie *Homarus americanus* (Cadrin, 1999, 1995).

Em mexilhões, a variação morfológica das conchas tem sido utilizada em estudos taxonômicos (Innes & Bates, 1999; Gosling, 1992; McDonald *et al.*, 1991) e na investigação das possíveis correlações entre morfologia, variação ambiental e idade dos organismos (Seed, 1968). McDonald e colaboradores (1991) em um estudo com *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis* e *M. trossulus* encontraram uma grande diferença morfológica entre estas espécies. Contudo, Innes & Bates (1999), em outro estudo, agora com as espécies *M. trossulus* e *M. edulis* da costa do Canadá, não foram capazes de encontrar diferenças

morfológicas da mesma magnitude. A diferença dos resultados foi explicada com base no fato de que as populações das duas espécies estudadas por Innes & Battes (1999) eram simpátricas. Em simpatria, a morfologia da concha nestes mexilhões podia tanto estar sofrendo os efeitos do ambiente comum, quanto da hibridização entre as duas espécies. Deste modo, Innes e Battes concluem que os caracteres morfométricos não são bons marcadores taxonômicas, ao menos para populações simpátricas do grupo *Mytilus edulis*.

Seed (1968) estudou a influência de vários fatores ambientais sobre a morfologia da concha de *M. edulis* da costa da Inglaterra. Em localidades onde as taxas de crescimento e as densidades eram altas, foram observados animais mais alongados, provavelmente devido aos efeitos de compressão. A ausência destes efeitos de compressão, por sua vez, pareciam dar origem a formas mais triangulares. Outra observação deste estudo foi a grande semelhança entre os indivíduos jovens coletados em áreas muito afastadas, sugerindo que as diferenças observadas entre os adultos das mesmas localidades seriam resultantes, principalmente, de sua plasticidade fenotípica.

No Brasil, a família Mytilidae possui como representante mais abundante a espécie *Perna perna*. Esta espécie habita a zona litoral e sublitoral e está geograficamente distribuída desde o Espírito Santo até o Rio Grande do Sul. Na América do Sul também existe na Venezuela e no Uruguai, bem como na África do Sul e recentemente invadiu o Golfo do México (Hicks & Tunnel, 1995). *P. perna*, como as outras espécies do gênero, é facilmente reconhecível e não ocorrem confusões taxonômicas relativas a ela. Já foram realizados trabalhos descrevendo a sua anatomia (Narchi & Galvão-Bueno, 1997), dispersão e ecologia (Hicks & Tunnel, 1995) e crescimento (Kaehler & McQuaid, 1999; Marques & Pereira, 1998), entre outros. Este organismo tem sido usado ainda em monitoramento de poluição (Francioni *et al.*, 1999; Vieira & Moraes, 1999). Apesar de exibir uma notável variação na morfologia das conchas, até o momento não há notícia de trabalhos descrevendo a variação morfológica de *P. perna* do ponto de vista da morfometria multivariada.

2. OBJETIVOS

Foram estudadas 15 populações de *Perna perna* ao longo da costa brasileira e uma originária da costa sul-africana, com os seguintes objetivos:

1. Descrever a variação morfológica das conchas utilizando a morfometria multivariada.
2. Descrever os padrões de alometria.
3. Utilizar a variação morfológica como marcador populacional.
4. Utilizar a variação morfológica como estimador das relações entre jovens e adultos de mexilhões do mesmo local.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Pontos de coleta

Os mexilhões foram coletados ao longo de 9 pontos da costa, cobrindo grande parte da distribuição geográfica de *Perna perna* no Brasil, num total de 15 populações. Destas 15 populações, três eram populações de “jovens”, com comprimentos entre 7 mm e 19 mm, e outras três eram populações de “adultos”, compostas por indivíduos grandes, com comprimentos entre 42 mm e 84 mm, coletados nos pontos de Fortaleza, Sonar e Itaipu, todos localizados no estado do Rio de Janeiro. As 9 populações restantes eram constituídas de indivíduos de tamanhos variados, dos mesmos locais de coleta de jovens e adultos, além de mais seis locais na costa brasileira. Além destes 9 pontos, foi coletada uma décima população em Muizenberg, na costa da África do Sul. Estas 10 populações foram denominadas de populações “geográficas”. A Figura 1 mostra um mapa da costa brasileira, com os locais de coleta. Assinalados nos detalhes estão os locais de coleta na costa do estado do Rio de Janeiro, na região de Arraial do Cabo e na costa africana. A Tabela I apresenta o número de indivíduos coletados em cada população, abreviaturas utilizadas e o intervalo de comprimento da concha dos animais. Os animais foram coletados no costão, na região entremarés, com raspadeira e levados vivos ao laboratório, onde as valvas esquerdas foram removidas, lavadas com álcool etílico comum e secadas à temperatura ambiente para armazenamento e posterior medição.

Tabela I– Locais de coleta dos mexilhões, abreviaturas utilizadas, intervalo de comprimento da concha por grupo e número de indivíduos medidos (N).

LOCAL DE COLETA	Abreviatura para população	INTERVALO DE COMPRIMENTO		N
		mm MIN	MAX	
Fortaleza, RJ	Jovens	FJ	8,65	19,10
	Adultos	FA	42,75	83,60
	<u>Geográficos</u>	FTZ	27,80	64,30
Sonar, RJ	Jovens	SJ	7,20	12,95
	Adultos	SA	50,75	82,40
	<u>Geográficos</u>	SON	25,30	59,40
Itaipu, RJ	Jovens	IJ	7,20	15,60
	Adultos	IA	44,10	60,75
	<u>Geográficos</u>	ITA	32,20	75,05
Búzios, RJ		BUZ	31,10	44,70
Forno, RJ		FRN	30,80	65,65
Jaconé, RJ		JAC	25,30	79,70
Macaé, RJ		MAC	40,65	69,00
Vitória, ES		VIT	43,40	81,40
Praia Brava, SC		PBV	13,50	54,80
Muizenberg, África do Sul		AFR	39,10	84,65
TOTAL GERAL				862

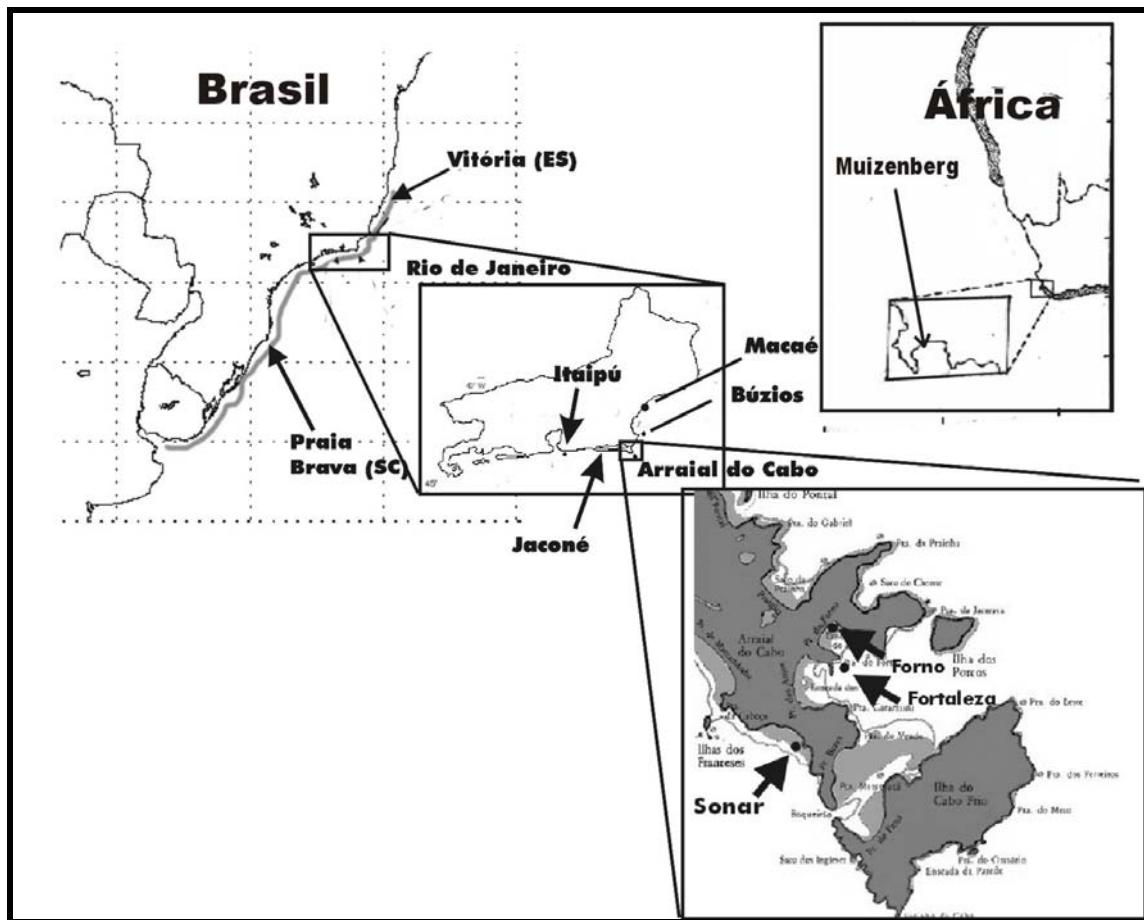


Figura 1- Mapa dos pontos de coleta do mexilhão *Perna perna* ao longo da costa brasileira e do ponto na costa da África do Sul. O hachureado indica a distribuição da espécie *P. perna* na costa brasileira e na região da costa africana mostrada na figura.

3.2- Medidas

As medidas escolhidas foram derivadas daquelas comumente tomadas em estudos morfométricos com o gênero *Mytilus* (Innes & Bates, 1999; McDonald *et al.*, 1991; Seed, 1968). A Figura 2 mostra um diagrama da concha, representando a sua face interna, onde estão esquematizadas as 12 medidas lineares tomadas nas valvas esquerdas.

Para os indivíduos coletados nos pontos geográficos, foi tomado, para cada valva esquerda de *Perna perna*, um total de 13 medidas (12 medidas lineares mais o peso). Para os indivíduos adultos, não foi tomada a medida **crp** (comprimento da cicatriz do músculo retrator posterior), perfazendo um total de 12 medidas. Todas as medidas lineares foram tomadas com paquímetro **Vernier** com precisão de 0,05mm, e o peso com uma balança **Acatec** com precisão de 0,01g.

Nos indivíduos jovens, as medidas lineares externas (**aam**- comprimento da cicatriz do músculo adutor anterior, **hei**- altura da concha, **hp**- largura do umbro, **ls**- comprimento total da concha e **wid**- largura da concha) foram tomadas com paquímetro, com exceção da medida **crp** (comprimento da cicatriz do músculo retrator posterior) que, como para os indivíduos adultos, também não foi tomada aqui. Para tomada das demais medidas lineares (**dpr**- distância do músculo retrator posterior à margem superior da concha, **lar**- comprimento da cicatriz do músculo retrator anterior, **lig**- comprimento do ligamento da concha, **pal**- distância da linha palial à margem ventral da concha tomada na direção da inserção do ligamento, **pap**- distância do músculo adutor posterior à margem posterior da concha e **pav**- distância do músculo adutor posterior à margem ventral da concha) foi utilizado um microscópio estereoscópico **Zeiss** com ocular graduada em 0,01mm. O peso das valvas foi obtido com uma balança **Ohaus Adventurer AR-1530** com precisão de 0,0001g.

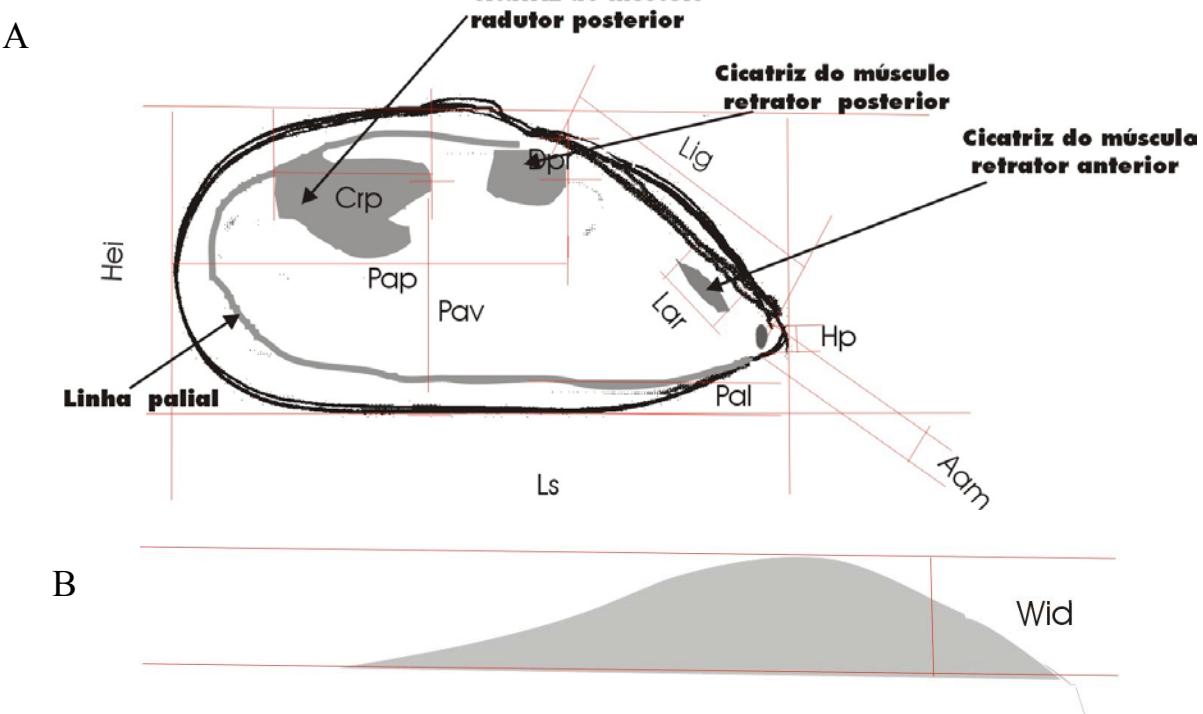


Figura 2- Esquemas da concha de *Perna perna* indicando as 12 medidas tomadas nas valvas esquerdas. A décima terceira medida é o peso da valva. Em A) Visão da face interna mostrando: **aam**- comprimento da cicatriz do músculo adutor anterior, **crp**- comprimento da cicatriz do músculo retrator posterior, **dpr**- distância do músculo retrator posterior à margem superior da concha, **hei**- altura, **hp**- largura do umbigo, **lar**- comprimento da cicatriz do músculo retrator anterior, **lig**- comprimento do ligamento, **ls**- comprimento total, **pal**- distância da linha palial à margem ventral da concha tomada na direção da inserção do ligamento, **pap**- distância do músculo adutor posterior à margem posterior da concha, **pav**- distância do músculo adutor posterior à margem ventral da concha. Em B) Visão superior da face externa da concha mostrando: **wid**- largura.

Para determinar a confiabilidade de cada medida, um grupo de 10 conchas de indivíduos adultos e outro de 10 conchas de indivíduos jovens foram medidos duas vezes, e a correlação entre as duas observações para cada medida foi calculada utilizando o programa *Excel for Windows* da *Microsoft*. Medidas com correlação entre as duas observações maior que 0,65 foram arbitrariamente consideradas confiáveis.

Os dados brutos foram tabulados e convertidos para logaritmos decimais utilizando-se o programa *Excel* da *Microsoft* e, posteriormente, exportados para o programa *SPSS for Windows*, com o qual todas as análises estatísticas foram realizadas.

3.3- Métodos para remover o efeito do tamanho

Foram utilizadas duas abordagens para tentar remover os efeitos das diferenças de tamanho entre os indivíduos: correção pela razão do comprimento e correção de Lleonart *et al.* (2000) para alometria. Ambas descritas abaixo.

3.3.1- Correção pela razão do comprimento

Cada medida transformada para logaritmo decimal foi dividida pelo logaritmo decimal do comprimento como é visto na *equação 1*, uma forma comum de tentar remover as diferenças de tamanho (Innes & Battes, 1999; Gosling, 1992; McDonald *et al.*, 1991).

$$\frac{\text{Log}_{10} Y}{\text{Log}_{10} ls} \quad (\text{equação 1})$$

3.3.2- Correção de Lleonart et al. (2000) para alometria

O procedimento adotado para tentar remover o efeito do crescimento alométrico foi aquele proposto por Lleonart *et al.* (2000). Este procedimento consiste, basicamente, em determinar qual seria o valor que cada medida teria se todos os indivíduos possuissem o mesmo tamanho. Para isso são determinados os coeficientes de uma regressão não linear onde cada medida é uma função exponencial do comprimento total da concha, arbitrado como um estimador do tamanho, como no modelo:

$$Y_i = a I_{s_i}^b \quad (equação\ 2)$$

O coeficiente **b** assim obtido é utilizado na equação de correção:

$$Y^* = Y_i [I_{s_0}/I_{s_i}]^b \quad (equação\ 3)$$

Onde:

Y^* = medida corrigida	I_{s_0} = comprimento médio das conchas
Y_i = medida observada	I_{s_i} =comprimento observado da concha

Assim, cada medida é corrigida e cada indivíduo passa a ser representado por novos valores, que seriam os esperados se o seu comprimento fosse I_{s_0} .

No trabalho com as populações de jovens e adultos, que eram compostas por extremos de tamanho, a regressão tornava-se difícil, uma vez que os valores extremos de tamanho eram mais numerosos que os valores intermediários. Assim, para possibilitar uma estimativa dos parâmetros **a** e **b**, uma população mais equilibrada foi construída. A partir das 3 populações coletadas nos pontos de Fortaleza (FTZ, FA e FJ), Sonar (SON, SA e SJ) e Itaipu (ITA, IA e IJ) foram construídas 16 classes de tamanho e sorteados dentro de cada classe até 4 indivíduos. Assim cada classe possuía um número de indivíduos entre 0 e 4, perfazendo os totais da Tabela II. Para cada uma destas 3 populações, foram estimados os coeficientes **a** e **b** da regressão não linear correspondentes à *equação 2*.

3.4- Análise Multivariada

Foram realizadas análises das funções discriminantes e análises de componente principal (PCA), tanto com os dados brutos convertidos em logaritmos, como com os dados corrigidos pela razão do comprimento e com os dados resultantes da correção de Lleonart *et al.* (2000) para alometria, devidamente convertidos para logaritmos decimais. Todas estas análises foram realizadas utilizando-se o programa *SPSS for Windows*. Além disso, foram estimados os coeficientes de alometria multivariada a partir da análise de componentes principais como especificado em Smith & Patton (1988).

Tabela II- Distribuição em classes de tamanho obtidas a partir das populações de jovens, adultos e geográficos para os pontos de coleta de Itaipu, Fortaleza e Sonar.

Classes de Tamanho mm	ITA	FTZ	SON
07 - 11	4	4	4
12 - 16	4	4	4
17 - 21	0	3	0
22 - 26	0	0	3
27 - 31	0	3	3
32 - 36	1	4	3
37 - 41	0	3	4
42 - 46	4	4	4
47 - 51	4	4	4
52 - 56	4	4	4
57 - 61	4	4	4
62 - 66	3	3	4
67 - 71	3	4	4
72 - 76	1	1	4
77 - 81	0	0	2
82 - 86	0	0	1
Totais	32	45	54

3.4.1- Análise das funções discriminantes

A análise das funções discriminantes fornece uma descrição das diferenças entre grupos que foram especificados *a priori*. Esses grupos podem ser espécies, populações da mesma espécie, classes de tamanho, grupos etários etc. Neste caso, procura-se verificar a relação da magnitude das diferenças entre os grupos com as diferenças dentro dos grupos. Assim são obtidos tantos eixos canônicos de variação, quanto o número de grupos menos um, que representam quantidades decrescentes de variação (Monteiro & Reis, 1999). É possível também estimar um ponto central no espaço das variáveis canônicas, o

centróide, com o qual se pode estimar a distância multivariada de Mahalanobis entre os centróides de cada grupo.

Uma maneira de determinar se a classificação *a priori* é refletida pela distribuição das observações no espaço das variáveis canônicas é a classificação cruzada, na qual cada observação é testada individualmente contra cada grupo. Assim, se a observação está mais próxima do seu grupo original diz-se que foi corretamente classificada. Uma classificação será incorreta quando a observação estiver mais próxima de outro grupo que não aquele definido *a priori* como sendo seu. A porcentagem de classificações corretas é uma clara indicação de quão bem os grupos podem ser separados usando as variáveis em questão (Manly, 1989). É preciso salientar que a classificação cruzada realizada aqui utilizou o algoritmo *jackknife*. Neste método, cada indivíduo é testado contra os centróides de cada uma das populações, que foram definidos sem levar em conta o indivíduo testado. Assim, o indivíduo testado não tem influência na definição do centróide de seu próprio grupo.

3.4.2- Análise de Componentes Principais (PCA)

O método de PCA (análise de componentes principais) consiste, basicamente, na redução das dimensões de uma matriz de dados. Isto é conseguido através da determinação de novas dimensões, os componentes principais. Cada componente é definido como um eixo, em um espaço n-dimensional, no qual cada dimensão representa uma variável estimada a partir de um ou mais conjuntos de dados. O primeiro componente estimado é, assim, um eixo orientado na direção de maior variação dos dados. O segundo componente é definido como um eixo ortogonal ao primeiro componente e orientado na direção da segunda maior variação dos dados. Os demais componentes são obtidos assim sucessivamente, como eixos ortogonais entre si, orientados na ordem decrescente da variação (Monteiro & Reis, 1999; Klaczko, 1992; Reis, 1988).

Uma vez estimados os componentes, são definidas as coordenadas de cada dado em relação a este novo sistema de eixos. Espera-se, assim, que toda a variação entre os conjuntos de dados seja definida com poucos componentes. Deste modo, o espaço multivariado, definido pelo número de variáveis tomadas, é transformado em um espaço com igual número de dimensões, no qual as

primeiras dimensões (os primeiros componentes principais) são aquelas responsáveis pela maior parte da variação observada. É possível, então, perceber padrões neste novo espaço multivariado que não seriam percebidos antes, devido ao grande número de dimensões originais, que não estão orientadas em relação à direção de maior variação.

Como é possível estimar a regressão entre as variáveis originais (na verdade seus valores expressos em logaritmos) e cada componente principal, o sentido de crescimento de cada variável pode ser determinado independentemente em relação aos eixos de maior variação. No caso particular da análise morfométrica, quando um componente principal apresenta correlação positiva com todas as variáveis (medidas do corpo), dizemos que este componente é um estimador do tamanho do corpo, pois se espera que, à medida que o organismo cresça, todas as medidas do seu corpo também apresentem crescimento. Na maioria dos estudos deste tipo, o primeiro componente (eixo de maior variação) está positivamente correlacionado com todas as medidas. Assim, este PC1 é definido como sendo o eixo que representa as diferenças devidas ao tamanho do corpo, enquanto a variação explicada pelos demais componentes está associada a diferenças de forma entre os organismos (Reis, 1988; Humphries *et al.*, 1981).

Para que a estimativa dos componentes principais seja possível, alguns cuidados devem ser tomados. Um deles é a transformação de cada medida em logaritmo decimal ou neperiano, para normalizar a distribuição dos dados e homogeneizar as variâncias (Bookstein *et al.*, 1985; Sokal & Rohlf, 1981; Moisimann & James, 1979). Outro cuidado é que, para a estimativa matemática dos coeficientes, seja utilizada a matriz de covariâncias entre os dados transformados em logaritmos (Jolicoeuer, 1963).

3.4.3- Estimativa dos Coeficientes de Alometria Multivariada

A equação de crescimento alométrico (*equação 2*) está definida em função de duas variáveis. Sua generalização para uma abordagem multivariada (Jolicoeuer, 1963) permite a estimativa de coeficientes de crescimento alométrico a partir da inclinação da reta de regressão de cada variável em relação ao componente principal que representa o tamanho. Jolicoeuer (1963) define que, em uma análise de componentes principais, o coeficiente de cada variável

sobre o PC1 indica como esta variável cresce em relação ao vetor de crescimento total do corpo. A isometria multivariada seria, então, matematicamente definida como um coeficiente de $1/\sqrt{p}$, onde p é o número de variáveis. Uma maneira mais simples de estimar um coeficiente de alometria multivariada consiste em normalizar os coeficientes de todas as medidas pela média destes coeficientes. Assim, coeficientes maiores que 1 corresponderiam a alometria positiva, enquanto aqueles menores que 1 determinariam a alometria negativa. A isometria seria correspondente a um índice alométrico de 1 (Smith & Patton, 1988).

Para caracterizar os padrões de crescimento alométrico em cada uma das 16 populações, análises de PCA para cada grupo isolado foram realizadas, obtendo-se assim os coeficientes de correlação entre os autovetores e cada medida. Com o objetivo de estimar o erro no cálculo dos coeficientes de correlação foi utilizado o procedimento conhecido como *jackknife*. Cada estimativa de PCA foi realizada 10 vezes, utilizando em cada rodada 80% dos dados, escolhidos ao acaso. Assim os coeficientes de correlação utilizados foram as médias entre os resultados em cada rodada e os erros definidos como o desvio padrão da média.

4. RESULTADOS

4.1- Coeficientes de correlação entre eventos de medição independentes

Após calcular os coeficientes de correlação entre dois eventos de medição para cada uma das medidas tomadas, apenas a medida **aam** (comprimento da cicatriz do músculo adutor anterior) teve coeficiente de correlação menor que 0,65 e, portanto, foi descartada. A Tabela III mostra a correlação entre as duas observações de cada medida além de identificar o instrumento de medição.

Tabela III- Correlação entre dois eventos independentes de medição para cada uma das medidas tomadas neste trabalho. São identificados os instrumentos de medição.

Medida	Coeficiente de Correlação		Observação
	Paquímetro	Lupa	
Ls	1,00	-	Apenas com paquímetro
Aam	0,32	-	Excluída
Crp	0,88	-	Apenas em geográficos
Dpr	0,92	0,92	-
Hei	0,90	-	Apenas com paquímetro
Hp	0,70	-	Apenas com paquímetro
Lar	0,75	0,97	-
Lig	0,75	0,98	-
Pal	0,71	0,73	-
Pap	0,98	0,83	-
Pav	0,97	0,99	-
Wid	0,93	-	Apenas com paquímetro

4.2- Variação geográfica

4.2.1- Análise das funções discriminantes

Na Tabela IV são mostrados os porcentuais de indivíduos classificados corretamente em cada grupo após o procedimento de validação cruzada, para cada uma das três análises realizadas: dados logarítmicos, correção pela razão do comprimento e correção de Lleonart *et al.* (2000) para alometria.

Tabela IV- Matriz de classificação obtida da análise de discriminante, mostrando os porcentuais de indivíduos classificados em cada grupo. A diagonal representa os porcentuais de indivíduos corretamente classificados. A) Dados logarítmicos; B) Dados corrigidos pela razão do comprimento e C) Dados corrigidos pelo método de Leonart *et al.* (2000).

Grupo Original	Grupo previsto										Total	
	(A)	AFR	MAC	VIT	PBV	ITA	BUZ	FRN	FTZ	JAC	SON	
AFR	71,1	0,0	5,3	0,0	5,3	0,0	15,8	2,6	0,0	0,0	100,0	
MAC	0,0	77,8	0,0	0,0	2,2	6,7	2,2	8,9	0,0	2,2	100,0	
VIT	2,2	0,0	66,7	0,0	22,2	2,2	0,0	4,4	0,0	2,2	100,0	
PBV	0,0	4,5	0,0	72,7	2,3	0,0	4,5	11,4	0,0	4,5	100,0	
ITA	2,4	7,1	26,2	4,8	45,2	2,4	9,5	0,0	0,0	2,4	100,0	
BUZ	0,0	0,0	0,0	4,8	4,8	73,8	0,0	0,0	2,4	14,3	100,0	
FRN	4,9	0,0	4,9	0,0	14,6	9,8	61,0	2,4	0,0	2,4	100,0	
FTZ	2,3	16,3	0,0	9,3	0,0	9,3	0,0	53,5	0,0	9,3	100,0	
JAC	2,1	2,1	2,1	0,0	0,0	2,1	0,0	0,0	91,5	0,0	100,0	
SON	0,0	6,5	8,7	13,0	0,0	13,0	2,2	6,5	0,0	50,0	100,0	
(B)	AFR	51,4	5,4	18,9	0,0	13,5	0,0	8,1	2,7	0,0	0,0	100,0
MAC	2,2	66,7	0,0	2,2	4,4	6,7	2,2	13,3	0,0	2,2	100,0	
VIT	22,2	0,0	51,1	0,0	20,0	2,2	0,0	4,4	0,0	0,0	100,0	
PBV	0,0	18,2	0,0	63,6	2,3	2,3	2,3	6,8	0,0	4,5	100,0	
ITA	4,8	11,9	19,0	0,0	40,5	2,4	19,0	0,0	0,0	2,4	100,0	
BUZ	0,0	2,4	0,0	2,4	2,4	73,8	2,4	2,4	0,0	14,3	100,0	
FRN	4,9	0,0	2,4	0,0	17,1	12,2	61,0	2,4	0,0	0,0	100,0	
FTZ	2,3	18,6	0,0	11,6	0,0	7,0	2,3	46,5	0,0	11,6	100,0	
JAC	0,0	0,0	2,1	2,1	0,0	0,0	0,0	2,1	93,6	0,0	100,0	
SON	0,0	8,7	4,3	19,6	0,0	8,7	2,2	6,5	0,0	50,0	100,0	
(C)	AFR	71,1	2,6	5,3	2,6	5,3	0,0	7,9	0,0	0,0	5,3	100,0
MAC	0,0	62,2	2,2	0,0	0,0	8,9	2,2	24,4	0,0	0,0	100,0	
VIT	4,4	2,2	62,2	0,0	8,9	0,0	8,9	6,7	0,0	6,7	100,0	
PBV	2,3	6,8	2,3	70,5	2,3	4,5	0,0	4,5	0,0	6,8	100,0	
ITA	14,3	4,8	4,8	9,5	31,0	2,4	31,0	2,4	0,0	0,0	100,0	
BUZ	0,0	0,0	0,0	4,8	4,8	78,6	0,0	2,4	0,0	9,5	100,0	
FRN	7,3	7,3	12,2	0,0	19,5	7,3	46,3	0,0	0,0	0,0	100,0	
FTZ	2,3	14,0	2,3	11,6	2,3	2,3	0,0	55,8	0,0	9,3	100,0	
JAC	0,0	2,1	2,1	0,0	0,0	2,1	0,0	2,1	91,5	0,0	100,0	
SON	0,0	6,5	6,5	21,7	2,2	6,5	2,2	10,9	0,0	43,5	100,0	

Para os dados logarítmicos, a análise das funções discriminantes para as dez populações geográficas demonstrou que a morfologia expressa pelo conjunto de medidas tomadas é eficiente no sentido de identificar as populações. Na validação cruzada 66,5% dos indivíduos é classificado no seu grupo de origem. A população de Jaconé apresenta o melhor porcentual de classificações corretas (91,5%), enquanto Itaipu o menor (45,2%).

Devido às variações de tamanho entre os indivíduos de cada população, uma nova análise de discriminante foi realizada, agora utilizando os dados corrigidos pela razão do comprimento, como indicado pela *equação 1* descrita

em **MATERIAL E MÉTODOS** desta tese. Foi possível observar que a classificação piora. Neste caso, o total de indivíduos corretamente classificados cai para 50,6%, embora a pior classificação continue sendo aquela da população de Itaipu (40,5%), sendo a melhor ainda aquela da população de Jaconé (93,6%). Este fato sugere que as diferenças de tamanho entre as populações têm influência na discriminação entre elas, uma vez que houve uma menor discriminação total quando os dados foram normalizados pelo comprimento.

Uma vez que os dados foram transformados pela correção para alometria de Lleonart *et al.* (2000), a discriminação também piora em relação aos dados não corrigidos. Já em relação aos dados corrigidos pela razão do comprimento, o novo procedimento piora a classificação em 50% dos casos, embora melhore nos outros 50%. A melhor discriminação obtida permanece sendo para a população de Jaconé (91,5%) e a pior para a população de Itaipu (31,0%).

As análises de discriminante das 10 populações geográficas permitiram a dedução de 9 funções canônicas. Nos três casos (dados logarítmicos, razão do comprimento e correção de Lleonart *et al.*, 2000), as duas primeiras funções canônicas representam pouco mais de 80% da variação total observada. Assim sendo, qualquer das duas correções não influenciam tanto a distribuição dos organismos pelo espaço definido pelas funções canônicas. A Tabela V mostra os porcentuais da variação explicada para as duas primeiras funções canônicas em cada uma das três análises realizadas.

Tabela V- Porcentuais da variação explicada para as duas primeiras funções canônicas em cada análise. A) Dados logarítmicos; B) Dados corrigidos pela razão do comprimento e C) Dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000).

DADOS	1 ^a Função	2 ^a Função	Variacão Total
A	52,7 %	27,3%	80,0%
B	56,9%	28,7%	85,6%
C	57,6%	26,0%	83,6%

A Figura 3 mostra a plotagem de cada população em função das duas primeiras funções canônicas nos três casos: dados logarítmicos, correção pela razão do comprimento e correção de Lleonart *et al.* (2000) para alometria.

A partir dos centróides de cada população foi possível estimar a distância de Mahalanobis (D^2) entre as dez populações. As matrizes de D^2 entre as dez populações nos três casos estudados são vistas na Tabela VI. Utilizando as matrizes de D^2 foi possível construir os dendrogramas, pelo método de UPGMA, que são vistos na Figura 4. A observação dos dendrogramas, em todos as três análises realizadas, evidencia a formação de dois grupos: (1) Búzios, Fortaleza, Sonar, Praia Brava e (2) África, Forno, Itaipu, Vitória. A população de Jaconé aparece, em todos os três casos, sempre como um grupo afastado dos demais.

Tabela VI- Distâncias de Mahalanobis (D^2), calculadas dois a dois entre as dez populações geográficas de *Perna perna* estudadas nesta tese. (A) dados logarítmicos, (B) dados corrigidos pela razão do comprimento, (B) dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000). Todas as distâncias são significativas ($P < 0,0001$) para um teste monocaudal. As exceções estão marcadas com *.

(A)	AFR	BUZ	FRN	FTZ	ITA	JAC	MAC	PBV	SON	VIT
AFR		16,470	6,679	11,101	3,924	44,968	10,432	11,073	19,396	3,532
BUZ	16,470		11,314	5,253	9,986	39,420	7,123	7,506	5,047	10,453
FRN	6,679	11,314		10,853	3,082	36,687	10,809	12,045	16,141	6,810
FTZ	11,101	5,253	10,853		9,382	30,797	2,910	2,797	4,308	8,706
ITA	3,924	9,986	3,082	9,382		41,111	5,663	11,040	14,591	1,661
JAC	44,968	39,420	36,687	30,797	41,111		31,829	35,353	45,222	44,565
MAC	10,432	7,123	10,809	2,910	5,663	31,829		4,910	6,516	5,178
PBV	11,073	7,506	12,045	2,797	11,040	35,353	4,910		3,906	10,317
SON	19,396	5,047	16,141	4,308	14,591	45,222	6,516	3,906		14,421
VIT	3,532	10,453	6,810	8,706	1,661	44,565	5,178	10,317	14,421	
(B)	AFR	BUZ	FRN	FTZ	ITA	JAC	MAC	PBV	SON	VIT
AFR		7,303	6,272	9,049	2,377	37,525	6,389	11,488	16,018	2,638
BUZ	7,303		7,385	3,760	4,486	43,094	3,201	6,380	4,276	6,572
FRN	6,272	7,385		10,568	2,041	38,424	10,702	17,740	17,255	9,337
FTZ	9,049	3,760	10,568		7,954	36,090	4,341	7,814	5,808	11,228
ITA	2,377	4,486	2,041	7,954		41,158	6,487	13,589	13,438	4,635
JAC	37,525	43,094	38,424	36,090	41,158		29,061	30,493	46,408	39,119
MAC	6,389	3,201	10,702	4,341	6,487	29,061		2,727	4,801	4,194
PBV	11,488	6,380	17,740	7,814	13,589	30,493	2,727		4,895	8,417
SON	16,018	4,276	17,255	5,808	13,438	46,408	4,801	4,895		12,936
VIT	2,638	6,572	9,337	11,228	4,635	39,119	4,194	8,417	12,936	
(C)	AFR	BUZ	FRN	FTZ	ITA	JAC	MAC	PBV	SON	VIT
AFR		11,880	3,767	10,774	2,258	36,479	12,290	10,107	14,285	3,093
BUZ	11,880		9,861	7,389	7,959	42,727	5,216	7,204	4,193	5,506
FRN	3,767	9,861		11,236	0,885*	33,475	8,355	10,785	13,019	3,741
FTZ	10,774	7,389	11,236		8,109	29,404	2,185	2,620	3,510	5,342
ITA	2,258	7,959	0,885*	8,109		35,016	7,124	8,033	10,130	2,364
JAC	36,479	42,727	33,475	29,404	35,016		25,410	33,317	44,359	33,747
MAC	12,290	5,216	8,355	2,185	7,124	25,410		4,639	4,670	5,120
PBV	10,107	7,204	10,785	2,620	8,033	33,317	4,639		2,518	6,232
SON	14,285	4,193	13,019	3,510	10,130	44,359	4,670	2,518		6,921
VIT	3,093	5,506	3,741	5,342	2,364	33,747	5,120	6,232	6,921	

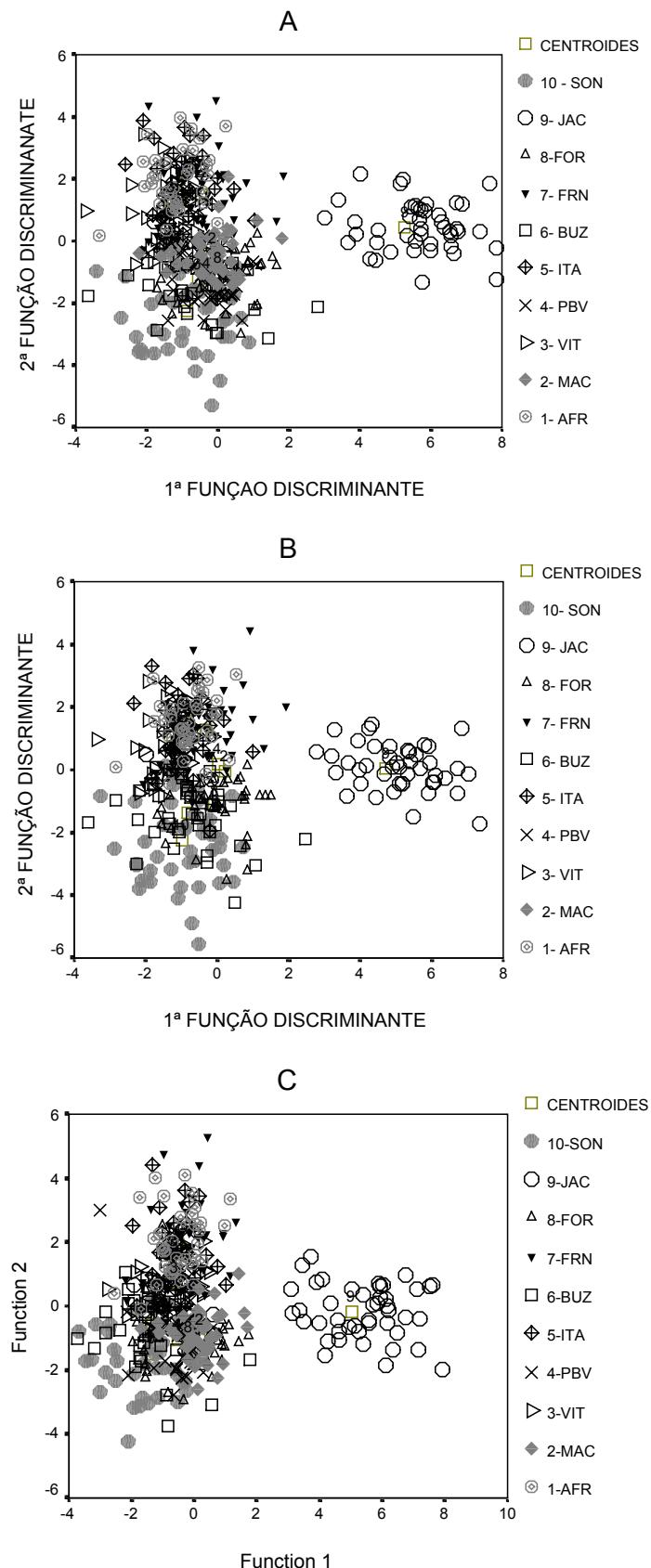


Figura 3- Plotagem de cada população geográfica em função das duas primeiras funções canônicas. (A) Dados logarítmicos, (B) dados corrigidos pela razão do comprimento e (C) dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000).

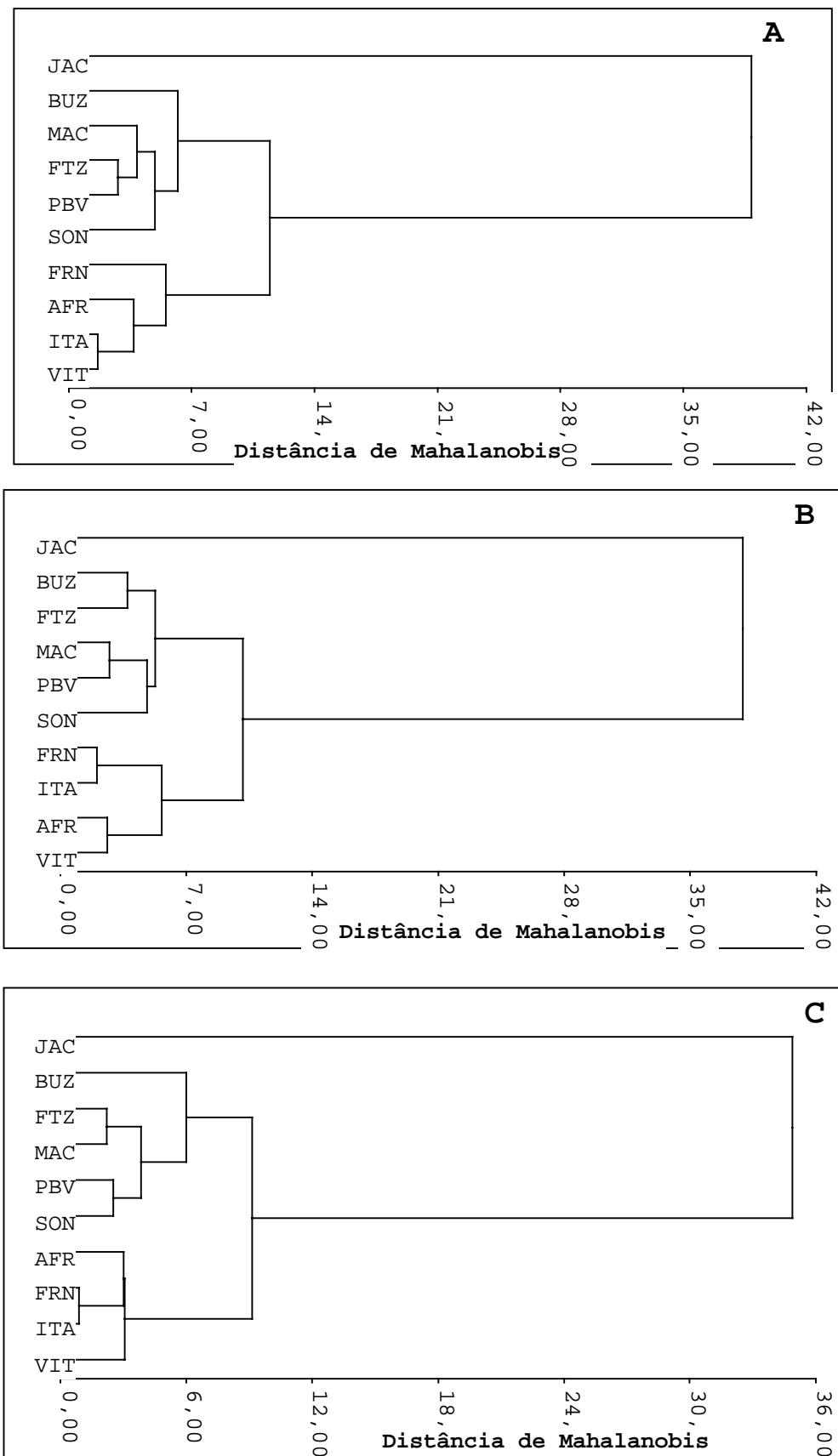


Figura 4- Dendrogramas obtidos pelo método de UPGMA a partir das distâncias de Mahalanobis calculadas entre as dez populações geográficas. (A) Dados logarítmicos, (B) Dados corrigidos pela razão do comprimento e (C) Dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000).

4.2.2- Análise de Componentes Principais

Os coeficientes de correlação entre cada medida e cada um dos três primeiros componentes podem ser vistos na Tabela VII, para as três análises realizadas: dados logarítmicos, correção pela razão do comprimento e correção de Lleonart *et al.* (2000) para alometria.

Tabela VII- Coeficientes de correlação entre cada variável e os três primeiros componentes principais para as três análises. Os valores em negrito correspondem aos coeficientes do componente positivamente correlacionado a todas as variáveis.

	DADOS LOGARÍTIMICOS			RAZÃO LOGARÍTIMICA			CORREÇÃO DE LLEONART <i>et al</i> (2000)		
	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3
LS	0,819	-0,039	0,043	-	-	-	-	-	-
HEI	0,771	-0,070	-0,033	0,649	0,099	0,614	-0,003	0,584	0,081
WID	0,874	-0,132	0,066	0,778	-0,105	0,294	-0,146	0,388	0,125
LAR	0,819	0,987	-0,019	0,221	0,943	-0,246	0,983	0,052	-0,168
LIG	0,776	-0,049	-0,011	0,678	0,060	0,486	-0,106	0,390	0,112
HP	0,327	0,065	0,929	0,257	0,100	0,167	0,519	0,033	0,848
DPR	0,779	-0,038	-0,078	0,748	-0,085	0,056	-0,057	0,612	0,039
PAV	0,660	-0,047	-0,196	0,612	0,085	0,535	-0,109	0,248	-0,160
PAP	0,526	-0,018	0,056	0,660	0,116	0,572	0,059	0,228	-0,030
PAL	0,813	-0,032	0,022	0,464	-0,018	0,152	0,098	0,197	0,021
WEIT	0,973	-0,118	-0,027	0,747	-0,390	-0,532	-0,185	0,885	0,011
CRP	0,761	0,063	-0,173	0,727	0,051	0,104	0,072	0,608	-0,131
Variação %	49,66	24,96	6,71	34,014	27,84	16,95	39,97	17,37	11,49
Total %			81,33			78,80			68,83

A análise de componentes principais para os dez grupos geográficos usando-se os dados logarítmicos, mostra que 81,33% da variação pode ser explicada pelos três primeiros componentes. O primeiro componente é responsável por 49,66% da variação total e apresenta correlação positiva com todas as variáveis, sendo, portanto, um estimador do tamanho total do corpo. Os demais componentes apresentam correlações positivas e negativas com as variáveis, sendo representativos da forma multivariada. A distribuição dos grupos ao longo dos dois primeiros componentes principais demonstra que as populações apresentam-se espalhadas ao longo do primeiro componente, de modo que não podem ser facilmente classificadas. A distribuição ao longo do segundo componente, entretanto, indica claramente a existência de dois grupos: a população de Jaconé e as outras (Figura 5A).

A análise de componentes principais realizada com os dados corrigidos pela razão do comprimento (*equação 1*) mostra que a diferença de forma entre as dez populações é mantida e, a variação explicada pelo primeiro componente, passa a ser menor (34,01%). A variação explicada pelos 3 primeiros componentes cai para 78,80% (Tabela VII). A distribuição dos organismos no espaço definido pelos dois primeiros componentes continua mantendo a mesma topologia, porém com um espalhamento bem menor, reforçando a idéia de que parte das diferenças entre as populações deve-se às diferenças de tamanho. No entanto, os dois grupos observados em relação ao segundo componente se mantêm, ou seja, Jaconé e as outras populações (Figura 5B).

Quando aplicado o método de correção para alometria de Lleonart *et al* (2000), a variação explicada pelos 3 primeiros componentes passa a ser 68,83%, sendo o primeiro componente responsável por 39,97%. Agora, o segundo componente, responsável por 17,38% da variação é o componente positivamente associado a todas as variáveis, enquanto o primeiro componente apresenta correlação negativa com seis das onze variáveis. Isto indica que a quantidade de variação que pode ser explicada pelo tamanho diminui, não sendo esta mais a principal fonte de variação entre os dados (Tabela VII). A Figura 5 mostra a plotagem dos indivíduos das 10 populações geográficas contra os dois primeiros componentes principais nos três casos analisados.

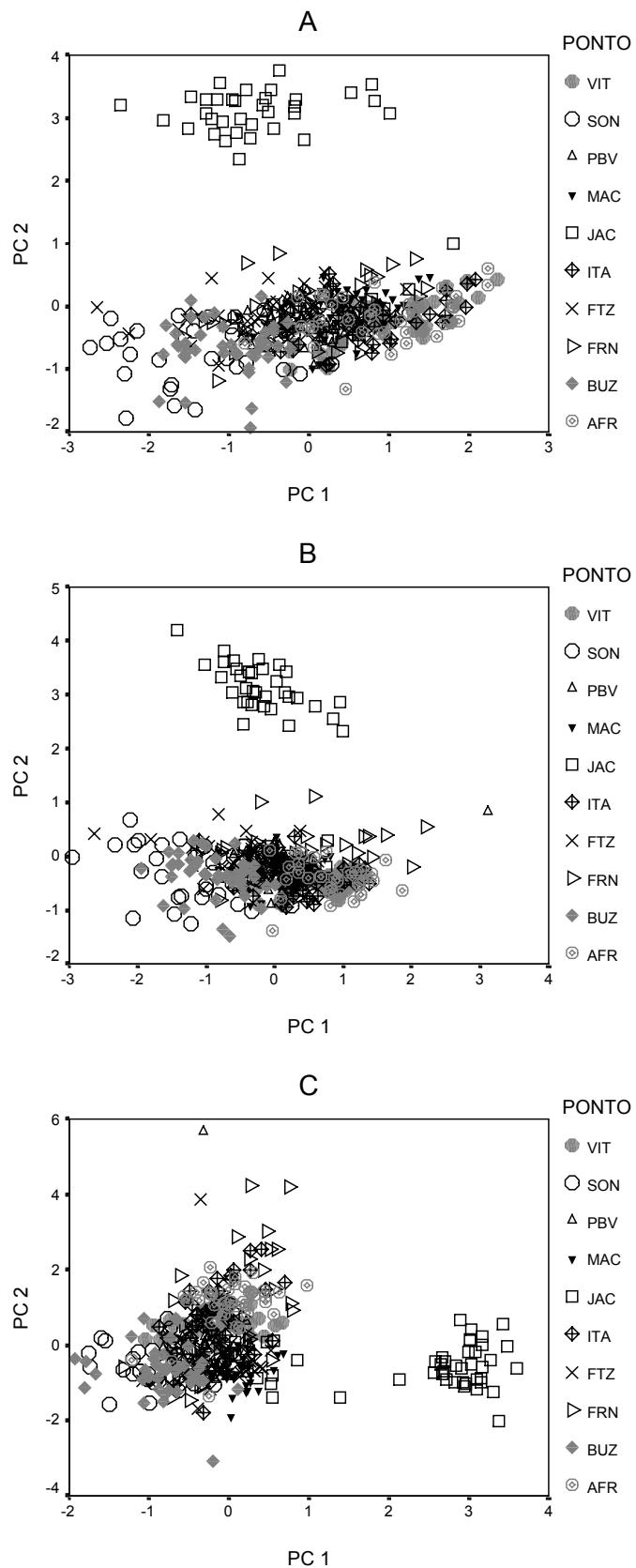


Figura 5- Plotagem dos indivíduos das 10 populações geográficas contra os dois primeiros componentes principais. A) Dados logarítmicos; B) Dados corrigidos pela razão do comprimento e C) Dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000).

4.2.3- Estimativa dos Coeficientes de Alometria Multivariada

Para estimativa dos coeficientes de alometria multivariada foi realizada, com os dados logarítmicos, uma análise de componentes principais para cada população geográfica isoladamente. Os resultados das análises de PCA indicam que entre 33,14% (BUZ) e 75,54% (VIT) da variação podem ser explicadas pelo primeiro componente, como pode ser visto na Tabela VIII.

Tabela VIII – Porcentuais da variação explicados pelos três primeiros componentes principais para cada uma das dez populações geográficas.

POPULAÇÃO	PC1	PC2	PC3	TOTAL
AFR	66,79	8,41	7,42	82,62
MAC	45,35	17,40	13,91	76,66
VIT	75,54	6,60	5,30	87,44
PBV	37,80	19,96	12,57	70,33
ITA	64,03	10,91	8,34	83,28
BUZ	33,14	25,34	12,82	71,30
FRN	55,37	14,19	10,37	79,93
FTZ	60,96	13,60	7,37	81,93
JAC	68,03	15,48	8,00	91,51
SON	63,99	17,18	6,20	87,37

A Tabela IX mostra os coeficientes de correlação de cada medida em relação ao PC1 extraídos para cada uma das 10 populações geográficas. Em oito das dez populações, o PC1 encontra-se positivamente correlacionado com todas as variáveis. A variável **lar** apresenta correlação negativa com o PC1 em duas das populações estudadas: Búzios (-0,171) e Jaconé (-0,907). A partir das correlações entre cada medida e o PC1 das dez populações geográficas, foram estimados os coeficientes de alometria multivariada, utilizando a metodologia de Smith & Patton (1988). A Tabela X apresenta estes coeficientes de alometria, após a normalização pela média, e a Figura 6 apresenta um gráfico onde são mostradas as médias dos coeficientes alométricos multivariados para as dez populações e as 12 características morfológicas estudadas.

As dez populações apresentam um perfil de coeficientes de alometria multivariada absolutamente diferentes. Não foi possível perceber nenhum padrão nestes perfis.

Tabela IX – Médias dos coeficientes de correlação entre cada variável e o PC1 após aplicação do método *jackknife*, para cada uma das dez populações geográficas estudadas. **d** – desvio – padrão. As demais abreviaturas estão definidas na Tabela I e Figura 2.

Variável	AFR	d	BUZ	d	FRN	d	FOR	d	ITA	d	JAC	d	MAC	d	PBV	d	SON	d	VIT	d
LS	0,165	0,099	0,007	0,007	0,105	0,048	0,184	0,110	0,023	0,002	0,146	0,010	0,023	0,002	0,072	0,029	0,233	0,006	0,025	0,000
HEI	0,133	0,080	0,057	0,016	0,304	0,141	0,083	0,049	0,022	0,003	0,127	0,007	0,015	0,002	0,009	0,004	0,153	0,010	0,020	0,001
WID	0,170	0,101	0,008	0,006	0,090	0,044	0,163	0,097	0,021	0,003	0,141	0,010	0,024	0,004	0,019	0,006	0,257	0,004	0,019	0,001
LAR	0,180	0,109	-0,012	0,004	0,269	0,125	0,150	0,089	0,025	0,006	-0,649	0,022	0,028	0,002	0,011	0,005	0,279	0,019	0,036	0,001
LIG	0,196	0,117	0,061	0,020	0,072	0,035	0,184	0,111	0,027	0,004	0,116	0,012	0,049	0,013	0,023	0,018	0,184	0,012	0,025	0,001
HP	0,126	0,077	0,009	0,006	0,057	0,032	0,093	0,057	0,011	0,006	0,542	0,016	0,016	0,003	0,012	0,006	0,081	0,012	0,009	0,002
DPR	0,094	0,056	0,012	0,004	0,127	0,060	0,113	0,068	0,027	0,004	0,112	0,008	0,013	0,002	0,011	0,008	0,203	0,007	0,028	0,002
PAV	0,258	0,155	0,009	0,008	0,191	0,088	0,105	0,065	0,028	0,005	0,048	0,041	0,007	0,004	0,003	0,004	0,210	0,007	0,018	0,001
PAL	0,100	0,060	0,012	0,009	0,202	0,095	0,103	0,062	0,025	0,007	0,129	0,013	0,023	0,002	0,013	0,007	0,201	0,046	0,022	0,001
WEIT	0,493	0,295	0,025	0,027	0,551	0,258	0,463	0,276	0,064	0,007	0,409	0,026	0,060	0,005	0,037	0,014	0,711	0,016	0,061	0,001
CRP	0,202	0,124	0,003	0,009	0,259	0,123	0,141	0,085	0,034	0,003	0,075	0,019	0,016	0,002	0,013	0,009	0,224	0,026	0,025	0,002
PAP	0,156	0,096	0,007	0,008	0,190	0,088	0,390	0,239	0,022	0,003	0,150	0,009	0,021	0,001	0,011	0,006	0,266	0,006	0,024	0,001

Tabela X - Coeficientes de alometria multivariada para cada uma das dez populações geográficas . As abreviaturas estão definidas na Tabela I e Figura 2.

Variável	AFR	BUZ	FRN	FOR	ITA	JAC	MAC	PBV	SON	VIT
LS	0,869	0,381	0,521	1,015	0,834	1,303	0,938	3,705	0,930	0,953
HEI	0,703	3,438	1,511	0,459	0,789	1,132	0,617	0,442	0,612	0,761
WID	0,898	0,490	0,448	0,903	0,750	1,257	0,991	0,951	1,028	0,723
LAR	0,949	-0,734	1,333	0,829	0,898	-5,787	1,130	0,557	1,115	1,382
LIG	1,037	3,734	0,357	1,019	1,004	1,037	2,013	1,165	0,735	0,972
HP	0,667	0,533	0,285	0,512	0,412	4,831	0,638	0,613	0,324	0,355
DPR	0,494	0,754	0,629	0,622	0,973	1,000	0,516	0,577	0,810	1,075
PAV	1,361	0,536	0,948	0,580	1,019	0,428	0,281	0,160	0,840	0,701
PAL	0,529	0,709	1,005	0,568	0,922	1,149	0,928	0,690	0,805	0,836
WEIT	2,602	1,530	2,736	2,559	2,322	3,646	2,432	1,914	2,841	2,351
CRP	1,069	0,202	1,287	0,778	1,260	0,669	0,670	0,648	0,897	0,953
PAP	0,869	0,381	0,521	1,015	0,834	1,303	0,938	3,705	0,930	0,953

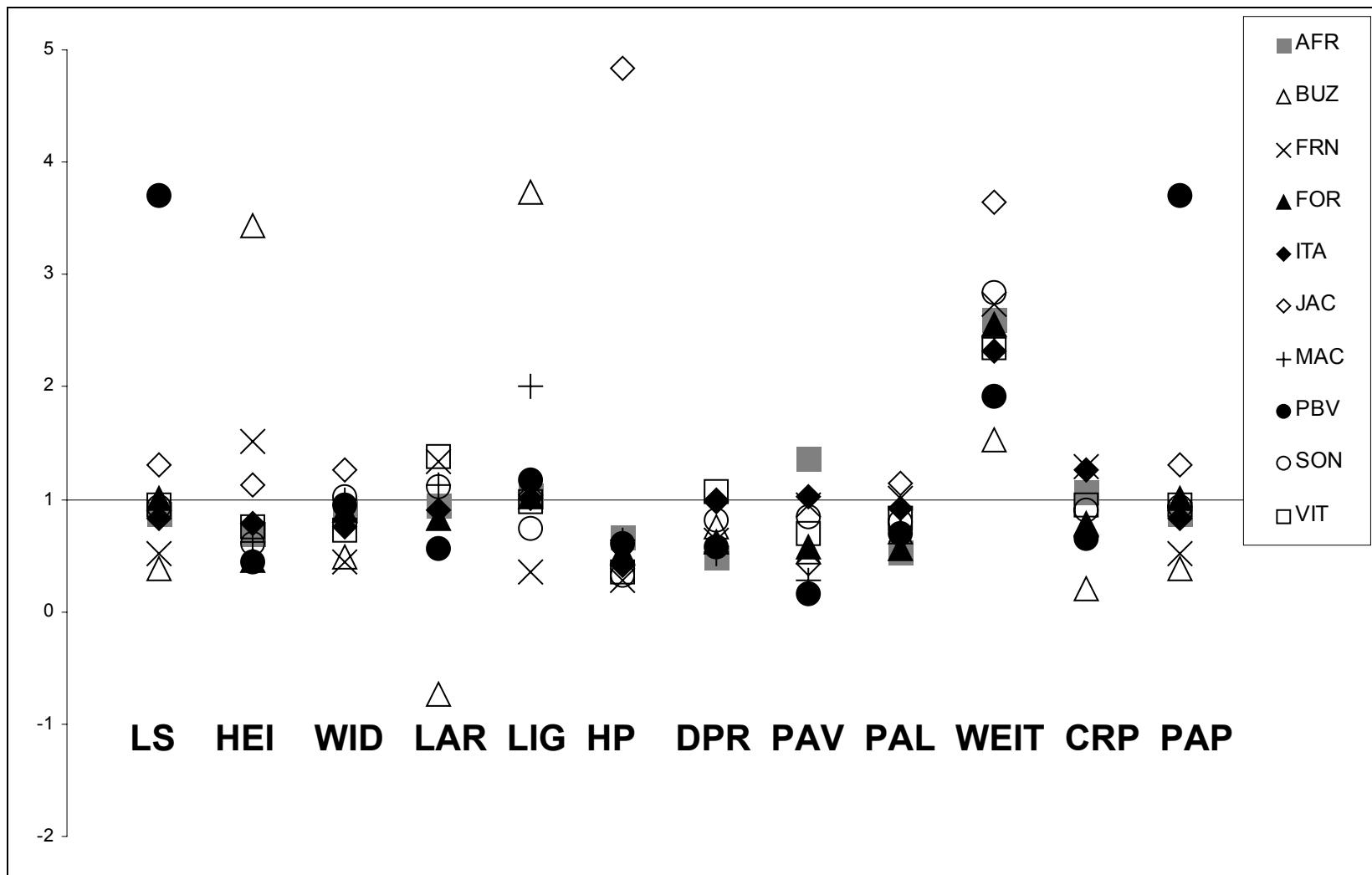


Figura- 6 Coeficientes de alometria multivariada das dez populações geográficas para as doze características estudadas. As abreviaturas para as populações encontram-se na **Tabela I** e as abreviaturas para as características encontram-se na **Figura 2**. A linha horizontal indica o valor para isometria.

4.3- Jovens e adultos

Uma vez que o efeito do tamanho já havia sido identificado como muito importante nas análises realizadas com as populações geográficas, no trabalho com as populações de jovens e adultos, optou-se sempre por utilizar para as análises os dados corrigidos pela razão do comprimento e pelo método de Lleonart *et al.* (2000) para alometria.

4.3.1- Análise das funções discriminantes

A Tabela XI mostra a matriz de classificação para as populações de jovens e adultos dos pontos da Fortaleza, Sonar e Itaipu nos dois casos estudados: correção pela razão do comprimento e correção de Lleonart *et al.* (2000) para alometria.

Quando os dados foram corrigidos pela razão do comprimento, a análise de discriminante para as populações de jovens e adultos dos pontos de Itaipu, Sonar e Fortaleza demonstrou que, como no caso das populações geográficas, a morfologia, expressa pelas medidas tomadas, foi eficiente em identificar as seis populações. Neste caso, como a diferença de tamanho é muito grande, pode-se observar uma perfeita discriminação entre as populações de jovens e adultos, não havendo, portanto, indivíduos jovens erroneamente classificados como adultos ou vice-versa. Estes resultados demonstram que há um forte efeito alométrico, pois a correção pela *equação I* não é suficiente para aproximar as populações de extremos de tamanho.

Tabela XI- Matriz de classificação obtida da análise de discriminante mostrando os porcentuais de indivíduos classificados em cada grupo, quando utilizada a correção pela razão do comprimento (A) e quando utilizado o método de Lleonart *et al* (2000) (B). A diagonal representa os porcentuais de indivíduos corretamente classificados.

Grupo Original		Grupo Previsto					Total	
(A)		FJ	FA	SJ	SA	IJ	IA	
FJ		74,4	0,0	13,3	0,0	12,2	0,0	100,0
FA		0,0	73,2	0,0	0,0	0,0	26,8	100,0
SJ		17,6	0,0	63,7	0,0	17,6	1,1	100,0
SA		0,0	44,1	0,0	55,9	0,0	0,0	100,0
IJ		19,3	0,0	10,5	0,0	70,2	0,0	100,0
IA		0,0	1,4	0,0	0,0	0,0	98,6	100,0
(B)		FJ	FA	SJ	SA	IJ	IA	
FJ		100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
FA		0,0	85,7	0,0	3,6	3,6	7,1	100,0
SJ		0,0	2,2	97,8	0,0	0,0	0,0	100,0
SA		0,0	0,0	0,0	93,2	1,7	5,1	100,0
IJ		0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
IA		0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	98,6	100,0

A melhor classificação entre adultos é aquela da população de Itaipu, com 98,6% de indivíduos corretamente classificados, e a pior aquela da população do Sonar, com 55,9% de indivíduos corretamente classificados. Entre os jovens, a melhor classificação obtida foi a de Fortaleza, com 74,4% dos indivíduos corretamente classificados, sendo a pior mais uma vez a população do Sonar, com 63,7% dos indivíduos corretamente classificados.

Após a correção de Lleonart *et al.* (2000), ocorre superposição entre adultos do Sonar, que são confundidos com jovens de Itaipu (1,7%) e adultos de Fortaleza, que são confundidos com jovens de Itaipu (3,6%). Uma vez que indivíduos originados de duas populações de adultos (Sonar e Fortaleza), são incorretamente classificados como originados da população de jovens de Itaipu, pode-se inferir que a correção de Lleonart *et al.* (2000) diminuiu o efeito de tamanho. A morfologia dos grupos que apresentam extremos de tamanho fica aproximada. A matriz de classificação obtida agora é muito mais eficiente, chegando a 100% de classificações corretas para as populações de Fortaleza Jovens e Itaipu Jovens e 97,8% para população de Sonar Jovens. A menor porcentagem de classificações corretas foi aquela obtida para a população de Fortaleza Adultos (85,7%).

A análise de discriminante forneceu cinco funções canônicas. A Figura 7 mostra a plotagem dos escores das duas primeiras funções canônicas para as análises com os dados corrigidos pela razão do comprimento e pelo método de Lleonart *et al.* (2000).

Quando as funções canônicas são extraídas com os dados corrigidos pela razão do comprimento, apenas dois grupos podem ser percebidos, os jovens e os adultos. No entanto, quando as funções canônicas são obtidas com os dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000), pode-se observar uma melhor discriminação de todos as seis populações. Mais ainda, as três populações de jovens formam três grupos claramente distintos.

A partir das análises de discriminante realizadas com os dados corrigidos pela razão do comprimento e pela correção para alometria de Lleonart *et al.* (2000), foram calculadas as distâncias de Mahalanobis (D^2) entre as seis populações. Os valores de D^2 são mostrados na Tabela XII. A partir das D^2 , foram construídos os dendrogramas, pelo método de UPGMA, mostrados na Figura 8.

A observação do dendrograma A, que ilustra as relações obtidas quando os dados são corrigidos pela razão do comprimento, mostra claramente a formação de dois grupos: os jovens e os adultos. Neste caso a D^2 entre jovens e adultos de quaisquer locais é sempre a maior que entre jovens e entre adultos. Entre jovens e adultos de Itaipu, 82,56; entre jovens e adultos de fortaleza, 82,33 e entre jovens e adultos do Sonar, 102,11. A distância de Mahalanobis entre os dois grupos é de 280,00, muito maior que as distâncias dentro dos grupos. No entanto, o dendrograma B, que ilustra as relações obtidas após a correção pelo método de Lleonart *et al.* (2000), já mostra os jovens totalmente afastados entre si. Os jovens e adultos de Itaipu formam o grupo com a menor D^2 (9,99). Os jovens do Sonar e os jovens de Fortaleza apresentam-se como grupos externos, com grandes distâncias entre si (49,30) e em relação aos adultos dos mesmos locais (99,63 entre SJ e SA e 95,43 entre FJ e FA). Os adultos de Sonar e de Fortaleza apresentam-se mais próximos entre si e do grupo de Itaipu que dos jovens dos mesmos locais.

Tabela XII –Distâncias de Mahalanobis entre as populações de jovens e adultos para os três locais estudados. Acima da diagonal encontram-se os dados corrigidos pela razão do comprimento e abaixo da diagonal, os dados corrigidos pelo método de correção de Lleonart *et al.* (2000). Todos os valores são significativos ao nível de 5% para um teste moncaudal.

	FA	FJ	IA	IJ	SA	SJ
FA		82,335	1,851	95,192	6,872	84,523
FJ	95,431		70,007	3,951	102,554	2,990
IA	17,366	39,231		82,570	11,734	73,818
IJ	24,107	62,044	9,993		114,949	4,591
SA	28,493	49,302	17,984	24,520		102,111
SJ	38,643	140,238	54,134	80,860	99,637	

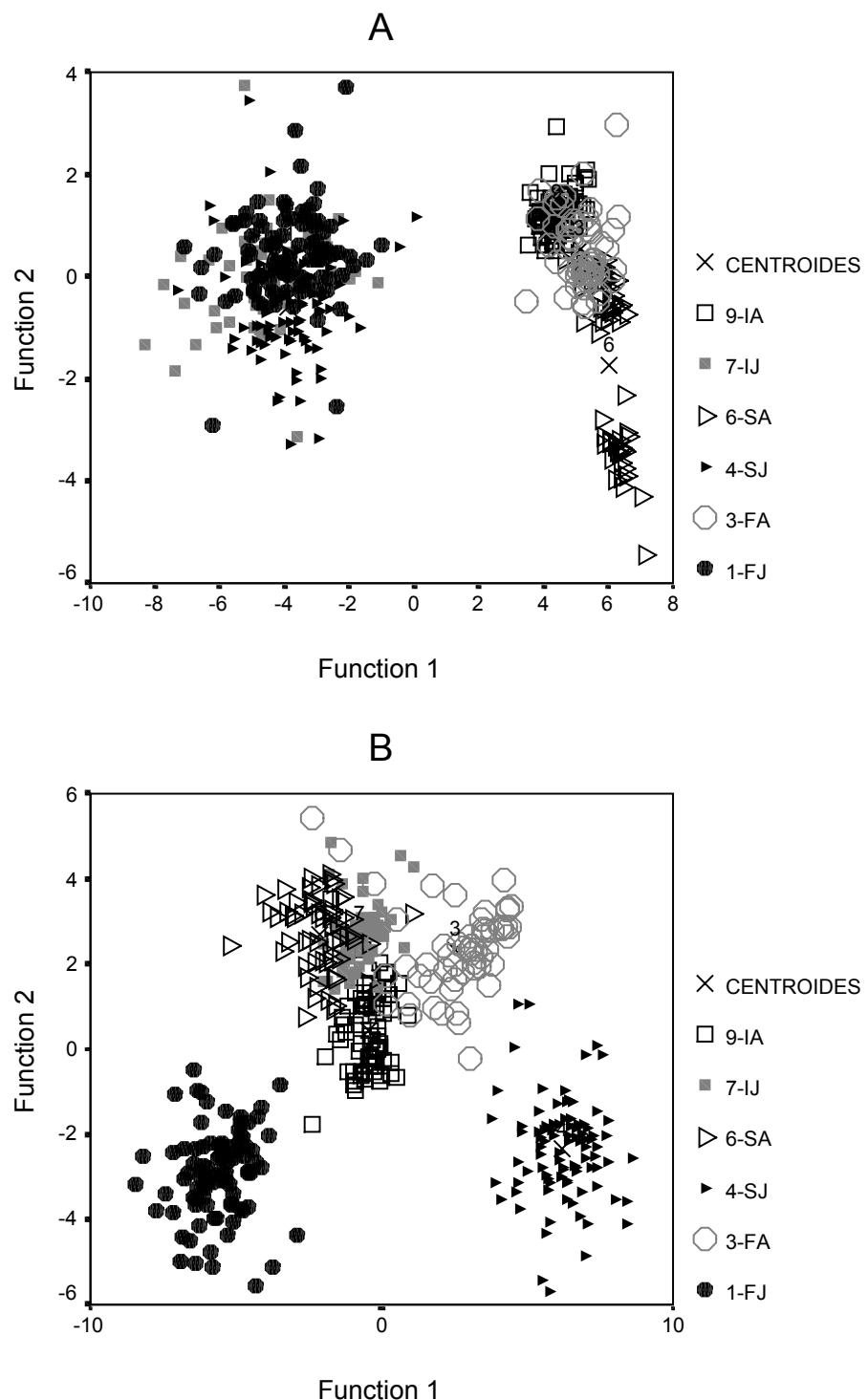


Figura 7 – Plotagem das seis populações de jovens e adultos em função das duas primeiras funções canônicas, resultantes da análise de discriminante. (A) dados corrigidos pela razão do comprimento e (B) dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000).

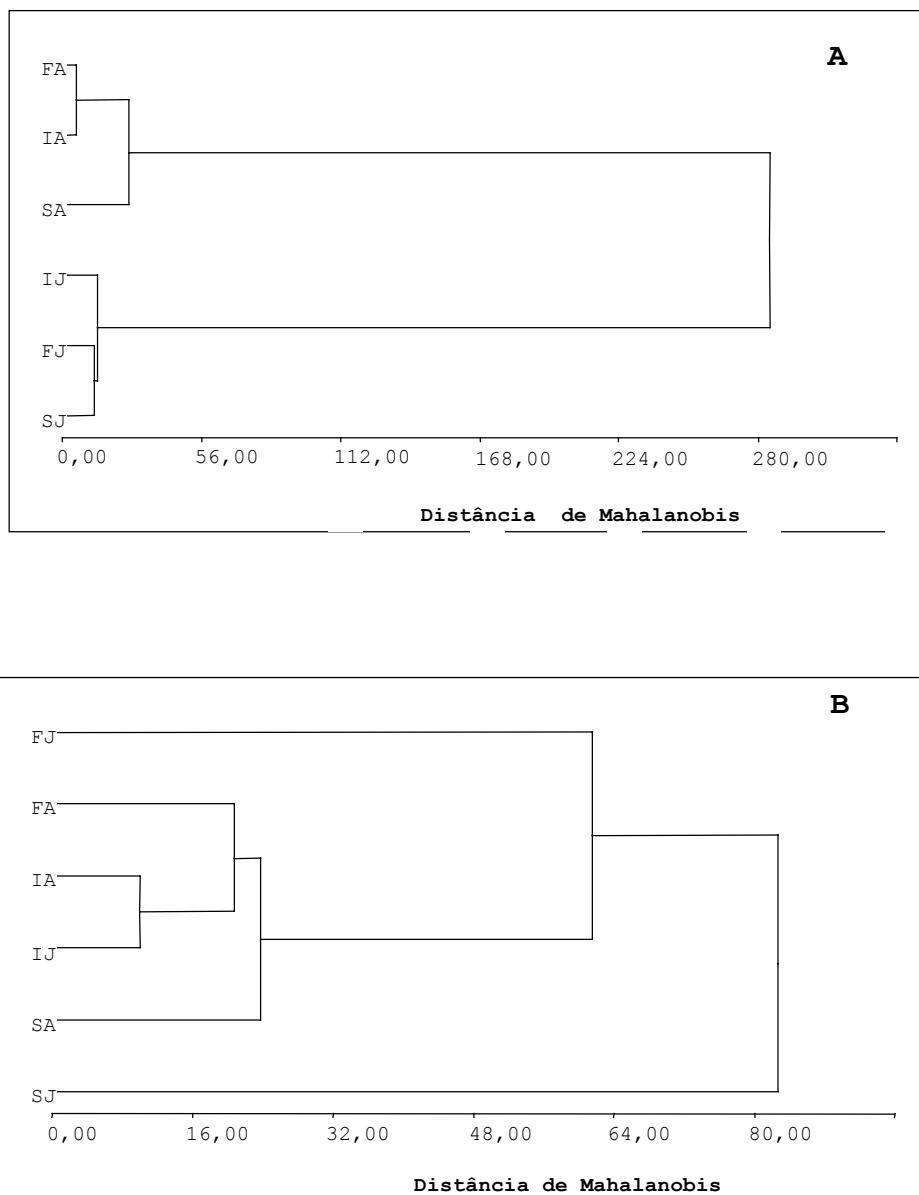


Figura 8- Dendrogramas obtidos pelo método de UPGMA a partir das distâncias de Mahalanobis calculadas entre as populações de jovens e adultos dos pontos Itaipu, Fortaleza e Sonar. (A) dados corrigidos pela razão do comprimento e (B) dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000).

4.3.2- Análise de componentes principais

A Tabela XIII e a Figura 9 apresentam os resultados obtidos para análise de componentes principais com as populações de jovens e adultos dos 3 pontos estudados.

A Análise de Componentes Principais realizada com os dados corrigidos pela razão do comprimento mostra que 90,56% da variação é explicada pelo PC1 (Tabela XIII). O PC1 é o eixo que representa o tamanho e é possível observar que existem dois grupos ao longo dele: aquele formado pelos jovens e o grupo dos adultos (Figura 9A). O PC2 representa apenas 4,24% da variação. A população de adultos do Sonar pode ser claramente dividida em dois grupos pelo PC2, o que indica que esta população é formada por grupos de indivíduos com formas diferentes.

Após a correção de Lleonart *et al.* (2000), o PC1 passa a ser responsável por 57,98% da variação e o PC2 por 15,43% (Tabela XIII). Não há PC positivamente correlacionado a todas as variáveis, assim não é possível atribuir a nenhum eixo a representação do tamanho. É possível distinguir claramente tanto os grupos de adultos de cada local entre si, quanto os grupos de jovens de cada local. A separação entre as populações agora se dá tanto ao longo do PC1 quanto do PC2, sugerindo que ambos devem estar correlacionados à forma (Figura 9B). A divisão da população de adultos do Sonar em dois grupos continua e, agora, os grupos estão separados tanto pelo PC1 quanto pelo PC2. Isto reforça a idéia de que esta população é formada por dois grupos de indivíduos com morfologias diferentes.

Tabela XIII- Coeficientes de correlação entre cada variável e os três primeiros componentes principais para as duas análises. Os valores em negrito correspondem aos coeficientes de correlação do componente positivamente correlacionado a todas as variáveis.

	RAZÃO LOGARÍTIMICA			CORREÇÃO DE LLEONART <i>et al</i> (2000)		
	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3
LS	-	-	-	-	-	-
HEI	0,056	0,047	0,047	0,349	0,050	-0,152
WID	0,955	-0,027	-0,052	-0,452	0,123	-0,047
LAR	0,887	0,105	-0,014	0,219	-0,072	0,255
LIG	0,250	0,796	0,249	0,678	0,618	0,193
HP	0,664	-0,513	-0,442	-0,956	0,286	-0,030
DPR	0,826	0,072	0,195	0,536	-0,077	0,009
PAV	0,497	0,666	0,224	-0,079	0,378	0,811
PAP	0,463	0,403	0,175	0,718	0,452	-0,157
PAL	0,850	-0,448	0,265	-0,730	-0,515	-0,084
WEIT	0,998	0,042	-0,024	0,355	0,485	-0,707
Variação %	90,56	4,24	1,50	57,98	15,43	11,06
Total %			96,30			84,47

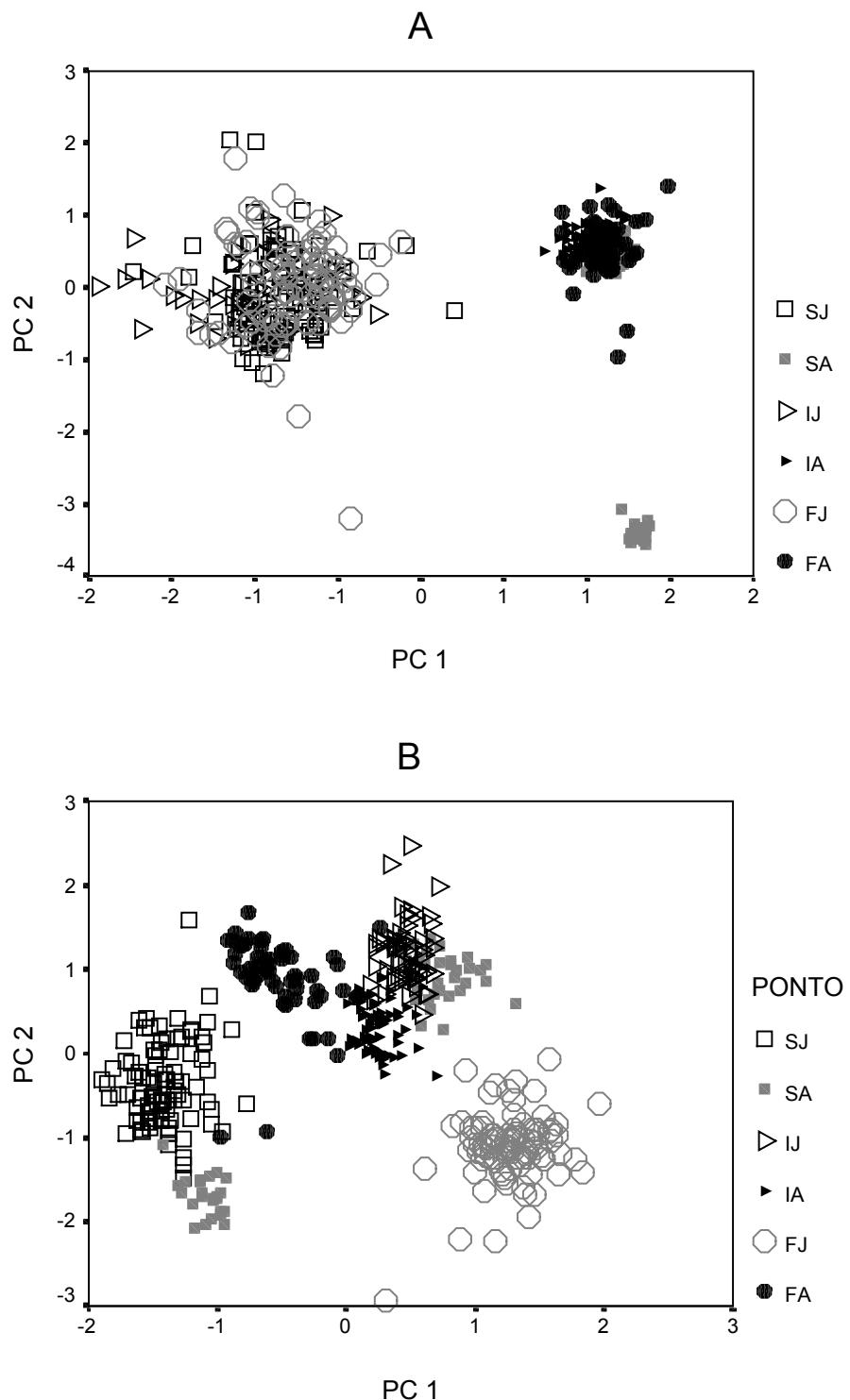


Figura 9 - Plotagens para os escores dos dois primeiros componentes principais para A) Dados corrigidos pela razão do comprimento e B) Dados corrigidos pelo método de Lleonart *et al.* (2000).

4.3.3- Coeficientes de alometria

A estimativa dos coeficientes de alometria multivariada podem ser conferidos na Tabela XIV. A Figura 10 apresenta um gráfico onde são mostradas as médias dos coeficientes alométricos multivariados para as seis populações e as 12 características morfológicas estudadas.

As populações de jovens e adultos de Sonar e Fortaleza apresentam padrões de alometria diferentes entre si, do mesmo modo que as populações geográficas. Por outro lado, as populações de jovens e adultos de Itaipu apresentam padrões alométricos muito semelhantes para 7 das 11 características estudadas.

Tabela XIV - Coeficientes de alometria multivariada para as seis populações de Jovens e adultos dos pontos de Itaipu, Fortaleza e Sonar. As abreviaturas estão definidas na Tabela I e Figura 2.

Variável	IA	IJ	FA	FJ	SA	SJ
LS	0,65	0,89	0,69	0,65	-0,07	0,49
HEI	0,56	0,92	0,65	0,57	-5,50	0,47
WID	0,82	0,82	0,75	0,69	-0,33	0,47
LAR	1,81	1,02	0,97	0,79	7,85	0,61
LIG	0,81	0,86	0,82	1,04	72,64	0,95
HP	1,38	0,26	0,19	0,15	-52,71	-0,46
DPR	0,56	0,83	0,99	0,80	-1,26	1,85
PAV	0,57	0,59	1,01	0,98	56,08	0,14
PAP	0,72	0,98	0,79	1,03	25,54	-0,31
PAL	0,81	1,25	1,46	2,38	-87,29	3,31
WEIT	2,30	2,57	2,68	1,92	-3,93	3,48

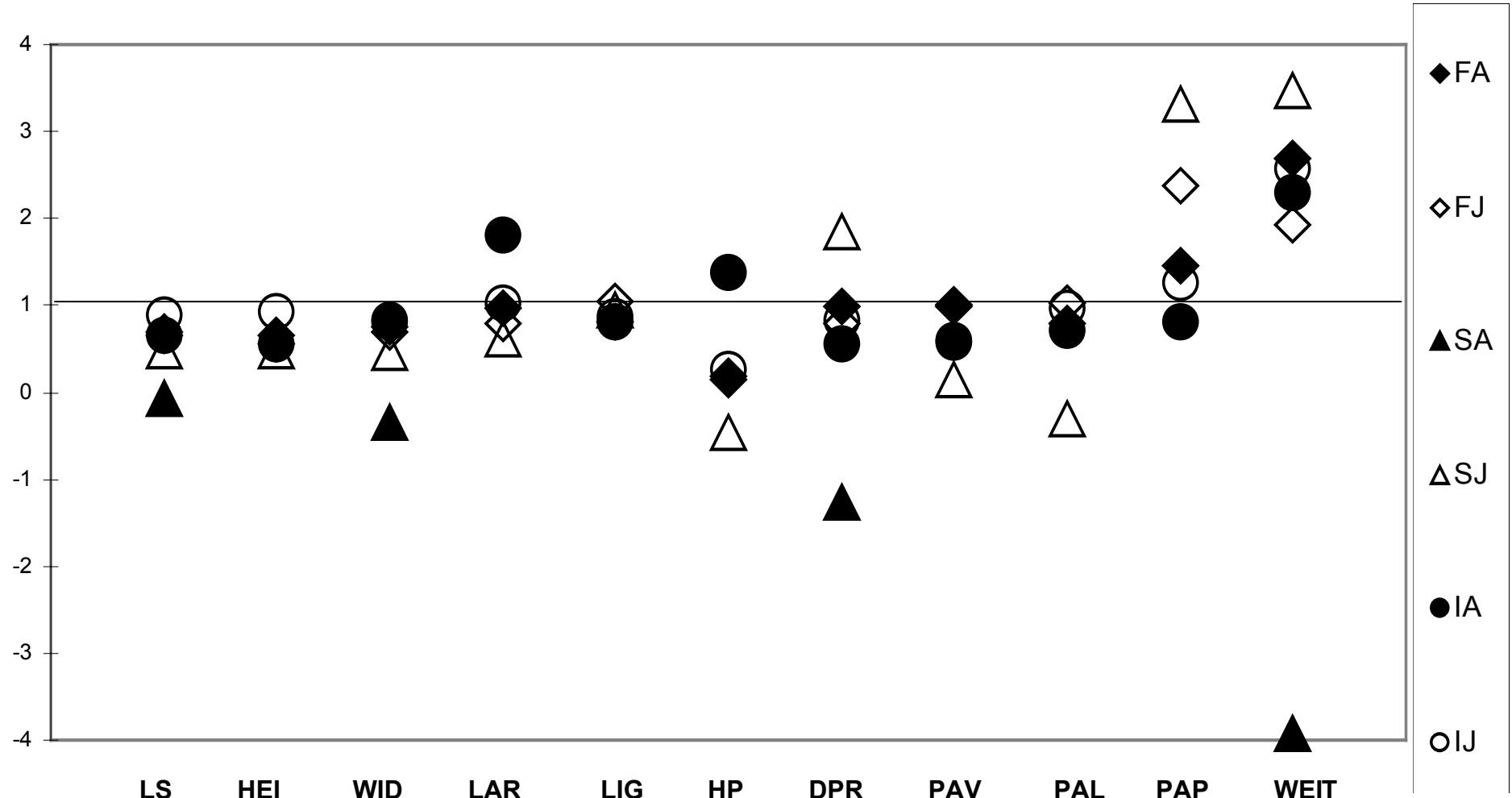


Figura -10 Coeficientes de alometria multivariada das seis populações de jovens e adultos para as onze características estudadas. As abreviaturas para as populações encontram-se na **Tabela I** e as abreviaturas para as características encontram-se na **Figura 2**. A linha horizontal indica o valor para isometria.

5. DISCUSSÃO

5.1- Variação geográfica

A análise de discriminante permitiu uma separação razoável entre as populações geográficas, em qualquer das três transformações dos dados. Contudo, a divisão pelo comprimento e o uso do método de correção para alometria de Lleonart *et al.* (2000) alteram a matriz de classificação. Este fato sugere que há um efeito do tamanho na determinação da forma estimada pelas características estudadas.

A confusão entre a influência do tamanho/idade na determinação da forma das conchas de mitilídeos já foi constatada em estudos que comparam as espécies *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis* e *M. trossulus* (Innes & Battes, 1999; MacDonald *et al.*, 1991). Nestes estudos foram encontradas maiores diferenças entre as espécies quando são comparados organismos de tamanhos diferentes. O método utilizado pelos autores para tentar reduzir o efeito da variação de tamanho nas amostras, foi a razão logarítmica do comprimento (*equação 1*). Contudo, grande parte das diferenças morfológicas observadas continuava ainda sendo decorrente do crescimento alométrico.

Nesta tese, a estratégia utilizada para tentar corrigir o efeito da alometria, foi aquela descrita por Lleonart *et al.* (2000). Em uma comparação dos resultados obtidos com os dados não corrigidos e aqueles obtidos após a correção de Lleonart *et al.* (2000), pode ser observado que o tamanho tem influência na discriminação das populações. Nos casos de Macaé, Sonar, Praia Brava, Vitória, Forno e Itaipu, a discriminação das populações diminui após a correção para alometria de Lleonart *et al.* (2000). Isto indica que as diferenças de tamanho eram responsáveis pela discriminação. Uma vez que a morfologia de cada população tenha sido ajustada pelo método de Lleonart *et al.* (2000), a diferença aparente diminui e, portanto, a discriminação é menor. A matriz de classificação para as populações de Jaconé e África não sofre alterações.

As análises de componentes principais para a morfologia das conchas de *Perna perna*, realizada com os dados logarítmicos e corrigidos pela razão do comprimento de todas as populações geográficas, demonstra que 81,33% (dados logarítmicos) e 78,55% (dados corrigidos pela razão do comprimento) da variação pode ser explicada pelos 3 primeiros componentes. O PC1, sozinho, é responsável por 49,66% desta variação no caso dos dados logarítmicos e 34,01%

no caso dos dados corrigidos pela razão do comprimento. Nestes dois casos o PC1 é o eixo positivamente correlacionado com todas as variáveis e, portanto, aquele que representa o tamanho total do corpo. Estes resultados são esperados, uma vez que a divisão de cada medida pelo comprimento total da concha, absorve parte do efeito das diferenças de tamanho entre os organismos e, portanto, ocorre uma redução na quantidade de variação devida ao tamanho. As relações entre as populações no espaço definido pelos PCs é semelhante. As populações da África e do Sonar encontram-se nos extremos da distribuição sobre o eixo do PC1. As demais se encontram espalhadas ao longo deste eixo, indicando que as diferenças morfológicas observadas são fortemente influenciadas pelo tamanho. A população de Jaconé encontra-se separada das outras pelo PC2, indicando que as diferenças morfológicas desta população em relação às demais é devida principalmente à forma.

Macchiotta *et al.* (2002), utilizando uma análise de componentes principais, estudaram populações de cabras da Ilha da Sardenha (Itália), sendo capazes de perceber grupos distintos para os ambientes costeiro, de montanha e de colina. Os quatro primeiros componentes eram responsáveis por entre 90 e 56% da variação total presente nos três grupos, sendo o primeiro componente principal sozinho responsável por entre 70 e 62% desta variação. Segundo eles, a distinção entre os grupos populacionais parecia estar mais relacionada ao tamanho que à forma dos organismos. Em um estudo com *Mercenaria mercenaria* e *M. campechiensis*, Dillon & Manzi (1989) encontraram que, para um análise PCA destas duas espécies, 72% da variação era devida ao primeiro componente, definido como eixo representativo do tamanho multivariado.

Nesta tese, a utilização da correção de Lleonart *et al.* (2000) determinou que a variação explicada pelo tamanho caísse para 17,38%, quase três vezes menos que para os dados logaritmos. Neste caso, o eixo positivamente correlacionado a todas as variáveis é o PC2 e não mais o PC1, como geralmente ocorre. Desse modo, a maior fonte de variação entre os dados passa a ser a forma, agora com contribuição importante na separação entre as populações. Contudo, as populações ainda se encontram espalhadas pelo eixo representativo do tamanho (agora o PC2). Mesmo neste caso, a população de Jaconé pode ser isolada em relação ao eixo representativo da forma (agora o PC1).

Estes resultados confirmam que as diferenças entre as populações percebidas nos vetores dos componentes principais estão fortemente relacionadas às diferenças de tamanho, porém a utilização da correção de Lleonart *et al.* (2000) é capaz de reduzir muito este efeito. A forma multivariada passa a ser um fator também importante na determinação das diferenças observadas entre as populações, juntamente com o tamanho multivariado.

Uma vez que o efeito alométrico na forma das populações geográficas foi reduzido, os caracteres morfológicos estudados deveriam refletir agora principalmente os padrões de interação entre a variação genética e ambiental. Seed (1968), por exemplo, sugeriu que vários fatores ambientais podem influenciar diretamente a morfologia das conchas em mexilhões. Estudando a espécie *M. edulis*, este autor observou que a densidade das populações parece ser responsável por formas mais alongadas, enquanto bancos com menores densidades apresentam formas mais triangulares. Do mesmo modo, em sua comparação morfométrica entre as espécies *M. edulis* e *M. galloprovincialis*, Innes & Battes (1999) sugeriram que grande parte da semelhança observada entre as duas espécies poderia ser devida ao ambiente comum que estas habitavam.

Buyanovsky (1993), investigando em detalhe a relação entre variação ambiental e variação da morfologia das conchas em *M. trossulus*, foi capaz de estabelecer quatro variantes fenotípicas. Estas variantes estariam associadas a variações ambientais, como a zona do infralitoral, zona do médio litoral batido, médio litoral protegido e pequenas lagoas. Tais ambientes diferem não só pelos fatores abióticos de exposição ao ar e ação das ondas, como também pela presença e tipo de predadores e infestações. Buyanovsky estimou as diferenças na morfologia com base nos coeficientes da equação de crescimento alométrico. As variáveis utilizadas por ele foram altura, largura e massa dos moluscos.

As nove populações de *P. perna* estudadas aqui, foram coletadas no médio litoral e provêm de uma faixa latitudinal ampla, que inclui desde o limite norte de distribuição da espécie (Vitória-ES) até Praia Brava - SC, ao Sul, num total de 2000 km. Além destas foi estudada uma população de Muizenberg, na costa sul-africana.

A observação dos dendrogramas não indica relação entre a distância morfológica, estimada pela distância de Mahalanobis, e a distância geográfica

entre as populações. Assim, populações como África e Vitória (distantes 6000 km), estão mais “próximas” morfologicamente do que Búzios e Fortaleza (distantes 50 km).

Nem sempre é possível correlacionar a variação morfológica com a distância geográfica e/ou com as diferenças genéticas entre populações naturais. Por exemplo, em um estudo da variação isoenzimática e morfológica de cinco populações de sapos *Bufo viridis* do Norte da Grécia, Karakousis & Kiriakopoulou-Sklavounou (1995) encontraram diferentes padrões de relação entre os grupos quando utilizadas as medidas de distância gênica, estimadas pelo índice de identidade gênica de Nei, e a distância morfológica, estimada pela distância de Mahalanobis. Estes autores sugerem que estas diferenças seriam devidas às diferentes taxas de evolução dos genes responsáveis pela morfologia e pelas enzimas.

No que diz respeito a fatores ambientais conspícuos, os ambientes ocupados pela espécie ao longo de sua distribuição na costa apresentam uma grande variação, tanto no que diz respeito ao clima, quanto às condições de hidrodinamismo e disponibilidade de nutrientes. Das sete populações amostradas no Estado do Rio de Janeiro, três delas (Itaipu, Forno e Vitória) estão situadas em locais de fraco batimento de ondas, enquanto as populações de Macaé, Sonar, Búzios e Jaconé estão situadas em locais de intenso batimento. A população de Praia Brava também está em região de forte batimento de ondas.

Na região de Arraial do Cabo, no estado do Rio de Janeiro, ocorre o fenômeno oceanográfico da ressurgência. A ressurgência se caracteriza pela subida de massas de água oriundas de profundidades de cerca de 200m (Paes, 2002). O fenômeno é causado por uma irregularidade do relevo submarino que, conjugada à incidência de ventos, faz com que esta massa de água atinja a região costeira, a partir da região de Arraial do Cabo, e daí ao longo da costa sul do Estado do Rio. A massa de água em movimento ascendente ressuspende uma grande quantidade de nutrientes inorgânicos depositados a grandes profundidades. Isto resulta em um aumento na produtividade fitoplanctônica, com reflexos diretos na produção pesqueira. Outro grande efeito do fenômeno da ressurgência é o resfriamento das águas costeiras, o que pode estar relacionado à distribuição geográfica de várias espécies marinhas, e talvez resulte em uma

barreira geográfica para o fluxo de larvas de invertebrados marinhos (Floeter & Soares-Gomes, 1999; Williams & Benzie, 1998).

As populações do Sonar e Jaconé estão sob forte efeito da ressurgência de Arraial do Cabo, enquanto Forno, Fortaleza e Macaé têm influência restrita do fenômeno. O efeito da ressurgência pode ser considerado fraco em Búzios e Itaipu. A população proveniente da costa da África vem da região de False Bay, África do Sul. É uma região protegida e sem influência de nenhum tipo de ressurgência.

Não foi possível associar a proximidade morfológica das populações à influência da ressurgência, uma vez que Sonar e Praia Brava, por exemplo, se agrupam a despeito das diferentes influências do fenômeno da ressurgência. Por outro lado, as populações de Jaconé e do Sonar, ambas sob forte efeito da ressurgência, apresentam grandes distâncias morfológicas, da mesma forma que as populações de Búzios e Itaipu, ambas com fraca influência de ressurgência, também apresentam grandes distâncias morfológicas. Entretanto, se as populações forem divididas em dois grupos em função do modo, é possível observar que os ambientes de fraco batimento de ondas, como África, Vitória, Forno e Itaipu formam um grupo com D^2 variando entre 0,88 e 3,09. Do mesmo modo, populações originadas de ambientes batidos, como Fortaleza, Macaé, Praia Brava, Sonar e Búzios formam outro grupo, para o qual as D^2 variaram entre 2,18 e 7,39. As D^2 entre os nós que separam os grupos originados de locais batidos e protegidos é de 9,15. A única exceção é a população de Jaconé, que se comporta como grupo de fora, com alta D^2 (34,88) em relação aos dois outros grupos.

Entre as três variáveis observadas neste estudo (distância geográfica, influência da ressurgência e diferenças de modo), apenas para a última foi possível encontrar uma relação com a variação morfológica das populações. Assim, populações de ambientes protegidos parecem apresentar animais com morfologia mais semelhante entre si, o mesmo ocorrendo para os animais originados de populações de ambientes batidos.

Este resultados não são incomuns e são encontrados outros exemplos em moluscos. A morfologia da concha em alguns gastrópodes, como é o caso daqueles do gênero *Littorina*, parece estar associada ao modo. Isto foi demonstrado especialmente para a espécie *Littorina saxatilis* através de

abordagens univariadas e bivariadas (Janson, 1982; Smith, 1981). Sundberg (1988), em uma análise multivariada das conchas de *L. saxatilis* em um gradiente de batimento de ondas, foi capaz de demonstrar que a morfologia das conchas variava com a intensidade do batimento e que esta variação se encontrava fundamentalmente no PC1. No caso estudado, o PC1 era o eixo que representava o tamanho, pois estava positivamente correlacionado com todas as medidas tomadas. Como em gastrópodes, o modo parece ter forte influência também na morfologia das conchas de bilvalves. Akester & Martel (2000), por exemplo, foram capazes de demonstrar que *Mytilus trossulus* de costões batidos apresentam conchas mais cilíndricas e ligamentos mais espessos que aqueles de áreas protegidas. Eles sugeriram que um ligamento mais forte poderia minimizar os efeitos de desalinhamento entre as valvas causados pela ação das ondas.

Seed (1968) afirma que animais como os mitilídeos apresentam uma biologia que propicia a colonização de ambientes extremamente diversos. Segundo ele, seria de grande valor adaptativo para estas espécies que os genótipos possuíssem um alto grau de plasticidade, em especial na produção das características morfológicas. É possível supor, assim, que as diferenças morfológicas observadas aqui entre as populações dos ambientes batidos e dos ambientes protegidos são devidas às diferenças nos seus padrões de resposta fenotípica ao ambiente - sua plasticidade, em última análise.

Uma vez que a morfologia é consequência da alteração em várias características simultaneamente, e que o tamanho multivariado deve ser uma característica altamente plástica, é esperado que populações habitando diferentes ambientes apresentem uma variação morfológica alta, mesmo que apresentando pouca divergência genética.

Por conta das complexas relações entre alometria, variação genética e variação ambiental, alguns autores têm preferido trabalhar com coeficientes de alometria multivariada. Smith (1998), por exemplo, afirma que o tamanho do corpo, em uma abordagem multivariada, exibiria uma plasticidade muito grande. A forma, por outro lado, apresentaria um padrão de variação entre as raças e poderia representar assim as relações filogenéticas entre elas. Uma vez que os animais apresentem crescimento alométrico, mudanças no tamanho do corpo podem alterar simultaneamente muitas características morfológicas, mas estas mudanças são específicas para cada padrão alométrico. Deste modo, embora

fatores ambientais locais alterem o tamanho do corpo e consequentemente todo um grupo de características morfológicas, estas alterações não mascaram os padrões alométricos de cada raça, que refletem diferenças genéticas entre elas.

Mexilhões apresentam um forte crescimento alométrico. As curvas de alometria, assim como as taxas de crescimento, podem variar com o ambiente de fixação dos organismos. A consequência óbvia do crescimento alométrico é a mudança de forma associada à idade/tamanho dos organismos como já foi discutido aqui. Isto poderia explicar parte das diferenças morfológicas, tanto entre as diversas classes de tamanho de uma mesma população quanto entre populações diferentes (Hickman, 1979; Seed, 1968).

Em estudos de alometria populacional, é comum que diferentes populações apresentem diferentes padrões de crescimento alométrico (Smith & Patton, 1988; Leamy & Bradley, 1982; Sweet, 1980), ou seja, a sua morfologia multivariada é o resultado da interação genótipo-ambiente. Efeitos pleiotrópicos dos genes envolvidos em características morfológicas agem em várias características simultaneamente, sendo os padrões de alometria multivariada características intrínsecas destas populações. Deste modo, a semelhança morfológica intrapopulacional será maior que aquela entre as populações, podendo desta forma ser utilizada como identificador populacional.

Tzeng & Yeh (2002) estimaram os coeficientes de alometria multivariada em camarões originados de cinco localidades geográficas em torno de Taiwan. Eles perceberam uma diferença entre os padrões alométricos entre sexos e entre grupos de animais grandes e pequenos. Estes autores sugerem que, uma vez que os animais de diferentes tamanhos pertencem ao mesmo estoque, estas diferenças refletiriam diferenças nos padrões de alometria estática em diferentes fases da vida. Smith (1988) identificou um padrão comum de alometria multivariada entre raças geográficas de pardais *Melospiza melodia*, na costa oeste da América do Norte. A autora utilizou grupos de animais de tamanhos variados para estimar esses coeficientes, de modo a abranger várias fases do crescimento dos animais. Assim, os coeficientes de alometria multivariada extraídos cobriam uma grande faixa de desenvolvimento ontogenético. Nos resultados obtidos aqui para *P. perna*, os coeficientes de alometria multivariada foram estimados a partir dos coeficientes de cada variável em relação ao PC1, para cada população independentemente. Cada população apresentou um

conjunto de coeficientes de alometria multivariada totalmente diferente, e não foi possível estabelecer um padrão entre estes e a distância geográfica, influência de ressurgência ou modo.

Em resumo, as populações geográficas de *P. perna* aqui estudadas apresentaram uma variação morfológica grande, que permitiu uma razoável discriminação entre as populações. Além disso, as populações puderam ser agrupadas em relação ao modo, de forma independente da sua distância geográfica e da influência do fenômeno da ressurgência. Os coeficientes de alometria multivariada não revelaram nenhum padrão entre as populações.

5.2- Jovens e adultos

Os mexilhões são organismos bênticos e sésseis. Sua forma de dispersão se dá pela liberação de larvas planctotróficas de vida longa (Fernandes, 1983). Embora fosse esperado que organismos com esta biologia apresentassem uma baixa estruturação gênica, estudos de genética de populações, utilizando a técnica de eletroforese de aloenzimas, demonstraram alguns casos em que populações de espécies com este tipo de larvas apresentaram populações altamente estruturadas (Knowlton & Keller; 1986; Burton, 1983). Este paradoxo foi responsável pela produção de vários trabalhos e hipóteses que tentavam explicar os fatores limitantes da dispersão e do fluxo gênico de invertebrados marinhos (Solé-Cava *et al.*, 1992; Sale, 1990; Hedgecock, 1986; Johnson & Black, 1984).

No caso da espécie *Perna perna*, cujos padrões de recrutamento são desconhecidos, foi encontrada uma alta estruturação gênica ($F_{ST}=0,08$) entre populações distando apenas 50 km, que estavam separadas pelo efeito do fenômeno da ressurgência (Silva *et al.*, 1998; Silva, 1991). Conhecer a forma de recrutamento existente em bancos de *P. perna* seria útil na tentativa de explicar os possíveis padrões de estruturação observados nestes organismos.

Pelo menos duas hipóteses sobre o recrutamento de *P. perna* podem ser aventadas. Pela hipótese de recrutamento local, o potencial de longa permanência das larvas no plâncton não precisaria ser obrigatoriamente realizado, uma vez que após a fecundação, as larvas poderiam se fixar no substrato e apenas aquelas cuja fixação não se realizou permaneceriam no plâncton por mais tempo (Slatkin, 1987). Assim, as populações de *P. perna*

seriam formadas por recrutas originados da própria população local após uma curta fase de competência para fixação. Por outro lado, os bancos de mexilhões poderiam ser mantidos por recrutas vindos de várias outras populações, que realizariam o seu grande potencial de dispersão, ou seja, sob um regime de recrutamento episódico (Watts *et al.*, 1990). Assim, as populações de *P. perna* seriam formadas por uma mistura de várias coortes, vindas de populações distantes.

Uma possibilidade para estudar esta questão seria comparar a morfologia de indivíduos jovens e adultos do mesmo ponto. Uma vez que em *P. perna* a plasticidade morfológica parece ser alta (como foi visto no item **Variação geográfica** desta discussão), cada população possui uma morfologia fortemente influenciada pelo seu ambiente de desenvolvimento. Organismos jovens e adultos do mesmo local, portanto, compartilham o ambiente de desenvolvimento e, já que a morfologia é fortemente determinada pelas condições ambientais, suas morfologias deverão ser mais parecidas, independentemente da semelhança genética entre os recrutas e os adultos.

Apesar de fortemente influenciada pelo ambiente, a morfologia de cada população geográfica possui características próprias. Por isso, a discriminação entre populações geográficas de ambientes semelhantes foi possível. Isto indica que a morfologia nestas populações é o resultado da interação genótipo-ambiente, sendo a resposta plástica resultante desta interação diferente para cada população. Portanto, se o recrutamento for aleatório ou episódico, com recrutas originados de populações distantes, espera-se que a morfologia dos jovens e adultos do mesmo local seja diferente. As diferenças entre jovens e adultos, no caso do recrutamento episódico, deverão ser de magnitude semelhante àquelas obtidas entre as populações de adultos.

Como já foi visto, o ambiente tem forte influência na morfologia dos organismos. *P. perna* apresenta uma grande plasticidade para a morfologia da concha. Assim, a comparação entre a morfologia de jovens e adultos dos mesmos locais tem a tendência a indicar semelhanças entre as populações sujeitas ao mesmo ambiente, devido à plasticidade morfológica apresentada pelos organismos.

Outro problema que deve ser levado em consideração, quando da comparação entre jovens e adultos, é que as diferenças morfológicas observadas

entre as populações naturais parecem estar associadas tanto à forma quanto ao tamanho. Assim, as diferenças óbvias entre a morfologia de jovens e adultos devem-se fundamentalmente ao efeito do crescimento alométrico. Um problema recorrente em estudos morfométricos é a separação do efeito do tamanho sobre a forma (ver item **Variação geográfica** nesta discussão). A grande contribuição da abordagem multivariada sobre a bivariada reside no reconhecimento de que apenas uma característica não é suficiente para indicar o tamanho do organismo. Desse modo, a dedução de um vetor de tamanho multivariado, o componente principal positivamente associado a todas as variáveis mensuradas, permite que se postule que a forma multivariada pode ser representada pelos demais componentes, ortogonais em termos matemáticos. No entanto, em casos onde as diferenças de tamanho são extremas ou o efeito da alometria é forte, a extração do efeito do tamanho antes da determinação da análise de PCA parece ser mais eficiente (Thorpe, 1976).

Em outros estudos com mitilídeos, o comprimento da concha é a característica que apresenta a maior eficiência na descrição do crescimento do corpo (Hickman, 1979). No presente trabalho, o comprimento total da concha, **Is**, apresentou um alto coeficiente de correlação com o PC1 em 15 das 16 populações estudadas (a única exceção foi a população de Búzios). Portanto, **Is** foi utilizado como a variável indicadora de tamanho, pela qual as outras foram normalizadas. Na correção tradicional para tamanho, as medidas (ou seus logaritmos) são divididas por uma medida definida como a variável independente, geralmente, o comprimento do corpo. Essa abordagem, como já foi dito, não remove efeitos de crescimento alométrico, sendo válida apenas nos casos em que a alometria não seja acentuada ou as diferenças de tamanho não sejam extremas. O método de correção para alometria de Lleonart *et al.* (2000) deriva de um método sugerido por Thorpe (1976) e leva em consideração o padrão de crescimento do organismo. Neste método, todas as outras variáveis são transformadas para o valor que teriam se a variável indicadora de tamanho tivesse um determinado valor (como descrito em **MATERIAL E METÓDOS** nesta tese). A grande limitação desta correção está na utilização de apenas uma característica como estimador de tamanho do corpo. Assim, os efeitos das relações alométricas entre as outras características não são levados em consideração.

Quando aplicado aos dados das populações geográficas, o método mostrou-se eficiente em reduzir a variação dos dados devida a diferenças no tamanho. Antes da aplicação da correção para alometria, o primeiro componente principal era o eixo representativo do tamanho. Após a correção, a variação devida ao tamanho foi transferida para o segundo componente. Assim, a forma multivariada passou a ser a maior fonte de variação entre os dados.

Para possibilitar a correção de Lleonart *et al.* (2000), os coeficientes da equação de crescimento alométrico tiveram de ser estimados. Para esta estimativa, três “populações” equilibradas foram construídas (como descrito em **MATERIAL E MÉTODOS**, Tabela III), supondo que as populações de jovens, geográficos e adultos apresentassem o mesmo padrão de crescimento alométrico. Esta abordagem tem a característica de aproximar a morfologia dos grupos de jovens e adultos dos mesmos locais, consequentemente aumentando a similaridade intragrupo, uma vez que todos são transformados pela mesma equação de correção. Entre os grupos, ou seja, entre os diferentes locais, no entanto, este procedimento tende a acentuar as diferenças, pois as curvas alométricas pelas quais os dados são corrigidos, são diferentes para cada local.

Em resumo, a comparação morfológica entre jovens e adultos dos mesmos locais pelo procedimento de correção para alometria de Lleonart *et al* (2000), possui a tendência de aproximar os jovens e adultos do mesmo local, devido ao fato de que as suas medidas originais são transformadas supondo que os dois grupos de organismos compartilhem as mesmas curvas de alometria. Do mesmo modo, como os organismos jovens e adultos desenvolveram-se no mesmo ambiente, é esperado que essa influência ambiental comum aproxime as morfologias de jovens e de adultos. Desta forma, tomando como hipótese nula o recrutamento local, o procedimento aplicado nesta tese para estimar as relações entre jovens e adultos é conservador, já que fortalece a semelhança entre jovens e adultos do mesmo local.

Os resultados da análise de discriminante com os dados corrigidos pela razão do comprimento (*equação 1*), indicam uma discriminação total entre jovens e adultos. Isto já era esperado, uma vez que os efeitos alométricos são grandes e as diferenças de tamanho entre os jovens e os adultos são extremas. Isto indica que a diferença de tamanho altera a forma tão violentamente que, mesmo após a redução da dimensionalidade dos dados através da divisão pelo

logaritmo do comprimento, suas formas ainda são absolutamente diferentes. Assim, a matriz de classificação não demonstra superposições entre nenhum dos grupos de Jovens com nenhum dos grupos de adultos. As superposições ocorrem apenas dentro dos grupos de tamanho.

Quando a correção de Lleonart *et al.* (2000) é aplicada, dois efeitos são percebidos: primeiro, as populações individualmente passam a ser melhor discriminadas; segundo, já ocorrem superposições entre as populações de jovens e de adultos dos três locais. Alguns indivíduos adultos do Sonar e de Fortaleza são classificados como mais semelhantes aos da população de jovens de Itaipu. Isto indica que, não só que a dimensionalidade dos dados foi reduzida, como também, agora, as formas de jovens e adultos passaram a ser comparáveis. As superposições, que podem ser vistas como os erros de classificação entre as populações de adultos e as de jovens, indicam que, agora, a influência da forma pode ser percebida com pouca influência do tamanho.

A análise de PCA para as seis populações de jovens e adultos apresenta resultados semelhantes aos da análise de discriminante. Quando os dados são corrigidos pela razão logarítmica do comprimento, é possível observar a formação de dois grupos: aquele formado pelos jovens e o grupo dos adultos ao longo do PC1. O PC1 é o eixo que representa o tamanho e, logicamente, neste caso, grande parte da variação (90,56%) está representada por ele. Isto se deve às diferenças extremas de tamanho entre os organismos. O PC2 representa apenas 4,24% da variação. Por outro lado, a população de adultos do Sonar pode ser claramente separada pelo PC2 em dois grupos distintos. Isto sugere que esta população seja formada por, pelo menos, dois grupos de indivíduos com formas diferentes.

A correção para alometria de Lleonart *et al.* (2000) faz com que a variação seja repartida entre os três primeiros componentes de maneira mais eqüitativa, uma vez que o PC1 explica agora 57,98% e a variação explicada pelo segundo e terceiro componentes juntos passa a 26,49%. O resultado mais interessante, entretanto, é a ausência de um PC positivamente correlacionado a todas as variáveis. Este fato sugere que a variação explicada nos três primeiros PCs (84,48%) está relacionada às diferenças de forma. A variação relacionada ao tamanho não é mais vista nos três primeiros PCs ou está absolutamente confundida com as diferenças na forma, sugerindo que a correção para alometria

foi eficiente em remover os efeitos do tamanho. A divisão da população de adultos do Sonar em dois grupos continua, e agora os grupos estão separados tanto pelo PC1 quanto pelo PC2. Isto reforça a idéia de que esta população é formada por dois grupos de indivíduos com morfologias diferentes.

Os dendrogramas obtidos em função das D^2 , quando a correção pela razão do comprimento é aplicada, mostram que os tamanhos extremos aproximam as populações de jovens entre si, o mesmo acontecendo para as populações de adultos, demonstrando mais uma vez que a correção pela razão do comprimento não é capaz de remover o efeito de alometria. Após a aplicação do método de correção de Leonart *et al.* (2000), as relações de forma passam a ser mais importantes que as diferenças de tamanho. Os dendrogramas obtidos, após este procedimento, mostram que os jovens e adultos do Sonar encontram-se muito afastados entre si e das demais populações. Os jovens e adultos de Fortaleza também encontram-se afastados entre si. As populações de jovens e de adultos de Itaipu, entretanto, apresentam a menor D^2 . Assim, apenas as populações de jovens e adultos de Itaipu apresentam morfologia semelhante.

As grandes diferenças na forma entre os jovens e adultos do Sonar e de Fortaleza, apesar da tendência do método, indicam que as respostas plásticas destas populações aos seus ambientes foram completamente diferentes. Uma vez que as populações de jovens habitavam o mesmo ambiente que as populações de adultos e sua morfologia deve ser o resultado da interação genótipo–ambiente, a diferença morfológica observada, apesar de todas as tentativas de aproximação, parecem indicar que seus genótipos são diferentes, o que significaria uma origem diferente para os recrutas que fundaram estas populações de jovens e aqueles que fundaram as populações de adultos do mesmo local. Assim, estes resultados favorecem a hipótese de recrutamento aleatório para as populações destes dois locais.

Assim como no caso das populações geográficas, as populações de jovens e adultos apresentaram diversos perfis de coeficientes de alometria multivariada. No entanto, foi possível perceber a semelhança entre os coeficientes alométricos de seis entre as onze características analisadas para as populações de jovens e adultos de Itaipu, justamente aquelas mais próximas morfologicamente. Isso sugere que os jovens e adultos deste local compartilham a maioria dos padrões alométricos, diferentemente dos jovens e adultos dos dois

outros locais. Estes dois grupos de resultados fortalecem a hipótese de recrutamento local para Itaipu, já que os coeficientes de alometria foram estimados de maneira independente para cada população, sem nenhum ajuste a curvas de crescimento, como foi o caso das análises que usaram dados corrigidos pelo método de correção de Lleonart *et al.* (2000).

6. CONCLUSÕES

- A espécie *Perna perna* apresenta uma grande variação morfológica ao longo da costa brasileira.
- A variação na morfologia da espécie deve-se a um efeito de tamanho e aos diferentes padrões de alometria entre as populações.
- A morfologia da espécie é fortemente influenciada pelo seu ambiente de crescimento, sendo o modo um fator ambiental importante na definição da morfologia. Isto indica uma alta plasticidade fenotípica da espécie.
- A despeito do efeito ambiental é possível a utilização de caracteres morfológicos multivariados para a discriminação das populações.
- Os padrões de recrutamento das populações do Sonar e Fortaleza parecem ser aleatórios, com recrutas vindos de outras populações, enquanto aqueles da localidade de Itaipu parecem atender a um padrão de recrutamento local.

7. BIBLIOGRAFIA

- ARKESTER, RJ & MARTEL, L, 2000 Shell Shape, Disodont Tooth Morphology, And Hinge-Ligament Thickness In The Bay Mussel *Mytilus trossulus* Correlate With Wave Exposure. **Canadian Journal of Zoology** **78:** 240-253.
- BEMVENUTI, MA, 2002 Diferenciação Morfológica Das Espécies De Peixes-Rei, *Odontesthes* Evermann & Kendall (Osteichthyes, Antherinopsidae) No Extremo Sul Do Brasil: Morfometria Multivariada. **Revista Brasileira de Zoologia** **19(1):** 252-287.
- BOOKSTEIN, FL, CHERNOFF, B, ELDER, RL, HUMPHRIES, JM, SMITH, GR & STRAUSS, RE, 1985 **Morphometrics In Evolutionary Biology, The Geometry Of Size And Shape Change With Examples From Fishes.** Special Publication no. 15, Academy of Natural Sciences, Philadelphia, Pennsylvania.
- BURTON, RS, 1983 Protein Polymorphism And Genetic Differentiation Of Marine Invertebrate Populations. **Marine Biology Letters** **4:** 193-206.
- BUYANOVSKY, IA, 1993 Four Phenotypes Of The Mussel *Mytilus trossulus* (Bivalvia) From Different Microhabitats. In: **Quantified Phenotypic Responses in Morphology and Physiology** Proceedings of the 27th European Marine Symposium Pp 143-146.
- CADRIN, SX & FRIEDLAND, KD, 1999 The Utility Of Image Processing Techniques For Morphometric Analysis And Stock Identification. **Fisheries Research** **43:** 129-139.
- CADRIN, SX, 1995 Discrimination Of American Lobster (*Homarus americanus*) Stocks Of Southern New England On The Basis Of Secondary Sex Character Allometry. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science** **52:** 2712-2723.
- DARWIN, CR, 1860 **On The Origin Of Species By Means Of Natural Selection, Or The Preservation Of Favoured Races In The Struggle For Life.** John Murray, London.

- DILLON, RTJ & MANZI, JJ, 1989 Genetics And Shell Morphology In A Hybrid Zone Between The Hard Clams *Mercenaria mercenaria* And *M. campechiensis*. **Marine Biology** **100:** 217-222.
- FERNANDES, FC, 1983 Mitolicultura: Um Enfoque Bioecológico. In: **Manual de Maricultura**, Ministério da Marinha, Instituto de Pesquisas da Marinha, Projeto Cabo Frio Pp 1-24.
- FLOETER, SR & SOARES-GOMES, A, 1999 Biogeographic And Species Richness Patterns Of Gastropoda On The Southwestern Atlantic. **Revista Brasileira de Biologia** **59:** 567-575.
- FRANCIONI, E, CAVALIER, B, KING, R, DEPLEDGE, M, MIEKELEY, N & WAGENER, A, 1999 Avaliação Rápida De Estresse Celular Resultante Da Exposição De Contaminantes Ambientais Em *Perna perna* Da Baía De Guanabara Com Ensaio De Retenção De Vermelho Neutro. In: **Workshop: Efeitos de Poluentes em Organismos Marinhos** Pp 25.
- GAYON, J, 2000 History Of The Concept Of Allometry. **American Zoologist** **40:** 748-758.
- GOSLING, EM (ed), 1992 **The Mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics And Culture**. Elsevier, Amsterdam.
- HEDGECOCK, D, 1986 Is Gene Flow From Pelagic Larval Dispersal Important In The Adaptation And Evolution Of Marine Invertebrates? **Bulletin of Marine Science** **39:** 550-564.
- HICKMAN, RW, 1979 Allometry And Growth Of The Green-Lipped Mussel *Perna canaliculus* In New Zealand. **Marine Biology** **51:** 311-317.
- HICKS, DW & TUNNEL, JWJ, 1995 Ecological Notes And Patterns Of Dispersal In The Recently Introduced Mussel, *Perna perna* (Linné, 1758) In The Gulf Of Mexico. **American Malacological Bulletin** **9(2):** 203.
- HUMPHRIES, JM, BOOKSTEIN, FL, CHERNOFF, B, SMITH, GR, ELDER, RL & POSS, SG, 1981 Multivariate Discrimination By Shape In Relation To Size. **Systematic Zoology** **30:** 291-308.

HUXLEY, JS & TESSIER, G, 1936 Terminology Of Relative Growth. **Nature** **137:** 780-781.

INNES, DJ & BATES, JA, 1999 Morphological Variation Of *Mytilus edulis* And *Mytilus trossulus* In Eastern Newfoundland. **Marine Biology** **133:** 691-699.

JANSON, K, 1982 Phenotypic Differentiation in *Littorina saxatilis* Olivi (Mollusca, Prosobranchia) In A Small Area On The Swedish West Coast **Journal of Molluscan Studies** **48:** 167-173.

JOHNSON, MS & BLACK, R, 1984 Pattern Beneath The Chaos: The Effect Of Recruitment On Genetic Patchiness In An Intertidal Limpet. **Evolution** **38:** 1371-1383.

JOLICOEUR, P, 1963 The Multivariate Generalization Of The Allometry Equation. **Biometrics** **19:** 497-499.

KAEHLER, S & MCQUAID, CD, 1999 Use Of The Fluorochrome Calcein As An In Situ Growth Marker In The Brown Mussel *Perna perna*. **Marine Biology** **133(3):** 455-460.

KARAKOUSIC, Y & KYRIAKOPOULOU-SKLAVOUNOU, P, 1995 Genetic And Morphological Differentiation Among Populations Of The Green Toad *Bufo viridis* From Northern Greece. **Biochemical Systematics and Ecology** **23(1):** 39-45.

KLACZKO, LB, 1992 Métodos Para Análise Das Variações De Tamanho E Forma Em Populações De Drosófilas. **Revista Brasileira de Genética** **15 (suplemento):** 269-273.

KNOWLTON, N & KAEHLER, BD, 1986 Larvae With Fall Short Of Their Potential: Highly Localized Recruitment In An Alphaeid Shrimp With Extended Larval Development. **Bulletin of Marine Science** **39:** 213-223.

LEAMY, L & BRADLEY, D, 1982 Static And Growth Allometry Of Morphometric Traits In Randombred House Mice. **Evolution** **36(6):** 1200-1212.

LEVINTON, J, 1988 **Genetics, Paleontology and Macroevolution.** Cambridge University Press, Cambridge.

LLEONART, J, SALAT, J & TORRES, GJ, 2000 Removing Allometric Effects Of Body Size In Morphological Analysis. **Journal of Theoretical Biology** **205:** 85-93.

MACCIOTTA, NPP, CAPPIO-BORLINO, A, STERI, R, PULINA, G & BRANDANO, P, 2002 Somatic Variability Of Sarda Goat Breed Analyzed By Multivariate Methods. **Livestock Production Science** **75:** 51-58.

MANLY, FK, 1989 **Multivariate Statistical Methods: A Primer.** Chapman & Hall, New York.

MARQUES, HLD, PEREIRA, RTL & CORRÊA, BC, 1998 Seasonal Variation In Growth And Yield Of The Brown Mussel *Perna perna* (L.) Cultured In Ubatuba, Brazil. **Aquaculture** **169(3-4):** 263-273.

MCDONALD, JH, SEED, R & KOEHN, RK, 1991 Allozymes And Morphometric Characters Of Three Species Of *Mytilus* In The Northern And Southern Hemispheres. **Marine Biology** **111:** 323-333.

MOISIMANN, JE, 1970 Size Allometry: Size And Shape Variables With Characterizations Of The Lognormal And Generalized Gamma Distributions. **Journal of American Statistical Association** **65:** 930-945.

MONTEIRO, LR & REIS, SF, 1999 **Princípios De Morfometria Geométrica.** Editora Holos, Ribeirão Preto.

MOSIMANN, JE & JAMES, FC, 1979 Statistical Methods For Allometry With Application To Florida Red-Winged Blackbirds. **Evolution** **33:** 444-459.

NARCHI, W & GALVÃO-BUENO, MS, 1997 Anatomia Funcional De *Perna perna* (Linne) (Bivalvia, Mytilidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **14(1):** 135-168.

PAES, ET, 2002 Nécton Marinho. In: **Biologia Marinha** Editora Interciêncie Rio de Janeiro Pp 159-193.

REIS, SF, 1988 Morfometria E Estatística Multivariada Em Biologia Evolutiva.

Revista Brasileira de Zoologia 5(4): 571-580.

REIS, SF, CUNHA, RA, GARAVELLO, JC & ABE, AS, 1987 Discriminação Pela Forma Em Relação Ao Tamanho: Um Exemplo Com Peixes Do Gênero *Leporinus*. **Ciência e Cultura 39: 757-761.**

ROTH, LV & MERCER, JM, 2000 Morphometrics In Development And Evolution. **American Zoologist 40: 801-810.**

SALE, PF, 1990 Recruitment Of Marine Species: Is The Bandwagon Rolling In The Right Direction? **Trends in Ecology and Evolution 5: 25-27.**

SEED, R, 1968 Factors Influencing Shell Shape In The Mussel *Mytilus edulis*. **Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom 48: 561-584.**

SILVA, EP, 1991 **Estudos Em Genética Bioquímica Com Os Moluscos Bivalves *Perna perna* (Linné, 1758) (Mytilidae) e *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin,1751) (Veneridae)**. Tese de mestrado, UFRJ.

SILVA, EP, SOLÉ-CAVA, AM & COUTINHO, R, 1998 Low Levels Of Gene Flow In Brown Mussel *Perna perna* (Linnaeus,1758) Populations At An Upwelling Region In Southeast Brazil. *In: International Workshop on Marine Genetics - Rio 98* Pp 67.

SLATKIN, M, 1987 Gene Flow And The Geographical Structure Of Natural Populations. **Science 236: 787-792.**

SMITH, J, 1998 Allometric Influence On Phenotypic Variation In The Song Sparrow (*Melospiza melodia*). **Zoological Journal of the Linnean Society 122: 427-454.**

SMITH, JE, 1981 The Natural History And Taxonomy of Shell Variation In The Periwinkles *Littorina saxatilis* and *Littorina rudis*. **Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom 61: 215-241.**

- SMITH, MF & PATTON, JL, 1988 Subspecies Of Pocket Gophers: Causal Bases For Geographic Differentiation In *Thomomys bottae*. **Systematic Zoology** **37:** 163-178.
- SOKAL, RR & ROHLF, FJ, 1981 **Biometry**. WH Freeman, 2nd ed, San Francisco.
- SOLÉ-CAVA, A, RUSSO, CA & SILVA, EP, 1992 Fluxo Gênico E Estruturação Em Populações De Invertebrados Marinhos Bênticos. **Revista Brasileira de Genética** **15(suplemento):** 274-279.
- SOMMERS, KM, 1986 Multivariate Allometry And Removal Of Size With Principal Component Analysis. **Systematic Zoology** **35:** 359-368.
- STRAUSS, RE & BOOKSTEIN, FL, 1982 The Truss: Body Form Reconstruction In Morphometrics. **Systematic Zoology** **31:** 169-173.
- SUNDBERG, P, 1988 Microgeographic Variation In Shell Characters Of *Littorina saxatilis* Olivi – A Question Mainly Of Size? **Biological Journal of the Linnean Society** **35:** 169- 184.
- SWEET, SS, 1980 Allometric Inference In Morphology. **American Zoologist** **20:** 643-652.
- THOMPSON, DAW, 1917 **On The Growth And Form**. MacMillan Press, Londres.
- THORPE, RS, 1976 Biometric Analysis Of Geographic Variation And Racial Affinities. **Biology Reviews** **51:** 407-452.
- TZENG, TD & YEH, SY, 1999 Analysis Of The Morphometric Characters Of Kuruma Shrimp (*Penaeus japonicus*) In The East China And The Taiwan Strait. **Journal of Fisheries Society of Taiwan** **26(4):** 203-212.
- TZENG, TD & YEH, SY, 2002 Multivariate Allometric Comparisons For Kuruma Shrimp (*Paeneus japonicus*) Off Taiwan. **Fisheries Research** **59:** 279-288.

VIEIRA, AC & MORAES, RBC, 1999 Efeitos Da Qualidade Ambiental Da Baía De Guanabara Nas Populações De Mexilhões *Perna perna*. In: **Workshop: Efeitos de Poluentes em Organismos Marinhos** Pp 27.

WATTS, RJ, JOHNSON, MS & BLACK, R, 1990 Effects Of Recruitment On Genetic Patchiness In The Urchin *Echinometra Mathaei* In Western Australia. **Marine Biology 105: 145-152.**

WILLIAMS, ST & BENZIE, JAH, 1998 Evidence Of A Biogeographic Break Between Populations Of A Highly Dispersal Starfish: Congruent Regions Within The Indo-West Pacific Defined By Color Morphs, mtDNA, And Allozyme Data. **Evolution 52: 87-99.**

Para pintar o retrato de um pássaro

Jacques Prévert

*Primeiro pintar uma gaiola
com a porta aberta
pintar depois
algo de lindo
algo simples
algo de belo
algo de útil
para o pássaro
depois dependurar a tela numa árvore
num jardim
num bosque
ou numa floresta
esconder-se atrás da árvore
sem nada dizer
sem se mexer...
Às vezes o pássaro chega logo
mas pode ser também que leve muitos
anos
para se decidir
Não perder a esperança
esperar
esperar se preciso durante anos
a pressa ou a lentidão da chegada do
pássaro
nada tendo a ver
com o sucesso do quadro
Quando o pássaro chegar
se chegar
guardar o mais profundo silêncio*

*esperar que o pássaro entre na gaiola
e quando já estiver lá dentro
fechar lentamente a porta com o pincel
depois
apagar uma a uma todas as grades
tendo o cuidado de não tocar numa
única pena do pássaro
Fazer depois o desenho da árvore
escolhendo o mais belo galho
para o pássaro
pintar também a folhagem verde e a
frescura do vento
a poeira do sol
e o barulho dos insetos pelo capim no
calor do verão
e depois esperar que o pássaro queira
cantar
Se o pássaro não cantar
mau sinal
sinal de que o quadro é ruim
mas se cantar bom sinal
sinal de que pode assiná-lo
Então você arranca delicadamente
uma das penas do pássaro
e escreve seu nome num canto do
quadro.*

tradução de Silviano Santiago