



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA  
AQUÁTICA E PESCA

**CRISTIANE VIEIRA DA CUNHA**

**DISTRIBUIÇÃO E ECOMORFOLOGIA DE *NERITINA ZEBRA* (BRUGUIERE,  
1792) (MOLLUSCA: GASTROPODA:NERITIDAE), EM UM ESTUÁRIO  
AMAZÔNICO, PARÁ, BRASIL.**

**BELÉM  
2012**

CRISTIANE VIEIRA CUNHA

**DISTRIBUIÇÃO E ECOMORFOLOGIA DE *NERITINA ZEBRA* (BRUGUIERE, 1792) (MOLLUSCA: GASTROPODA:NERITIDAE), EM UM ESTUÁRIO AMAZÔNICO, PARÁ, BRASIL.**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA.

ORIENTADOR: **DR.º JAMES TONY LEE**

CO-ORIENTADOR: **DR.º FRANKLIN NOEL DOS SANTOS**

**Belém  
2012**

Cristiane Vieira da Cunha

**DISTRIBUIÇÃO E ECOMORFOLOGIA DE *NERITINA ZEBRA*  
(BRUGUIERE, 1792) (MOLLUSCA: GASTROPODA: NERITIDAE), EM UM  
ESTUÁRIO AMAZÔNICO, PARÁ, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ecologia Aquática e Pesca cuja banca examinadora constituída pelos pesquisadores listados abaixo, tendo obtido o conceito **Bom**.

Dissertação apresentada e aprovada em 25 de maio de 2012.

---

**ORIENTADOR:**

**DR<sup>o</sup>. JAMES TONY LEE**

Faculdade de Oceanografia, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Pará

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Dr.<sup>a</sup> Helena Matthews-Cascon**

Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceará

---

**Dr.<sup>o</sup> Colin Robert Beasley**

Instituto de Estudos Costeiros

Universidade Federal do Pará, Campus de Bragança.

---

**Dr.<sup>o</sup> José Souto Rosa Filho.**

Faculdade de Oceanografia, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Pará

**Belém  
2012**

*Dedico esta dissertação:  
A Deus pelo seu infinito amor.  
A Ednalva, minha querida mãe.  
A Sofia e Ada Evilin, minhas preciosas filhas.*

*Bem aventurado o homem que acha  
sabedoria e o homem que adquire  
conhecimento. Pv. 3:13.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus que é digno de toda honra e de toda glória e que me sustentou até aqui me impulsionando para concluir mais esta etapa de minha vida.

A minha mãe, pelos dois anos dedicados a cuidar de minhas filhas para que eu pudesse terminar este mestrado, por me incentivar a conquistar os melhores espaços, me encorajando a ultrapassar os obstáculos na conquista de meus objetivos.

Ao meu pai e meus irmãos Vilson, Edmárcio, Wilton Cleide e Jarana que sempre me apoiaram em meus objetivos. A Jarana, o Edmarcio e o Cleide que cuidou das minhas filhas quando precisava, por terem levado a Sofia na escola e ensinado a ela as lições de casa tantas vezes em minha ausência.

A Dona Darc, minha mãe do coração, que me abrigou e me amou nestes dois anos e toda a sua família.

Aos meus orientadores <sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Franklin Noel dos Santos e em especial a Prof.<sup>o</sup> Dr. <sup>o</sup> James Tony Lee por ter abraçado de perto esta pesquisa juntamente comigo e ter me auxiliado em cada etapa do desenvolvimento desta dissertação. A professora Dr<sup>a</sup> Silivina Van der Molen, pelas explicações e ajuda no segundo capítulo desta dissertação.

Aos meus colegas de turma que sempre me incentivaram e me colocavam pra cima quando pensava em desistir, em especial a Luciana, Sheila e Cristiane e aos colegas das turmas anteriores Pâmela, Brenda e Alanny.

A todos os meus amigos que são muitos e que com suas amizades suavizavam a rotina diária, em especial á Luciana e Sheila, minhas irmãs do coração e a Glaucia e Isac por suas palavras confortantes.

A Cristiane e ao Silvio que me apresentaram a pessoa maravilhosa e que hoje faz parte da minha vida, Dona Dar'c.

A todos aqueles que diretamente ou indiretamente colaboraram e torceram pela realização deste trabalho em especial a Eliete e Pitoka .

A Universidade Federal do Pará e a Capes pela concessão da bolsa através do programa de Pós Graduação em Ecologia Aquática e Pesca.

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| LISTA DE FIGURA.....  | 9  |
| LISTA DE TABELAS .....  | 11 |
| ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO .....  | 12 |
| CAPÍTULO GERAL.....   | 13 |
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 13 |
| 2. OBJETIVOS.....   | 16 |
| 2.1. GERAL.....   | 16 |
| 2.2. ESPECÍFICOS .....  | 16 |
| CAPITULO 1- PADRÕES ESPAÇO-TEMPORAIS DE DENSIDADE DE <i>NERITINA ZEBRA</i><br>(BRUGUIERE, 1792) EM UM ESTUÁRIO AMAZÔNICO, PARÁ, BRASIL..... | 20 |
| RESUMO.....   | 20 |
| ABSTRAT .....   | 21 |
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 22 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS: .....  | 23 |
| 2.1. ÁREA DE ESTUDO.....  | 23 |
| 2.2. DESENHO AMOSTRAL: .....  | 25 |
| 2.2.1. DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE JUVENIS E ADULTOS .....   | 26 |
| 2.2.2. DISTRIBUIÇÃO DE JUVENIS E ADULTOS ENTRE OS SUBSTRATOS .....  | 27 |
| 2.3 ANÁLISE DE DADOS .....  | 28 |
| 3. RESULTADOS: .....  | 29 |
| 3.1. DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE JUVENIS.....  | 29 |
| 3.2. DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE ADULTOS.....  | 30 |
| 2.....  | 31 |
| 3.3. DISTRIBUIÇÃO DE JUVENIS ENTRE OS SUBSTRATOS .....  | 32 |
| 3.4. DISTRIBUIÇÃO DE ADULTOS ENTRE OS SUBSTRATOS .....  | 33 |
| 4. DISCUSSÃO.....   | 34 |
| 4.1 DISTRIBUIÇÃO VERTICAL.....  | 34 |
| 4.2 DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS SUBSTRATOS.....   | 38 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS.....   | 41 |
| REFERÊNCIAS .....   | 43 |
| CAPITULO 2 – ECOMORFOLOGIA DE <i>NERITINA ZEBRA</i> (BRUGUIERE, 1792) EM UM<br>ESTUÁRIO NA AMAZÔNIA BRASILEIRA, BRASIL. ....                | 47 |
| RESUMO.....   | 47 |
| ABSTRAT .....   | 47 |
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 48 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....  | 49 |
| 2.1. ÁREA DE ESTUDO .....   | 49 |
| 2.2. AMOSTRAGEM DE CAMPO.....   | 51 |
| 2.3. CAPTURA DE IMAGENS E SELEÇÃO DE MARCOS (LM E SML).....   | 51 |
| 2.4. ANÁLISE DOS DADOS:.....  | 52 |
| 3. RESULTADOS.....  | 54 |
| 4. DISCUSSÃO.....   | 57 |

|                               |           |
|-------------------------------|-----------|
| <b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b> | <b>61</b> |
| <b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b> | <b>62</b> |
| <b>REFERÊNCIAS:.....</b>      | <b>64</b> |



## LISTA DE FIGURA

### CAPITULO 1- PADRÕES ESPAÇO-TEMPORAIS DE DENSIDADE DE *NERITINA ZEBRA* (BRUGUIERE, 1792) EM UM ESTUÁRIO AMAZÔNICO, PARÁ, BRASIL.

**Figura 1.** Mapa da área de estudo localizado no litoral da costa do Pará em praias de substrato consolidado em Icoaraci, Mosqueiro e Colares, Estado do Pará, Brasil. -----24

**Figura 2.** Locais de coleta localizado no litoral da costa do Pará em praias de substrato consolidado nos distritos de (A) Icoaraci, (B) Mosqueiro do município de Belém e no município de (C) Colares, Estado do Pará, Brasil. -----25

**Figura 3.** Delineamento amostral com a indicação dos fatores testados para caracterização dos padrões de distribuição de *Neritina zebra* nas zonas inferior e média em substrato rocha do entremarés. A) Juvenis. B) Adultos. -----27

**Figura 4.** Delineamento amostral com a indicação dos fatores para caracterização dos padrões de distribuição de *Neritina zebra* em substrato rocha e argilite do entremarés em Mosqueiro e Colares. A) Indivíduos juvenis. B) Indivíduos adultos. -----28

**Figura 5.** Densidade de juvenis de *Neritina zebra* (ind./m<sup>2</sup> ± erro padrão) por local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) e estação do ano (chuvosa e de estiagem) nas diferentes zonas do entremarés (INF=inferior, MED=médio).-----30

**Figura 6.** Densidade de adultos de *Neritina zebra* (ind./m<sup>2</sup> ± erro padrão) por local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) e estação do ano (chuvosa e de estiagem) nas diferentes zonas do entremarés (INF=inferior, MED=médio).-----32

**Figura 7.** Densidade de juvenis de *Neritina zebra* (ind./m<sup>2</sup> ± erro padrão) por local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) e estação do ano (chuvosa e de estiagem) nos diferentes substratos do entremarés (INF=inferior, MED=médio).-----33

**Figura 8.** Densidade de adultos de *Neritina zebra* (ind./m<sup>2</sup> ± erro padrão) por local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) e estação do ano (chuvosa e de estiagem) nos diferentes substratos do entremarés (INF=inferior, MED=médio).-----34

### CAPITULO 2 – ECOMORFOLOGIA DE *NERITINA ZEBRA* (BRUGUIERE, 1792) EM UM ESTUÁRIO NA AMAZÔNIA BRASILEIRA, BRASIL.

**Figura 1:** Mapa da área de estudo localizado no litoral da costa do Pará em praias de substrato consolidado em Icoaraci, Mosqueiro e Colares, Estado do Pará, Brasil. .... 50

**Figura 2:** Procedimentos para obtenção dos marcos A) *Neritina zebra*; B) apresentação do esquema da delimitação dos marcos LM (1 e 26) e semimarcos SLM (2 a 25). ..... 52

**Figura 3.** Representação dos CP1 e CP2 da ACP que explicam 66,1% da variância. ACP= Análise de Componentes Principais; CP= Componente Principal. .... 54

**Figura 4:** Representação gráfica das deformações relativas TPS (*Thin Plate Spline*) em relação à configuração dos valores médios: **A** e **B**: PC1; **C** e **D**: PC2. Azul claro indica os valores médios, azul escuro indica as deformações e as setas indicam o sentido da deformação na concha. .... 55

**Figura 5:** Análise discriminante entre os grupos e representação gráfica das deformações. **A.** Gráfico da Análise de Variáveis Canônicas - AVC aplicada aos três locais amostrados, Icoaraci, Mosqueiro e Colares. Polígono no interior indicando as amostras referentes à AVC de validação cruzada. Representação gráfica da deformação da curvatura da concha em; **B:** Icoaraci; **C:** Mosqueiro; **D:** Colares..... 56

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO 1- PADRÕES ESPAÇO-TEMPORAIS DE DENSIDADE DE *NERITINA ZEBRA* (BRUGUIERE, 1792) EM UM ESTUÁRIO AMAZÔNICO, PARÁ, BRASIL.

**Tabela 1.** Resultados da ANOVA e o teste SNK na densidade de juvenis de *Neritina zebra* em substrato rochoso para os fatores: Local (Mosqueiro e Colares), Estação (chuvosa e estiagem) e Zona (Média e Inferior). \*  $p < 0,05$ ; NS = Não significativo; Inf.= Zona Inferior; Med= Zona Média; Est.= Estação de Estiagem; Ch. = Estação Chuvosa. GL= grau de liberdade; SM = Soma dos quadrados. -----30

**Tabela 2.** Resultados da ANOVA e SNK na densidade de adultos de *Neritina zebra* para as interações entre os fatores Local, Estação e Zona em substrato rochoso em Icoaraci (I), Mosqueiro (M) e Colares (C). \*  $p \leq 0,05$ ; NS = Não significativo; Est= Estiagem; Ch. = Chuvoso; GL= grau de liberdade; SM = Soma dos quadrados. -----31

**Tabela 3.** Resultados da ANOVA e SNK na densidade de juvenis de *Neritina zebra* para os fatores Local (Mosqueiro - M e Colares - C), Estação (chuvosa e estiagem) e Substrato (rochoso e argilito). \*  $p \leq 0,05$ ; NS = Não significativo; GL= grau de liberdade; SM = Soma dos quadrados. -----32

**Tabela 4.** Resultados da ANOVA e SNK para adultos de *Neritina zebra* para os fatores Local, Estação e Substratos rochoso e argilito em Icoaraci (I) Mosqueiro (M) e Colares (C). \*  $p \leq 0,05$ ; NS = Não significativo. Est.= Estiagem; Ch. = Chuvoso; Ro=Rocha; Arg. = Argilito; ; GL= grau de liberdade; SM = Soma dos quadrados. -----34

### CAPITULO 2 – ECOMORFOLOGIA DE *NERITINA ZEBRA* (BRUGUIERE, 1792) EM UM ESTUÁRIO NA AMAZÔNIA BRASILEIRA, BRASIL.

**Tabela 1:** Resumo da Análise de Variáveis Canônicas e os valores das distâncias de Mahalanobis. Amostras referentes aos locais Icoaraci, Mosqueiro e Colares. \*\*:  $p < 0.01$ . CV: Variáveis Canônicas-----55

## ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação foi elaborada em formato de artigos e dividida em dois capítulos, conforme opção do regimento do programa de Pós Graduação em Ecologia Aquática e Pesca.

Um Capítulo Geral é apresentado contendo uma revisão bibliográfica sobre os aspectos gerais do tema e as principais informações sobre a distribuição de organismos em regiões costeiras em substratos consolidados. Os principais padrões e processos atuantes neste habitat são apresentados, assim como o uso da morfometria geométrica como ferramenta para compreensão dos processos ambientais atuantes na morfologia da concha em moluscos. Em seguida é apresentado o conhecimento atual sobre a espécie alvo e os objetivos da pesquisa desenvolvida nesta dissertação.

O **Capítulo 1** apresenta os padrões de distribuição de *Neritina zebra* em substratos consolidados e a zonação deste no ambiente de entremarés em três localidades na costa do estado do Pará (Icoaraci, Mosqueiro e Colares). Neste capítulo é caracterizada a distribuição ontogenética (juvenis e adultos) da espécie em dois substratos dominantes (rocha e argilito) e a zonação em um gradiente vertical do entremarés.

O **Capítulo 2** apresenta as variações na plasticidade da concha de *Neritina zebra* em indivíduos adultos em relação aos diferentes locais amostrados. O objetivo deste capítulo foi verificar se os espécimes coletados apresentavam diferentes morfologias de concha em relação às condições ambientais encontradas nos locais amostrados utilizando-se a morfometria geométrica.

No capítulo final são apresentadas as Conclusões Gerais e Perspectivas de continuidade de estudos com a espécie *Neritina zebra* para melhor compreensão de sua distribuição e como esta distribuição influencia nas diferentes morfologias da concha.

## CAPÍTULO GERAL

### 1. INTRODUÇÃO

A ecologia espacial é um dos campos da ecologia que busca entender como os padrões e os processos ecológicos variam no tempo e no espaço, em relação à densidade populacional, abundância e riqueza de espécies (Fortin *et al.*, 2005; Odum, 1985). Os padrões espaciais são baseados em dados quantitativos comparados entre vários locais (Underwood, Chapman, Cole, & Palomo, 2008) e que também pode medir as variações morfológicas de uma determinada espécie (Etter, 1989) e em especial em costões rochosos (Coutinho *et al.*, 2002).

Os costões rochosos são ambientes formados por substratos consolidados, afloramentos ou fragmentos rochosos (Lewis, 1964). Os fragmentos rochosos são áreas intermediárias entre substratos inconsolidados e substratos consolidados (Rios & Mutschke, 1999). Em costões rochosos a distribuição da fauna e flora é um reflexo dos vários fatores físicos e biológicos que ocorrem nestas áreas.

De acordo com Odum (1985) e Menge & Lubchenco (1981) os fatores físicos, tais como temperatura, hidrodinâmica, dessecação, disponibilidade de oxigênio, assim como fatores bióticos como, por exemplo, competição e predação são responsáveis pelo estabelecimento dos limites de distribuição.

Um padrão típico que limita a distribuição dos organismos em costões rochosos é em relação à variação da maré, que gera a zonação dos organismos bentônicos (Coutinho, 1995) e em relação à heterogeneidade do costão rochoso (Kostylev *et al.*, 2005). Em zonas costeiras, especialmente em costões rochosos é fundamental entender os padrões de distribuição dos organismos animais e vegetais ao longo do tempo e do espaço, pois nos dão dados sólidos sobre as possíveis causas das diferentes tendências de variações ao longo da costa (Underwood *et al.*, 2008). Entretanto cada costão rochoso e cada zona do entremarés podem apresentar variações nos padrões de distribuição (Coutinho *et al.*, 1992).

Por exemplo, Underwood *et al.* (2008) avaliaram a distribuição e densidade de espécies de moluscos, algas, cracas e crustáceos em escala de quilômetros e encontraram diferentes padrões de distribuição ao longo de uma costa rochosa na Austrália e também entre as zonas no entre marés. A zonação por sua vez, resulta em diferentes padrões na distribuição dos organismos e é bem definida quanto a sobrevivência de fauna herbívora associada à zona do médio litoral, que pode estar ligada ao zoneamento das macro-algas e a exposição que estes organismos conseguem suportar devido às variações da maré (Coutinho, 1995; Menconi *et al.*, 1999; Underwood, 1984).

Esta relação entre as zonas fica clara em trabalhos como de Tan & Clements (2008) e Osorio & Cantuarias (1989) com moluscos nerítídeos que observaram diferentes padrões de densidade e riqueza em relação à zonação no entremarés, esta limitação está relacionada principalmente pela disponibilização de alimento nas diferentes zonas. No entanto os padrões de zonação também podem estar associados à preferência por diferentes tipos de substrato, podendo, a estrutura e a complexidade de habitat sustentar um maior número de espécies (Hutchinson & Williams, 2001; Osorio & Cantuarias, 1989).

Outros fatores como a amplitude da maré e a velocidade da corrente podem modificar a morfologia da costa e a estrutura do habitat (Vakarelov, Ainsworth, & MacEachern, 2011), que por sua vez podem modificar a riqueza e densidade nas comunidades que vivem no entremarés, como observado em espécies sésseis e móveis de costões rochosos na Austrália (McGuinness & Underwood, 1986). Além dos padrões de densidade e riqueza, diferenças morfológicas também podem ser encontradas em relação aos gradientes ambientais nos quais os indivíduos ocorrem (Carvajal-Rodríguez, Conde-Padín, & Roland-Alvarez, 2005).

Estas variações morfológicas podem estar relacionadas à história evolutiva da espécie (Márquez, Robledo, Peñaloza, & Van Der Molen, 2010) e/ou à capacidade que esta tem em se adaptar ao ambiente, como já observado em moluscos (Carvajal-Rodríguez *et al.*, 2005; Faurby *et al.*, 2011). Variações morfológicas de uma espécie podem ser medidas através da

morfometria geométrica (Adams, Rohlf, & Slice, 2004), que foi definida por Bookstein (1982) como uma fusão entre a geometria e a biologia. Para isto, o autor utilizou métodos numéricos para descrever a forma corporal de uma espécie em um espaço bi- ou tridimensional.

Esta metodologia tem sido empregada para descrever variações de espécies em relação à zonação e em escalas de vários quilômetros em um gradiente ambiental, mostrando-se uma ferramenta robusta para verificar diferenças morfológicas em moluscos (Carvajal-Rodríguez *et al.* 2005; Gardner & Westfall 2011; Abslão & Santos 2004; Bocxlaer & Schultheiß, 2010).

Espécies de moluscos gastrópodes da família Neritidae têm sido investigadas quanto a sua distribuição vertical e horizontal no entremarés (Blanco & Scatena, 2006; Osorio & Cantuarias, 1989), no entanto estudos quanto às suas diferentes morfologias ainda não foram registrados. Gastrópodes nerítídeos muitas vezes podem estar distribuídos associados a diversos habitats e em escalas de vários quilômetros (Blanco & Scatena, 2006). Em Cingapura foram registradas dezenove espécies pertencentes à família Neritidae em um levantamento da malacofauna (Tan & Clements, 2008; Tan & Woo, 2010).

No Brasil, Absalão, Cardoso & Alencar (2009) avaliaram a dinâmica populacional de *Neritina virginea* (Linnaeus, 1758) analisando o crescimento e os padrões de fecundidade em um estuário no Rio de Janeiro. Estudos sobre *Neritina zebra* ainda são escassos, tendo sido descrito a anatomia e desenvolvimento intracapsular da espécie em um estuário no Ceará (Barroso, & Matthews-Cascon, 2009). Na região Amazônica, os primeiros estudos sobre *Neritina zebra* foram realizados na costa do Pará por Borges (2010) que registrou grandes densidades em afloramentos rochosos na ilha de Mosqueiro.

A zona costeira amazônica possui um sistema fluvial caracterizado por meso-máres e macro-marés e bancos lamosos provocados pelo movimento das massas de sedimento através da ação de ondas e correntes (Sternberg, Cacchione, Paulsonj & Drake, 1996; Barbosa, 2007). Ocasionalmente estas áreas são interrompidas por afloramentos rochosos e blocos de argilito

(Barbosa, 2007; El-Robrini, 2001; Farias, 2006), como pode ser observado na área estudada.

Por estes motivos, a presente pesquisa analisará os padrões de distribuição de jovens e adultos da espécie *Neritina zebra* em três localidades na costa do Pará (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) para compreender: (1) Como a zonação dos indivíduos de *N. zebra* é influenciada pelos locais e pela sazonalidade. (2) Como os tipos de substratos (rocha e argilito) influenciam na distribuição de *N. zebra* (indivíduos jovens e adultos) em relação aos locais e a sazonalidade. (3) E, qual a plasticidade da concha de *Neritina zebra* em um gradiente de exposição a ondas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Avaliar os padrões de distribuição espacial e temporal de densidade e variações morfométricas do gastrópode *Neritina zebra* em um gradiente geográfico que apresentam diferentes condições ambientais no entremarés em Icoaraci, Mosqueiro e Colares, Pará, Brasil.

### **2.2. Específicos**

- Identificar os padrões de zonação vertical dos espécimes juvenis e adultos em substrato rochoso na zona média e inferior do entremarés.
- Identificar os padrões de distribuição horizontal dos espécimes juvenis e adultos em substrato rocha e argilito na zona inferior do entremarés.
- Descrever a variação da densidade entre a estação chuvosa e de estiagem e as variações espaciais.
- Investigar possíveis diferenças morfológicas na concha de *Neritina zebra* em Icoaraci, Mosqueiro e Colares, usando a morfometria geométrica moderna.



## BIBLIOGRAFIA

- ABSLÃO, R. S., & SANTOS, F. N. (2004). Recent deep-sea species of benthonellania Lozouet, 1990 (Gastropoda: Rissoidae) from the southwestern Atlantic, with descriptions of two new species utilizing a shell morphometric- multivariate approach. *Journal of Conchology*, **38**: 1-12
- ABSALÃO, R. S., CARDOSO, R. S., & ALENCAR, A. S. (2009). Population dynamics and secondary production of the snail *Neritina virginea* (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Gastropoda: Neritidae) in an estuary in southern Brazil. *Animal Biology Journal*, Volume **1**: 1-15.
- ADAMS, D. C., ROHLF, F. J., & SLICE, D. E. (2004). Geometric morphometrics: ten years of progress following the revolution. *Italian Journal of Zoology*, **71**: 5–16.
- BARBOSA, E. J. D. S. 2007. Unidades de relevo em zona costeira estuarina: municípios de Colares e Santo Antônio do Tauá PA. Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- BARROSO, C. X. & H. MATTHEWS-CASCON. (2009). Spawning and intracapsular development of *Neritina zebra* ( Bruguière , 1792 ) ( Mollusca : Gastropoda : Neritidae ) under laboratory conditions. *Invertebrate Reproduction and Development*, **53**: 137-143.
- BLANCO, J. F., & SCATENA, F. N. (2006). Hierarchical contribution of river ocean connectivity , water chemistry , hydraulics , and substrate to the distribution of diadromous snails in Puerto Rican streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, **25**: 82-98.
- BOCXLAER, B. V., & SCHULTHEIß, R. 2010. Comparison of morphometric techniques for shapes with few homologous landmarks based on machine-learning approaches to biological discrimination. *Paleobiology*, **36**: 497-515.
- BORGES, A. N. D. S. (2010). Crescimento e dinâmica populacional de *Neritina zebra* (Bruguière, 1792) (Mollusca: Gastropoda) na região do entremarés da ilha de Mosqueiro, Belém- Pa. Universidade Federal do Pará. Centro de Ciências Biológicas. Belém-PA. (Trabalho de Conclusão de Curso).
- BOOKSTEIN, F. L. (1982). Foundations of morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **13**: 451-470.
- CARVAJAL-RODRÍGUEZ, A., CONDE-PADÍN, P., & ROLAND-ALVAREZ, E. (2005). Decomposing shell form into size and shape by geometric morphometric methods in two sympatric ecotypes of *Littorina saxatilis*. *Journal of Molluscan Studies*, **71**:313-318.
- COUTINHO, R. (1995). Avaliação crítica das causas da zonação dos organismos bentônicos. *Oecologia Brasiliensis*, **1**: 259-271.

- EL-ROBRINI, M.H.S., 2001. Estudo da variabilidade morfo-sedimentar sazonal de praias estuarinas - ilha de Mosqueiro. Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. (Dissertação de Mestrado).
- FARIAS, D. R. (2006). Variabilidade morfo-sedimentar das praias estuarinas do Amor e dos Artistas (ilha de Caratateua, Pará). Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. (Dissertação de Mestrado).
- FAURBY, S., NIELSEN, K. S. K., BUSSARAWIT, S., INTANAI, I., VAN CONG, N., PERTOLDI, C., & FUNCH, P. (2011). Intraspecific shape variation in horseshoe crabs: The importance of sexual and natural selection for local adaptation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **407**: 131-138.
- FORTIN, M., KEITT, T. H., MAURER, B. A., TAPER, M. L., KAUFMAN, D. M., & BLACKBURN, T. M. (2005). Species geographic ranges and distributional limits : pattern analysis and statistical issues. *Oikos*, **1**:7-17.
- GARDNER, J. P. A., & WESTFALL, K. M. (2011). Geographic distribution and molecular identification of a metapopulation of blue mussels (genus *Mytilus*) in northeastern New Zealand. *Journal of Molluscan Studies*, **78**: 66-73.
- HUTCHINSON, N., & WILLIAMS, G. A. (2001). Spatio-temporal variation in recruitment on a seasonal , tropical rocky shore : the importance of local versus non-local processes. *Marine Ecology Progress Series*, **215**:57-68.
- KOSTYLEV, V., ERLANDSSON, J., MING, M., & WILLIAMS, G. (2005). The relative importance of habitat complexity and surface area in assessing biodiversity: Fractal application on rocky shores. *Ecological Complexity*, **2**: 272-286.
- LEWIS, J. R. (1964). ***The Ecology of Rocky Shores***. The English Universities Press LTD, London.
- MÁRQUEZ, F., ROBLEDO, J., PEÑALOZA, G. E., & VAN DER MOLEN, S. (2010). Use of different geometric morphometrics tools for the discrimination of phenotypic stocks of the striped clam *Ameghinomya antiqua* (Veneridae) in north Patagonia, Argentina. *Fisheries Research*, **101**:127-131.
- McGUINNESS, K. A., & UNDERWOOD, A. J. (1986). Habitat structure and the nature of communities on intertidal boulders. *Zoology*, **104**:97-123.
- MENCONI, M., BENEDETTI-CECCHI, L., & CINELLI, F. (1999). Spatial and temporal variability in the distribution of algae and invertebrates on rocky shores in the northwest Mediterranean. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **233**: 1-23.

- MENGE, B. A., & LUBCHENCO, J. (1981). Community organization in temperate and tropical rocky intertidal habitats: prey refuges in relation to consumer pressure gradients. *Ecological Monographs*, **51**: 429-450.
- RIOS, C. & MUTSCHKE, E. (1999). Community structure of intertidal boulder-cobble fields in the Straits of Magellan, Chile. *Scientia Marina*, **63**, 193-201.
- ODUM, E. P. (1986). *Ecologia*. Rio de Janeiro: Guanabara.
- OSORIO, C., & CANTUARIAS, V. (1989). Vertical distribution of mollusks on the rocky intertidal of easter Island. *Pacific Science*, **43**: 302-315.
- TAN, S. K., & CLEMENTS, R. (2008). Taxonomy and distribution of the Neritidae (Mollusca: Gastropoda) in Singapore. *Zoological Studies*, **47**: 481-494.
- TAN, S. K. & H. P. M. WOO. 2010. *A preliminary checklist of the molluscs of Singapore*. Raffles Museum of Biodiversity Research, National University of Singapore, Singapore.
- UNDERWOOD, A. J. (1984). Microalgal food and the growth of the intertidal gastropods *Nerita atramentosa* reeve and *Bembicium nanum* (Lamarck) at four heights on a shore. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **79**: 277-291
- UNDERWOOD, A. J., CHAPMAN, M. G., COLE, V. J., & M. G. PALOMO. (2008). Numbers and density of species as measures of biodiversity on rocky shores along the coast of New South Wales. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **366**:175-183.
- VAKARELOV, B. K., AINSWORTH, R. B., & MACEACHERN, J. A. (2011). Recognition of wave-dominated, tide-influenced shoreline systems in the rock record: variations from a microtidal shoreline model. *Sediment. Geol.* (2011), doi:10.1016/j.sedgeo.2011.03.004

## **CAPITULO 1- PADRÕES ESPAÇO-TEMPORAIS DE DENSIDADE DE *NERITINA ZEBRA* (BRUGUIERE, 1792) EM UM ESTUÁRIO AMAZÔNICO, PARÁ, BRASIL.**

Cristiane Vieira da CUNHA<sup>1</sup>  
James Tony LEE<sup>1</sup>  
Franklin Noel dos SANTOS<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Pará – Laboratório de Biologia Pesqueira e Manejo de Recursos Aquáticos – Av. Perimetral, n. 2651. Terra Firme. Belém, PA. CEP 66077- 830. Brasil. E-mail: [crisvieira\\_cunha@hotmail.com](mailto:crisvieira_cunha@hotmail.com).

<sup>2</sup> Centro Universitário Norte do Espírito Santo - CEUNES, Universidade Federal do Espírito Santo, BR 101 Norte km 60, Litorâneo, São Mateus, Espírito Santo.

### **RESUMO**

O presente estudo avaliou a distribuição de *Neritina zebra* em um gradiente vertical em afloramentos rochosos e a distribuição entre os afloramentos de rochosos e argilito do entremarés em um estuário na Amazônia brasileira. Os locais de coletas são caracterizados por águas oligohalinas, sendo localizadas nos distritos de Icoaraci, Mosqueiro e município de Colares na região costeira do Estado do Pará. Para avaliar a distribuição vertical nos substratos rochosos, os moluscos foram amostrados na faixa inferior e média do mesolitoral. Na faixa inferior do mesolitoral, onde ocorrem os substratos argilito e rocha, estes foram amostrados para verificar seu efeito na distribuição entre os substratos. Em cada tipo de substrato e faixa do entremarés foram amostrados aleatoriamente 22 réplicas utilizando-se um quadrante de 25cm<sup>2</sup> na estação chuvosa e de estiagem. Análises de Variâncias foram realizadas para testar (1) o efeito da zona do entremarés e (2) o tipo de substrato na densidade de *N. zebra*. A análise dos resultados da distribuição vertical mostrou que a zona inferior os indivíduos juvenis apresentam maior densidade que a zona média, e um padrão oposto parece ocorrer com espécimes adultos. Quanto à distribuição nos diferentes substratos, os resultados mostraram que existem maiores densidades nos substratos rochosos que nos argilosos para os indivíduos juvenis, mas não foi encontrado um padrão para os indivíduos adultos. Esta variabilidade no padrão de densidades entre os substratos e entre as zonas do entremarés mostrou influência das estações e dos locais de coleta, apresentando Icoaraci com as menores densidades, o que pode estar associado à atividade antrópica naquela localidade.

**PALAVRAS CHAVE:** gastrópode, entremarés, zonação, substrato, densidade.

## ABSTRACT

The present study evaluates the vertical distribution of *Neritina zebra* in rocky outcrops in the lower and middle intertidal, intertidal as well as the horizontal distribution between rocky and clay substrates of an estuary in the Brazilian Amazon. The sampling areas are located in an oligohaline area in Icoaraci, Mosqueiro and Colares, at the coast of the State of Pará, Brasil. To evaluate the vertical distribution on rocky substrata, substratumolluscs were esampled in the lower and middle intertidal. intertidal In the lower mesolittoral into, where clay and rocky substrata occur, substrata occursamples were collected to verify the effect of the substrata on othe distribution of the mollusc. For each substrata and intertidal zone, 22 replicates were randomly sampled using a quadrant of 25x25cm<sup>2</sup> during the rainy rainy and dry season. An Analysis of Variance was seasonAAVance was performed to test (1) the effect of the intertidal zone and (2) the substrata on substratao the density of *N. zebra*. Analysis A the vertical distribution results showed that in the lower zone, juvenile individuals show a higher density than in the middle zone, and an opposite and anp pattern compared with adults appear to occur. Regarding the distribution on the different substrata, on the different substrata results showed higher densities on rocky substrate than on clay substrata for young individuals, whereas no definite pattern was detected for adults. This variability between the substrata and intertidal zones showed the influence of the seasons and the sampling sites. Icoaraci showed the showed lowest densities, which can be associated to the anthropic activities in that area.

**KEYWORDS:** Distribution, Intertidal, zonation, substrate, density.

## 1. INTRODUÇÃO

Diversos estudos têm avaliado os padrões de distribuição de espécies em zonas costeiras devido a sua importância como área de alta biodiversidade e produtividade (veja detalhes nas revisões de Underwood, 2000; Coutinho, 1995). Nestes habitats, a distribuição vertical dos organismos está associada aos níveis de estresse fisiológico causados pelo regime de marés. Este estresse podem ser ainda exacerbados pela alta hidrodinâmica e a sazonalidade (Menge 2000), resultando em diferentes densidades e diversidade de espécies ao longo do entremarés (Connell & Glasby, 1999; Menge, 1991; Underwood, 2000). No entanto não só os efeitos sazonais e a zonação no entremarés podem influenciar na abundância e riqueza de espécies.

Em zonas costeiras os diferentes substratos e os microhabitats encontrados nestas regiões são importantes fatores na variabilidade de espécies, pois os micro habitats como rugosidade e fendas aumentam a disponibilidade de refúgio contra a dessecação e contra a predação, assim como a aumenta a disponibilidade de alimentos. Desta forma os gastrópodes usam tais estruturas como abrigo para proteção contra peixes e crustáceos e como área de alimentação. (Mcguinness & Underwood, 1986).

Na região costeira Amazônica são poucos os locais em que se observam substratos consolidados ou compactados. No entanto, os sedimentos inconsolidados ocasionalmente são interrompidos por afloramentos rochosos e blocos de argilito (Farias, 2006), como observado em Icoaraci, na Ilha de Mosqueiro e em Colares. Nestes locais, é possível observar um grande número do Gastropoda *Neritina zebra*.

O molusco *Neritina zebra* habita ambientes do entremarés e parece ter preferência por substratos consolidados. Está distribuído no Brasil desde o estado do Rio de Janeiro até a costa do estado do Pará (Barroso, & Matthews-Cascon, 2009) e é o molusco dominante em afloramentos rochosos nas zonas inferior e média do entremarés na ilha de Mosqueiro (Borges, 2010). Entretanto estudos que contemplem as interações entre a variação sazonal, a distribuição entre as zonas do entremarés e entre diferentes substratos ainda não foram

realizados na costa do Pará e no Brasil.

Devido à escassez de informações sobre a ecologia de *Neritina zebra*, o presente trabalho avaliou sua densidade e distribuição vertical dentro do entremarés. Além disso, investigou-se a distribuição em dois tipos de substratos, rocha e argilito. Estes fatores são particularmente relevantes, uma vez que exercem fortes influências em comunidades de substratos consolidados do entremarés (Garrity, Levings & Caffey, 1986; Levings, 1983; McGuinness & Underwood, 1986; Ortega, 1986; Underwood, 1975; Williams, 1993).

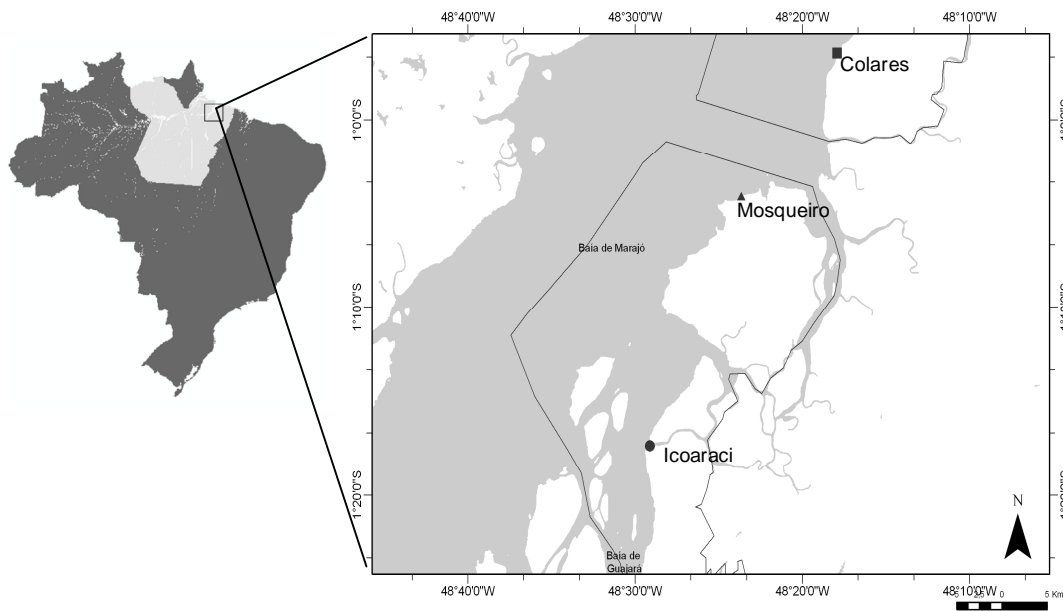
## **2. MATERIAL E MÉTODOS:**

### **2.1. Área de estudo**

As coletas foram realizadas em três localidades no litoral do Pará, Brasil. No Distrito de Icoaraci (baía de Guajará) ( $1^{\circ}17'22,33''S/ 48^{\circ}29'6,39''W$ ) e nas ilhas de Mosqueiro ( $1^{\circ}3'55,2''S/48^{\circ}22'45,28''W$ ) e Colares ( $0^{\circ}56'28,03''S/48^{\circ}17'56,12''W$ ) (baía de Marajó). O Distrito de Icoaraci está localizado dentro dos limites da região metropolitana de Belém, a ilha de Mosqueiro está situada a 70 km de Belém e a ilha de Colares fica localizada a aproximadamente 93 km de Belém. Estas localidades estão situadas em regiões estuarinas na Amazônia brasileira (Figura 1).

O clima da região é do tipo equatorial úmido com temperatura média de  $26,1^{\circ}C$ , com duas estações específicas, período chuvoso (janeiro a junho) e período de estiagem (julho e dezembro) e média de precipitação anual de 2901,9 mm. (Salati *et al.*,2007).

Na área de estudo observam-se arenito ferruginoso e material laterítico em blocos soltos, irregulares e de tamanhos variados, denominados neste estudo como rochas ou substrato rochoso. Também há a presença de argilitos com cores variadas, são estes sedimentos provenientes da Formação Barreiras e Pós-Barreiras (Barbosa, 2007; Farias, 2006).



**Figura 1.** Mapa da área de estudo localizado no litoral da costa do Pará em praias de substrato consolidado em Icoaraci, Mosqueiro e Colares, Estado do Pará, Brasil.

O Distrito de Icoaraci está localizado dentro dos limites da região metropolitana de Belém, constituída de porto com intenso tráfego de embarcações. A área amostrada recebe descarga de esgotos domésticos além de sofrer efeitos de pisoteio humano. Apresenta altura da onda em média de 0,5 m e velocidade do vento em média de 2,3 m/s, o substrato predominante é argilito ferruginoso e arenito (Farias, 2006).

Em Mosqueiro a área amostrada é denominada praia do Curuara e apresenta uma menor ação antropogênica que as demais praias da ilha. A altura das ondas nesta região é de aproximadamente 1 m e a velocidade do vento de até 4,24 m/s Os substratos predominantes são blocos de arenito e argilito ferruginoso (El-Robrini, 2001).

A ilha de Colares fica localizada a aproximadamente 93 km de Belém e aproximadamente 20 km da desembocadura do estuário, a área amostrada é denominada praia do Bacuri e a ação humana é menor que os demais locais amostrados. O substrato predominante em Colares são os blocos de material laterítico ferruginoso e a presença de argilito (Barbosa, 2007) (Figura 2). Não há registro sobre o perfil praias em Colares, no entanto em Marapanim, que fica próximo a desembocadura do estuário a velocidade do vento é de até 6 m/s e altura das ondas podem alcançar até 1,5 m (Silva, 2003). Na margem oposta a



de Colares, em Soure (Ilha do Marajó), as ondas podem variar entre 1 e 6 m (França, 2003).



**Figura 2.** Locais de coleta localizado no litoral da costa do Pará em praias de substrato consolidado nos distritos de (A) Icoaraci, (B) Mosqueiro do município de Belém e no município de (C) Colares, Estado do Pará, Brasil.

## 2.2. Desenho amostral:

As coletas foram realizadas em blocos de argilito e em substratos conglomeráticos de material laterítico e arenito no entremarés, denominados neste trabalho como rocha. Esta faixa foi dividida em três zonas, inferior, médio e superior de acordo com o limite máximo e mínimo da maré de sizígia. As coletas se restringiram ao limite inferior e médio, pois não foram observados espécimes de *N. zebra* na zona superior.

Para observar os padrões de distribuição ontogenéticos os espécimes foram separados por tamanho em menores que seis milímetros (<6 mm), identificados no texto como juvenil e maiores que seis milímetros (>6 mm), identificados como adultos (Borges, 2010). Para os juvenis as análises estatísticas, não incluíram os dados de Icoaraci pois na estação de estiagem não foram encontrados indivíduos juvenis e na estação chuvosa a densidade

foi em média de  $<5$  ind./m<sup>2</sup>. Para delimitação da área amostrada por réplica foi utilizado um quadrado de PVC de 25x25 cm<sup>2</sup>

As hipóteses testadas neste trabalho são:

(1) Que o tempo de emersão nas zonas do entremarés podem influenciar na densidade de *Neritina zebra* em substrato rocha e as variações sazonais podem proporcionar condições climatológicas que modificam o padrão de abundância entre as zonas e aos locais amostrados;

(2) Que a densidade da espécie *Neritina zebra* difere devido aos tipos de substratos rocha e argilito em relação às variações sazonais e aos locais amostrados.

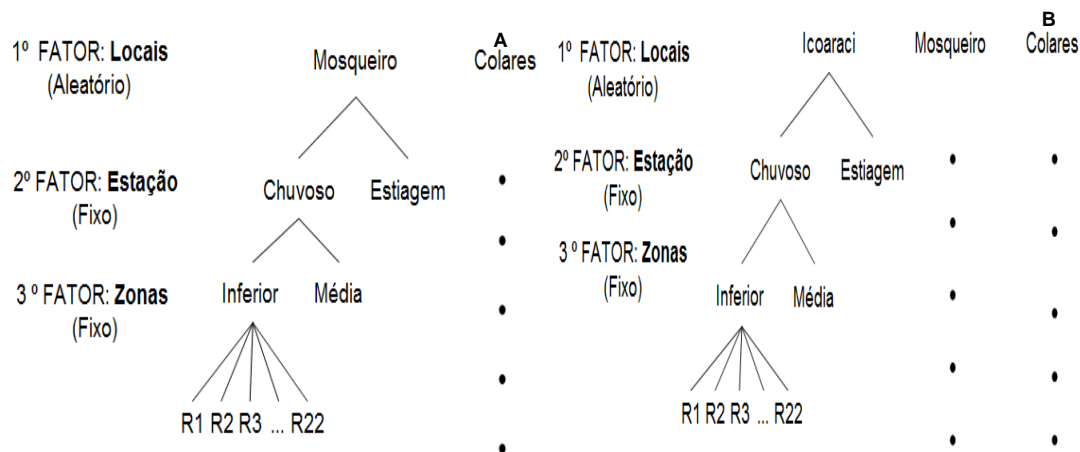
Para testar as referidas hipóteses foram desenvolvidos quatro desenhos amostrais: (1) distribuição vertical de juvenis; (2) distribuição vertical de adultos; (3) distribuição de juvenis entre os substratos; (4) distribuição de adultos entre os substratos. Para delimitação das réplicas foram utilizados quadrantes de 25x25 cm<sup>2</sup>.

#### 2.2.1. Distribuição Vertical de Juvenis e Adultos

As coletas foram realizadas nas zonas (inferior e média) aleatoriamente em substrato rochoso, duas vezes na estação chuvosa e duas vezes na estação de estiagem. Em cada zona foram amostradas aleatoriamente um total de 22 réplicas ao longo do eixo paralelo a linha da costa. As coletas foram realizadas apenas em substrato rochoso por não haver argilito nas duas zonas em todas as localidades. O delineamento experimental, seguiu um modelo misto da análise de variância, conforme a Figura 3 e temos os seguintes fatores;

**Juvenis:** local (Mosqueiro e Colares), estação (Chuvosa e Estiagem) e zona (Inferior e Média), (Figura 3A);

**Adultos:** local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares, estação (Chuvosa e Estiagem) e zona (Inferior e Média), seguindo as sugestões de (Underwood 1997, 2000), (Figura 3B).



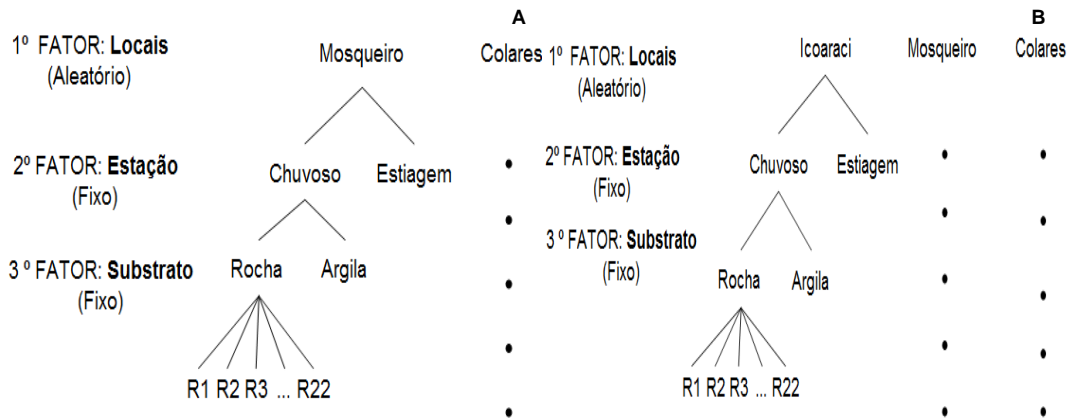
**Figura 3.** Delineamento amostral com a indicação dos fatores testados para caracterização dos padrões de distribuição de *Neritina zebra* nas zonas inferior e média em substrato rocha do entremarés. A) Juvenis. B) Adultos.

### 2.2.2. Distribuição de Juvenis e Adultos entre os Substratos

As coletas foram realizadas aleatoriamente na zona inferior do médio litoral em substratos rochosos e em argilitos, duas vezes na estação chuvosa e duas vezes na estação de estiagem. Em cada substrato foram amostradas aleatoriamente um total de 22 réplicas ao longo do eixo paralelo a linha da costa. O delineamento foi desenvolvido apenas na zona inferior, pois não foram observados os dois tipos de substratos na zona média do médio litoral. O delineamento experimental seguiu um modelo misto da análise de variância, conforme a Figura 4, onde temos os seguintes fatores;

**Juvenis:** local (Mosqueiro e Colares), estação (Chuvosa e Estiagem) e substrato (Rochoso e Argiloso), (Figura 4A);

**Adultos:** local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares), estação (Chuvosa e Estiagem) e substrato (Rochoso e Argiloso), seguindo as sugestões de (Underwood 1997, 2000), (Figura 4B).



**Figura 4.** Delineamento amostral com a indicação dos fatores para caracterização dos padrões de distribuição de *Neritina zebra* em substrato rocha e argila do entremarés em Mosqueiro e Colares. A) Indivíduos juvenis. B) Indivíduos adultos.

Para determinação do padrão de distribuição espacial em agregada, uniforme ou aleatória foram utilizados os mesmos desenhos amostrais com suas respectivas densidades médias.

### 2.3 Análise de Dados

A densidade média ( $\pm$  erro padrão) foi verificada através de Análise de Variância (ANOVA) com três fatores (Figura 3 e Figura 4). A homogeneidade das variâncias foi verificada através do teste de Cochran e os dados transformados quando necessário. A comparação múltipla dos tratamentos foi realizada usando o teste Student-Newman-Keuls (SNK), considerando  $\alpha = 0,05$ . Quando possível os resíduos das interações de terceiro grau não significativas foram utilizadas (Pooling) para aumentar os graus de liberdade nas demais interações. Os testes foram realizados com auxílio do programa WinGmav5 (1997).

O padrão de distribuição espacial de *Neritina zebra* foi determinado pelo Índice de Distribuição de Morisita ( $I\bar{D}$ ) e para estimar entre distribuição agregada, uniforme e aleatória foi utilizada o Índice de Morisita Padronizado ( $I_p$ ), onde os resultados  $>0,5$  são considerados distribuição agregada ( $M_c$ ) de acordo com cálculos dos valores críticos (Krebs, 1999 p. 216-217). Para calcular as equações foram utilizados os desenhos amostrais representados nas Figuras 3 e 4. Para realizar os cálculos foram utilizadas as seguintes equações:

- ✓ Índice de Distribuição de Morisita

$$I\delta = n \left[ \frac{\sum x^2 - \sum x}{(\sum x)^2 - \sum x} \right]$$

- ✓ Índice padronizado

$$Ip = 0.5 + 0.5 \left( \frac{I\delta - Mc}{n - Mc} \right)$$

- ✓ Índice de Distribuição Agregada

$$Mc = \frac{X^2 - n + \sum x}{(\sum x) - 1}$$

### 3. RESULTADOS:

Durante as estações amostradas, observou-se uma grande variação na agregação dos moluscos nos substratos e nas zonas, o que foi confirmado pela análise do Índice de Morisita.

Os valores do Índice de Morisita ( $I\delta$ ) determinaram o padrão de distribuição espacial de *Neritina zebra* como agregada para os indivíduos juvenis e adultos, tanto para a distribuição vertical como para a distribuição entre os substratos, apresentando índice  $>0,5$ .

#### 3.1. Distribuição Vertical de Juvenis

Os indivíduos juvenis foram observados em Mosqueiro e Colares em todas as estações e zonas. A ANOVA indicou interações significativas entre os fatores estações do ano e zonas. Foram observadas maiores densidades de juvenis na zona inferior durante a estação chuvosa, enquanto na estação de

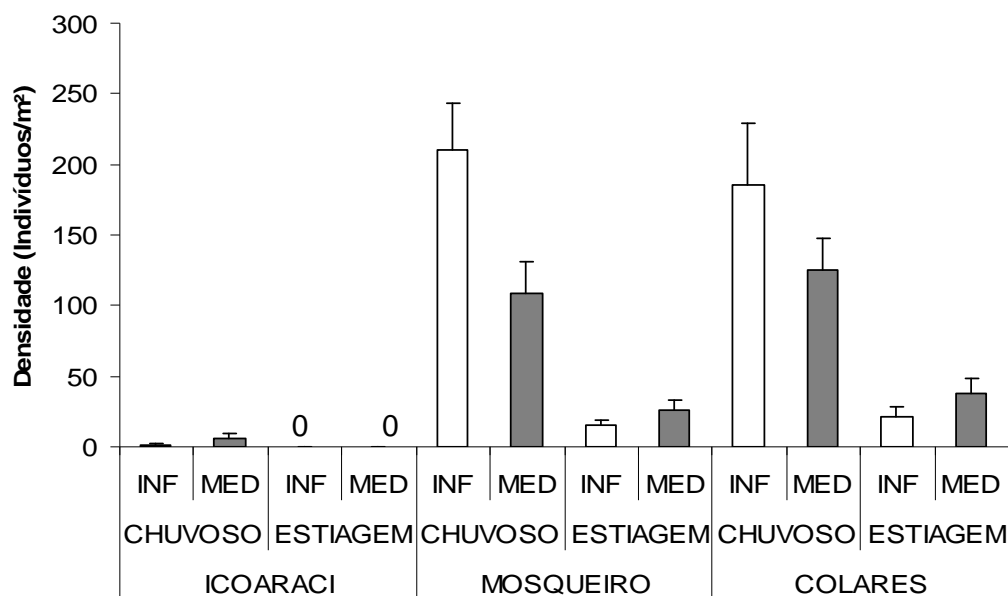
estiagem a densidade entre as zonas não apresentou diferenças significativas no teste *a posteriori* SNK (Tabela 1; Figura 5).

**Tabela 1.** Resultados da ANOVA e o teste SNK na densidade de juvenis de *Neritina zebra* em substrato rochoso para os fatores: Local (Mosqueiro e Colares), Estação (chuvosa e estiagem) e Zona (Média e Inferior). \*  $p < 0,05$ ; NS = Não significativo; Inf.= Zona Inferior; Med= Zona Média; Est.= Estação de Estiagem; Ch. = Estação Chuvosa. GL= grau de liberdade; SM = Soma dos quadrados.

| ANOVA             |     |        |       |    |
|-------------------|-----|--------|-------|----|
| Fonte de variação | GL  | SM     | F     | p  |
| Local (Lo)        | 1   | 0,00   | 0,00  | NS |
| Estação (Es)      | 1   | 271,84 | 82,52 | NS |
| Zona (Zo)         | 1   | 1,59   | 1,77  | NS |
| LoXEs             | 1   | 3,29   | 1,09  | NS |
| LoXzo             | 1   | 0,90   | 0,30  | NS |
| Esxzo             | 1   | 18,08  | 6,01  | *  |
| LoxEsxZo          | 1   | 0,94   | 0,31  | NS |
| Resíduo           | 168 | 3,02   |       |    |

#### Teste SNK da interação EsxZo

Esxzo      Inf.: Ch.>Est.\*\*    Med.: Ch.>Est.\*\*    Ch.:Inf.>Med\*\*    Est.: Inf=Med



**Figura 5.** Densidade de juvenis de *Neritina zebra* (ind./m<sup>2</sup> ± erro padrão) por local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) e estação do ano (chuvosa e de estiagem) nas diferentes zonas do entremarés (INF=inferior, MED=médio).

### 3.2. Distribuição Vertical de Adultos

Os adultos foram observados em Icoaraci, Mosqueiro e Colares nas duas estações do ano e zonas do entremarés, apresentado diferenças

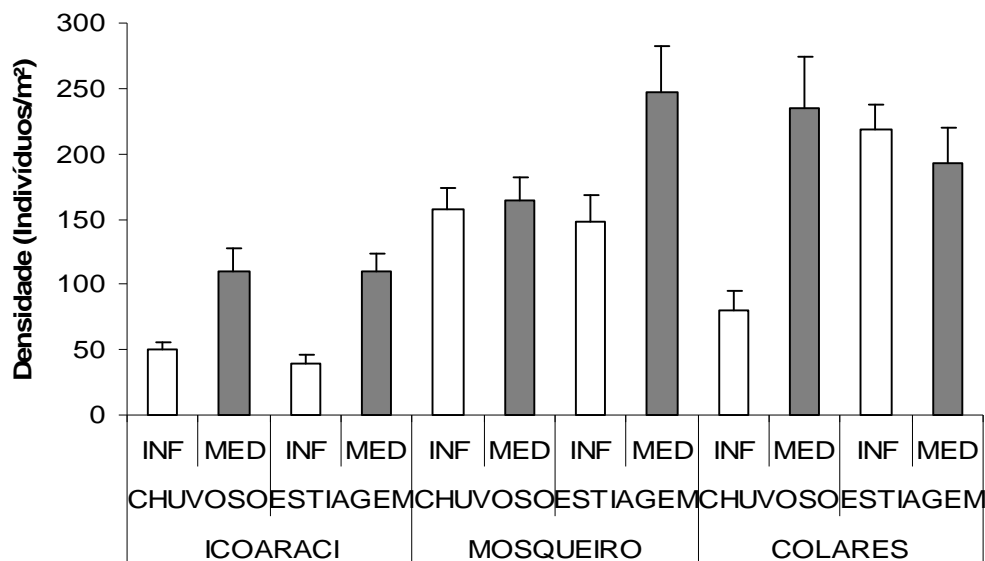
significativas nas densidades devido às interações entre os fatores local, estações e zona (Tabela 2; Figura 6). A interação entre os fatores indica Mosqueiro com maior densidade em relação aos demais locais (Icoaraci e Colares). O fator estação parece não interferir na densidade dos indivíduos adultos em relação às zonas. Com exceção de Colares, que apresentou maior densidade no período de estiagem. O fator zona indica que há uma tendência da zona média apresentar maior densidade em relação à zona inferior, um padrão oposto ao observado nos juvenis (Figura 6).

**Tabela 2.** Resultados da ANOVA e SNK na densidade de adultos de *Neritina zebra* para as interações entre os fatores Local, Estação e Zona em substrato rochoso em Icoaraci (I), Mosqueiro (M) e Colares (C). \*  $p \leq 0,05$ ; NS = Não significativo; Est= Estiagem; Ch. = Chuvoso; GL= grau de liberdade; SM = Soma dos quadrados.

| ANOVA             |     |       |       |    |
|-------------------|-----|-------|-------|----|
| Fonte de variação | GL  | SM    | F     | p  |
| Local (Lo)        | 2   | 14,54 | 34,97 | ** |
| Estação (Es)      | 1   | 1,28  | 0,67  | NS |
| Zona (Zo)         | 1   | 11,12 | 7,68  | NS |
| LoXEs             | 2   | 1,91  | 4,60  | *  |
| LoXzo             | 2   | 1,44  | 3,48  | *  |
| Esxzo             | 1   | 0,69  | 0,17  | NS |
| LoxEsxZo          | 2   | 4,16  | 10,01 | ** |
| Resíduo           | 252 | 0,441 |       |    |

Teste SNK da interação LoxEsxZo

|                     |  |
|---------------------|--|
| Local (por EsxZo)   | M>I ; C>I (exceto na Zona média qdo C=I) e M=C.            |
| Estação (por LoXZo) | Ch = Est. (exceto em Colares na zona inferior, Est.>Ch**). |
| Zona (por LoxEs)    | Média > Inferior** em geral.                               |



**Figura 6.** Densidade de adultos de *Neritina zebra* (ind./m<sup>2</sup> ± erro padrão) por local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) e estação do ano (chuvosa e de estiagem) nas diferentes zonas do entremarés (INF=inferior, MED=médio).

### 3.3. Distribuição de Juvenis entre os Substratos

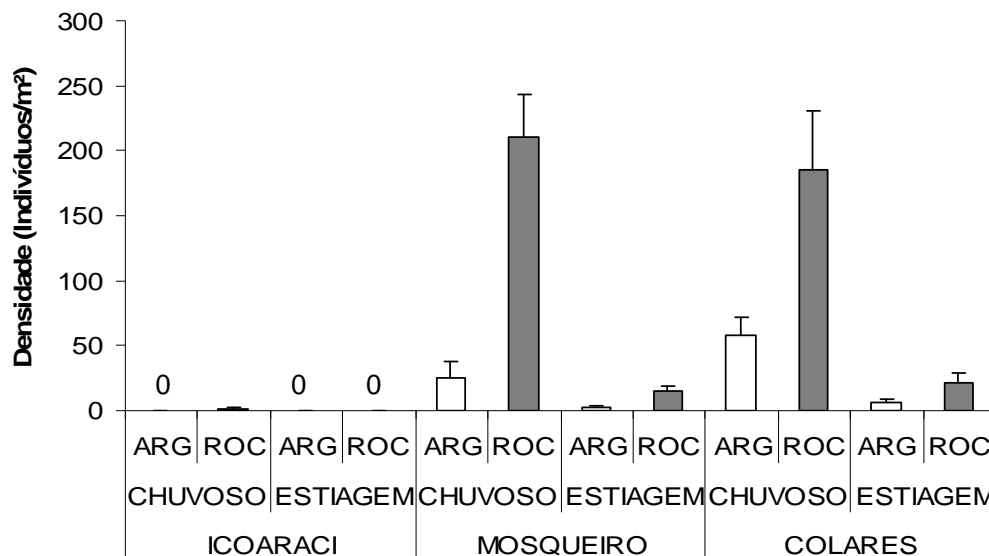
Os espécimes juvenis foram observados em todos as estações e zonas somente em Mosqueiro e Colares. A ANOVA indicou diferenças significativas entre os fatores local e substrato. O teste *a posteriori* SNK indicou que os espécimes juvenis de *N. zebra* apresentaram maiores densidades no substrato rochoso em ambos os locais amostrados (Tabela 3; Figura 7).

**Tabela 3.** Resultados da ANOVA e SNK na densidade de juvenis de *Neritina zebra* para os fatores Local (Mosqueiro - M e Colares - C), Estação (chuvosa e estiagem) e Substrato (rochoso e argilito). \* p≤0,05; NS = Não significativo; GL= grau de liberdade; SM = Soma dos quadrados.

| Fonte de variação | ANOVA |        |       |    |
|-------------------|-------|--------|-------|----|
|                   | GL    | SM     | F     | p  |
| Local (Lo)        | 1     | 8,05   | 2,99  | NS |
| Estação (Es)      | 1     | 227,42 | 72,08 | NS |
| Substrato (Su)    | 1     | 151,61 | 10,58 | NS |
| LoXEs             | 1     | 3,15   | 1,17  | NS |
| LoXSu             | 1     | 14,32  | 5,32  | *  |
| EsxSu             | 1     | 32,03  | 4,67  | NS |
| LoxEsxSu          | 1     | 6,86   | 2,55  | NS |
| Resíduo           | 168   | 2,69   |       |    |

Teste SNK da interação LoxSu  
LoXSu Rocha > Argilito\*\* em M,C





**Figura 7.** Densidade de juvenis de *Neritina zebra* (ind./m<sup>2</sup> ± erro padrão) por local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) e estação do ano (chuvosa e de estiagem) nos diferentes substratos do entremarés (INF=inferior, MED=médio).

### 3.4. Distribuição de Adultos entre os Substratos

Os espécimes adultos ocorreram em todos os locais, estações e substratos, e sua densidade foi significativamente diferente devido a interação destes fatores (Tabela 4; Figura 8). No teste *a posteriori* SNK foi observado que na estação chuvosa e na estação de estiagem houve predominância em Mosqueiro e Colares apresentarem maiores densidades que Icoaraci.

Em geral as densidades nas duas estações do ano apresentaram valores semelhantes, com duas exceções: (i) em Icoaraci no substrato argilite a densidade foi maior no período de chuvoso e (ii) em Colares no substrato rochoso a densidade foi maior na estação de estiagem. Em relação ao substrato foram observadas maiores densidades em substratos rochosos em todos os locais e zonas, com uma exceção, em Colares no período chuvoso foram registradas maiores densidades em argilite.

**Tabela 4.** Resultados da ANOVA e SNK para adultos de *Neritina zebra* para os fatores Local, Estação e Substratos rochoso e argilito em Icoaraci (I) Mosqueiro (M) e Colares (C). \*  $p \leq 0,05$ ; NS = Não significativo. Est.= Estiagem; Ch. = Chuvoso; Ro=Rocha; Arg. = Argilito; ; GL= grau de liberdade; SM = Soma dos quadrados.

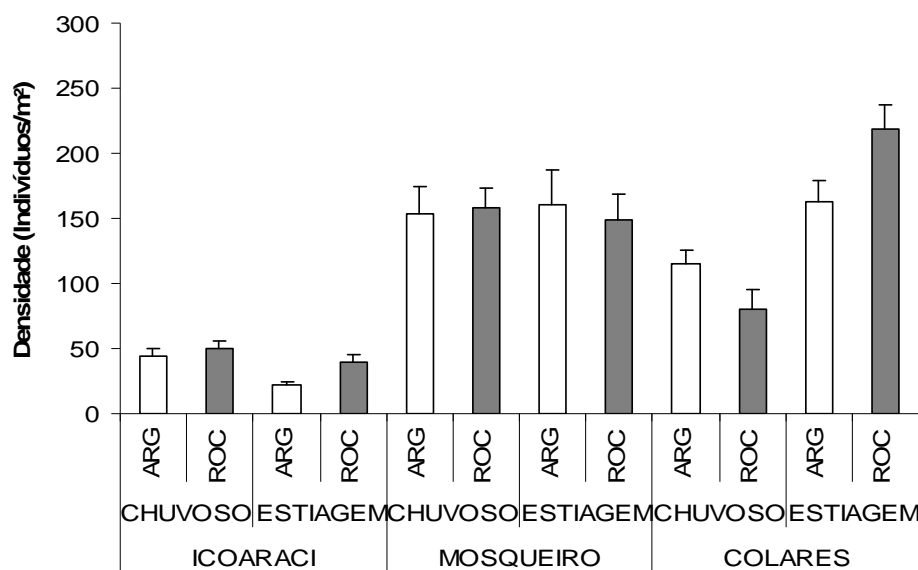
| Fonte de variação | ANOVA |       |       |    |
|-------------------|-------|-------|-------|----|
|                   | GL    | SM    | F     | p  |
| Local (Lo)        | 2     | 30,31 | 85,08 | ** |
| Estação (Es)      | 1     | 0,59  | 0,10  | NS |
| Substrato (Su)    | 1     | 0,46  | 1,20  | NS |
| LoxEs             | 2     | 5,75  | 16,14 | ** |
| LoxSu             | 2     | 0,38  | 1,08  | NS |
| EsxSu             | 1     | 1,43  | 1,31  | NS |
| LoxEsxSu          | 2     | 1,09  | 3,06  | *  |
| Residual          | 252   | 0,35  |       |    |

Teste SNK da interação LoxEsxSu

Local (por EsxSu) M e C > I\*\*

Estação (por LoxSu) Ch.=Est. (Exceto I, Arg: Ch.>Est.\*\*; C, Ro: Est.>Ch.\*\*)

Substrato (por LoxEs) Ro=Arg. em I, M e C (Exceto C, Ch.: Arg.>Rocha\*\*)



**Figura 8.** Densidade de adultos de *Neritina zebra* (ind./m<sup>2</sup> ± erro padrão) por local (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) e estação do ano (chuvosa e de estiagem) nos diferentes substratos do entremarés (INF=inferior, MED=médio).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1 Distribuição Vertical

A zonação de organismos bentônicos muitas vezes são bem definidas de acordo com as zonas dispostas no entremarés (Coutinho, 1995). Estas zonas são freqüentemente investigadas para observar as tendências de

variações que a imersão e a sazonalidade exercem sobre comunidades existentes nestes locais (Benedetti-cecchi & Cinelli, 1993; Menconi et al., 1999; Underwood et al., 2008). No entanto estes padrões raramente são estudados em comunidades que vivem em substratos conglomeráticos no entremarés na região Amazônica, especialmente para a espécie em estudo. Desta forma o padrão tradicional de zonação vertical proposto por Barnes & Hughes (1988) nem sempre se faz uma tendência para a região Amazônica (Morais, 2011). Assim este estudo destaca um aspecto importante de zonação para esta região em substratos conglomeráticos.

A zonação dos juvenis de *N. zebra*, apresenta um padrão bem definido com maior densidade de juvenis na zona inferior durante a estação chuvosa em contraste ao observado durante a estação de estiagem que não foi observado um padrão de zonação. Possivelmente porque estes indivíduos já foram assentados nas diferentes zonas e lá encontraram condições adequadas para sua sobrevivência e assim permaneceram agregados. O comportamento agregativo dos gastrópodes pode estar relacionado a funções de proteção a dessecação e proteção contra predadores, além de favorecer a reprodução (Ansell, 2001; Cook, 1992).

Resultados semelhantes aos observados na presente pesquisa, também foram observados com a mesma espécie em um estudo anterior em Mosqueiro (Pará) por Borges (2010), que observou diferentes padrões em duas praias amostradas, na praia Curuara, os indivíduos juvenis apresentaram altas densidades na zona inferior contrastando com os dados da praia Paraíso que apresentou elevadas densidades na zona média. A autora sugere em seu estudo que a zonação desses indivíduos poderia estar relacionada à disponibilidade de alimento e a vulnerabilidades destes a predação. Entretanto, mesma a zonação sendo um padrão definido entre os juvenis, a sazonalidade também exerceu forte influência na distribuição dos juvenis em Mosqueiro e Colares.

Foi observado na estação chuvosa maior densidade na zona inferior, que pode estar relacionado ao assentamento recente das larvas de *N. zebra* nesta zona. Resultados semelhantes quanto à sazonalidade também foram observados na costa de Hong Kong com moluscos gastrópodes, sugerindo que

existe uma relação na distribuição dos moluscos em função da estação chuvosa e de estiagem, onde há maior densidade na zona inferior no período de estiagem (Harper & Williams, 2001). Possivelmente ligado a processos de dessecação e também a estruturação do habitat, que pode influenciar na distribuição de organismos bentônicos.

De acordo com Kostylev *et al.* (2005) e Mcguinness & Underwood (1986) a estrutura do habitat afeta a composição e abundância de espécies que vivem no entremarés, onde o número de espécimes aumenta proporcionalmente a complexidade do substrato. Menge (2000), também observa que a estruturação do habitat influencia nos padrões de distribuição de espécies, assim como o estresse causado por dessecação. Este último foi avaliado por Chan & Williams (2003) que observaram como o estresse por dessecação pode afetar a dinâmica de uma comunidade de cracas que vivem no entremarés, levando a mortalidade de larvas e juvenis devido a tensão de calor na maré baixa, constatando que este fator é determinante para a sobrevivência dos juvenis.

Entretanto, vale ressaltar que os neritídeos possuem adaptações a altas temperaturas e estresse provocado pela dessecação (Osorio & Cantuarias, 1989). Isto explicaria a distribuição dos juvenis na zona média mesmo período de estiagem, visto que na zona média o estresse por dessecação é maior, principalmente nesta estação. O padrão de distribuição encontrado também corrobora com esta hipótese uma vez que os juvenis desta espécie estão distribuídos de forma agregada em ambas as zonas amostradas, mesmo que em menor densidade no período de estiagem e isto acontece possivelmente pela busca de abrigos nas fissuras das rochas na estação de estiagem. Diversos autores tem demonstrado que a distribuição dos indivíduos juvenis não está relacionada apenas à zonação e a sazonalidade, mas também a condições adequadas para sua sobrevivência, como a estruturação do habitat (Kostylev *et al.*, 2005; Mcguinness & Underwood, 1986; Harper & Williams, 2001).

Os resultados em relação aos indivíduos adultos neste estudo, mostraram uma variabilidade na densidade de *N. zebra* em relação aos locais de coleta, mas que principalmente em Icoaraci foram observadas as menores densidades em relação aos demais locais (Mosqueiro e Colares). Outro fator

relevante é que a distribuição desses organismos é agregada e permaneceu desta forma mesmo quando apresentou baixas densidades, como o registrado em Icoaraci.

O fator que poderia estar relacionado a esta baixa densidade em Icoaraci seria o estresse ambiental causado pelas influências da ação antropogênica, como a descargas de esgoto doméstico, o pisoteio humano e a coleta de espécimes para alimentação, como pôde ser observado nesta praia. A observação desta pesquisa corresponde com o trabalho realizado por Brosnan & Crumrine (1994) que relaciona os efeitos de pisoteio humano sobre assembléias de algas, cracas e comunidades de moluscos, sugerindo que o efeito do pisoteio muda a composição das comunidades, especialmente para os indivíduos juvenis.

Observou-se que em Mosqueiro foram registradas as maiores densidades em relação à zonação e houve uma tendência da densidade ser superior na zona média para os indivíduos adultos, diferente do que foi observado com os indivíduos juvenis.

Entretanto em Colares foi observada uma particularidade, pois na estação de estiagem houve maior densidade na zona inferior. Padrão observado também por Harper & Williams (2001) em comunidades de moluscos Polyplacophora no entremarés. Estes autores destacam que este padrão pode estar associado à dessecação e estresse provocado pelo calor nas zonas mais superiores.

Padrão semelhante ao registrado em Colares foi observado em adultos de *N. zebra* na praia Curuara em Mosqueiro, que registrou maior abundância na zona inferior (Borges, 2010). Este mesmo padrão também foi observado com *Nerita atramentosa*, que cresce mais rapidamente quando estabelecida nos níveis mais inferiores e sugere que isto pode estar relacionado à disponibilização de alimentos ou a redução de estresse no período de submersão (Underwood, 1984).

Entretanto nas demais localidades (Icoaraci e Mosqueiro) as maiores densidades foram observadas na zona média. Esta tendência de maior densidade na zona média pode ser explicada como estratégia de proteção aos

predadores e também pela resistência da concha que os protege por mais tempo dos processos de dessecação. Outra explicação seria as estratégias reprodutivas e depósito das cápsulas de ovos. De acordo com Barroso & Matthews-Cascon. (2009). esta espécie deposita seus ovos em substratos e raízes de *Avicenia sp.* que ficam localizados na zona média. Przeslawski & Benkendorff (2005) também observaram que algumas espécies de gastrópodes que vivem em rochas no entremarés fazem a postura das cápsulas de ovos em áreas mais elevadas do entremarés, possivelmente para evitar incrustação nas cápsulas de ovos por algas incrustantes (e.g. *Bembicium namum*, Lamarck, 1822).

De acordo com estudos com os gastrópodes *Bembicium namum* e *Nerita atramentosa* (Reeve, 1985) que vivem em rochas do entremarés, foi observado que estes estão distribuídos entre as zonas inferiores e superiores no entremarés (Underwood, 1984) e nem sempre é possível encontrar um padrão na distribuição de organismos móveis (Davidson, Crook, & Barnes, 2004). Também é possível considerar que a fauna macro bentônica sofre variabilidade de acordo com a sazonalidade Underwood & Chapman (1996).

As densidades foram semelhantes nas duas estações em relação às zonas em Icoaraci e Mosqueiro, sugerindo que as escalas temporais não interferem na distribuição por zonas do entremarés nestas localidades para os espécimes adultos de *N. zebra*. Entretanto é necessário estudos mais amplos e detalhados para verificar esta variabilidade espacial e temporal, especialmente na região Amazônica e atualmente está sendo investigado a influência da migração e dispersão dos indivíduos na distribuição dos espécimes de *Neritina zebra*.

#### **4.2 Distribuição entre os Substratos**

A distribuição dos organismos bentônicos está intimamente ligada ao substrato e como estes são estruturados, considerando o material do qual é formado e o número de diferentes micro-habitats que contém (Anderson & Underwood, 1994; Mcguinness & Underwood, 1986). Em Mosqueiro e Colares a densidade de indivíduos juvenis é maior em substrato rochoso. Isto pode

estar relacionado a uma maior cobertura de algas e a formação de biofilme neste substrato, como foi observado em campo.

Em estudos sobre algas incrustantes em costões rochosos há indícios que estas se estabelecem nas zonas mais inferiores no médio litoral e a distribuição de organismos pastadores está relacionada à disponibilidade de alimento no entremarés (Menconi *et al.*, 1999; Benedetti-cecchi & Cinelli, 1993). Kostylev *et al.* (2005) observaram em uma costa rochosa em Hong Kong, que a complexidade da rocha favorece o crescimento de algas. Estes são fatores que podem ter influenciado no maior número de espécimes de *N. zebra* no substrato rocha, que proporciona maior estabilidade para a movimentação dos gastrópodes, assim como a complexidade do substrato.

As fendas disponíveis nos fragmentos rochosos é um fator importante, pois podem servir como refúgio e proteção contra predadores (Coutinho, 1995; Harper & Williams, 2001; Garrity *et al.*, 1986), principalmente para os juvenis. Desta forma as fissuras nas rochas podem reduzir o estresse por dessecação durante os períodos de emersão. A maior abundância de indivíduos juvenis em substrato rocha sugere que estes procurem refúgio nas fendas das rochas como forma de abrigo e possivelmente pela disponibilidade de alimento.

Este padrão, por outro lado, não foi observado nos espécimes adultos, que possuem a concha substancialmente mais resistente e não devem ser tão suscetíveis a predação. Além disso, Kostylev *et al.* (2005) mostram que rochas com maior número de micro habitats abrigam uma maior abundância de organismos pequenos em comunidades do entremarés em costas rochosas.

Na comparação da abundância entre os locais foi observada uma tendência de ocorrerem diferenças, que estão relacionadas às características de cada localidade, principalmente com relação à ação antrópica. Icoaraci está localizada dentro da área metropolitana de Belém e na local amostrado é comum o pisoteio nos substratos consolidados onde os espécimes se estabelecem. Este pode ser um dos motivos pelos quais as densidades são baixas em Icoaraci, especialmente para os indivíduos juvenis que apresentaram densidades muito baixas, corroborando com Brosnan & Crumrine, (1994) que observaram que o pisoteio pode mudar a composição de

algas para um perfil baixo e diminuir a quantidade mexilhões em comunidades que vivem em substrato rochoso

A estação do ano também é um fator determinante para os indivíduos juvenis, no entanto, este fator não influencia a densidade dos adultos. Em Colares observou-se uma particularidade, onde a densidade no período de estiagem foi maior que no período chuvoso. Este resultado pode estar associado à grande quantidade de cracas observadas em toda a zona inferior e média, causado por um alto recrutamento durante o período de estiagem. Há evidências de moluscos herbívoros, como *Littorina brevicula*, que é abundantemente encontrada associada às manchas de cracas. Estas espécies usam as manchas de cracas como refúgio e área de pastoreio das microalgas associadas às cracas (Apolinário, 1999).

Por fim, vale ressaltar o comportamento agregativo de *N. zebra* que pode ser influenciado por vários fatores, entre eles a estimulação por contato físico (Ansell, 2001), ou mesmo a percepção química como observado por D'Ávila *et al* (2006). Pela presente pesquisa podemos observar que mesmo em locais com baixa densidade, como observado em Icoaraci, o padrão de distribuição agregada permaneceu, assim como a distribuição agregada entre os diferentes substratos.

Desta forma este padrão pode ser inerente às características do grupo, como são comuns para invertebrados, entre eles, os moluscos (Ruppert *et al.*, 2005; Morton *et al.*, 2002). Sugerindo que o comportamento agregativo possa ser também uma estratégia para viabilizar a reprodução, como observado por Vianey-Liaud & Dussart (2002) em gastrópodes pulmonados. Este padrão já era esperado, uma vez que a tendência geral é uma distribuição agregada em populações de invertebrados em ambientes naturais, indicando também que este ambiente é heterogêneo e desta forma os indivíduos não estão sofrendo forte pressão pelos recursos disponíveis.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As densidades dos indivíduos juvenis de *Neritina zebra* em Mosqueiro e Colares não diferem entre si, mas apresentam uma tendência de zonação, tendo estes maior abundância na zona inferior durante a estação chuvosa. Já os indivíduos adultos apresentam baixa densidade em Icoaraci, comparado a Mosqueiro e Colares. Os adultos parecem ter preferência pela zona média e a estação parece não exercer influência sobre a densidade da população.

Quanto ao substrato é clara uma maior abundância dos indivíduos juvenis em substrato rocha, o que não foi observado nos indivíduos adultos. Tanto para a distribuição entre as zonas, como para a distribuição entre os substratos as densidades em Icoaraci foram muito menores em relação aos demais locais. Estes resultados são fundamentais para o desenvolvimento de futuros trabalhos de monitoramento ambiental, principalmente por se tratar de uma espécie bioindicadora e extremamente abundante na região. No entanto, estudos de longa duração poderiam explicar de forma mais detalhada os resultados obtidos nesta pesquisa.

Quanto à preferência por substrato, futuras análises devem ser realizadas considerando-se a complexidade destes, utilizando-se análise de dimensão fractal, desta forma poderá ser comprovado o que foi observado nesta pesquisa, que a complexidade do substrato é um fator importante na distribuição de *Neritina zebra*. Além disso, a avaliação da porcentagem de cobertura vegetal na superfície dos substratos poderá auxiliar na compreensão dos processos que ocorrem nestas áreas.

Em uma avaliação global dos estudos de distribuição do gastrópode *Neritina zebra* no entremarés na costa do Pará está bem definido que na estação chuvosa há maior abundância de juvenis que tem preferência pela zona inferior e por substrato rocha em ambas as estações. Os adultos têm preferência pela zona média, com uma exceção em Colares que se deve provavelmente ao alto recrutamento de cracas que também pode ter influenciado na distribuição entre os substratos. Conseqüentemente para definir um padrão de preferência entre as zonas e substratos e a relação com as estações do ano é necessário que haja monitoramentos freqüentes para

observar a dinâmica populacional e uma maior amplitude geográfica dos locais amostrados e experimentos que definam a migração dos espécimes. Dessa forma será possível saber, se os indivíduos encontrados nas diferentes zonas migram em busca do local de sua preferência ou quando recrutados se estabelecem neste local.

## REFERÊNCIAS

- ANDERSON, M. J., & UNDERWOOD, A. J. (1994). Effects of substratum on the recruitment and development of an intertidal estuarine fouling assemblage. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **184**: 217-236.
- ANSELL, A.D. 2001. Drilling and nondrilling predation in gastropod aggregations in the intertidal zone of a New Zealand harbour. *Journal of Molluscan Studies*, **66**: 419-422.
- APOLINÁRIO, M. 1999. Temporal variations in community structure in and around intertidal Barnacle *Chthamalus challengerii* Hoek patches on a plebby shore in Japan. *Revista Brasileira da Biologia*, **59**: 43-53.
- BARBOSA, E. J. D. S. 2007. Unidades de relevo em zona costeira estuarina: municípios de Colares e Santo Antônio do Tauá PA. Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- BARNES, R. S. K. & R. N. HUGHES, 1988: ***An Introduction to Marine Ecology***. 2<sup>a</sup> edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford; 351 p.
- BARROSO, C. X. & H. MATTHEWS-CASCON. 2009. Spawning and intracapsular development of *Neritina zebra* Bruguière, 1792 Mollusca: Gastropoda: Neritidae under laboratory conditions. *Invertebrate Reproduction and Development*, **53**: 137-143.
- BENEDETTI-CECCHI, L., & CINELLI, F. 1993. Early patterns of algal succession in a midlittoral community of the Mediterranean sea: a multifactorial experiment. *Methods*, **169**:15-31.
- BORGES, A. N. D. S. 2010. Crescimento e dinâmica populacional de *Neritina zebra* Bruguière, 1792 Mollusca: Gastropoda na região do entremarés da ilha de Mosqueiro, Belém- Pa. Universidade Federal do Pará. Centro de Ciências Biológicas. Belém-PA. Trabalho de Conclusão de Curso.
- BROSNAN, D. M., & CRUMRINE, L. L. 1994. Effects of human trampling on marine rocky shore communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **177**:, 79-97.
- CHAN, B. K. K., & WILLIAMS, G. A. 2003. The impact of physical stress and molluscan grazing on the settlement and recruitment of Tetraclita species Cirripedia: Balanomorpha on a tropical shore. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **284**: 1-23.
- CONNELL, S. D., & GLASBY, T. M. 1999. Do urban structures influence local abundance and diversity of subtidal epibiota? A case study from Sydney Harbour, Australia. *Marine Environmental Research*, **47**: 373-387.

- COUTINHO, R. 1995. Avaliação crítica das causas da zonação dos organismos bentônicos. *Oecologia Brasiliensis*, **1**: 259-271.
- COOK, A. 1992. The function of trail following in the pulmonate slug *Limax pseudoflavus*. *Animal Behavior*, **43**: 813-821.
- DAVIDSON, I. C., CROOK, A. C., & BARNES, D. K. A. (2004). Quantifying spatial patterns of intertidal biodiversity: Is movement important? *Marine Ecology*, **25**: 15-34.
- D'ÁVILA, S.; DIAS, R.J.P.; BESSA, C. A. (2006). Comportamento agregativo em *Subulina octona* (Bruguière) (Mollusca) (Subulinidae). *Rev. Bras. de Zool.*, **23**: 357-363.
- EL-ROBRINI, M.H.S., 2001. Estudo da variabilidade morfo-sedimentar sazonal de praias estuarinas - ilha de Mosqueiro. Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- FARIAS, D. R. 2006. Variabilidade morfo-sedimentar das praias estuarinas do Amor e dos Artistas ilha de Caratateua, Pará. Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- FRANÇA, C. F.; SOUZA FILHO, P. W.; EL-ROBRINI, M. 2007. Análise faciológica e estratigráfica da planície costeira de Soure (margem leste da ilha de Marajó – PA), no trecho compreendido entre o canal do Cajuúna e o estuário Paracauari. *Acta Amazônica*. **37**: 261-268.
- GARRITY, S. D., LEVINGS, S. C., & CAFFEY, H. M. 1986. Spatial and temporal variation in shell crushing by fishes on rocky shores of Pacific Panama. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **103**:131-142.
- HARPER, K. D., & WILLIAMS, G. A. 2001. Variation in abundance and distribution of the chiton *Acanthopleura japonica* and associated molluscs on a seasonal , tropical , rocky shore. *Ecology*, **253**: 293-300.
- KOSTYLEV, V., ERLANDSSON, J., MING, M., & WILLIAMS, G. 2005. The relative importance of habitat complexity and surface area in assessing biodiversity: Fractal application on rocky shores. *Ecological Complexity*, **2**: 272-286.
- KREBS, C.J. 1989. **Ecological methodology**. New York. Harper e Hall. 654p.
- LEVINGS, S. C. 1983. Diel and tidal movement of two co-occurring neritid snails; differences in grazing patterns on a tropical rocky shore. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **67**:261-278.
- McGUINNESS, K. A., & UNDERWOOD, A. J. 1986. Habitat structure and the nature of communities on intertidal boulders. *Zoology*, **104**:97-123.

- MENCONI, M., BENEDETTI-CECCHI, L., & CINELLI, F. 1999. Spatial and temporal variability in the distribution of algae and invertebrates on rocky shores in the northwest Mediterranean. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **233**: 1-23.
- MENGE, B. A. 1991. Relative importance of recruitment and other causes of variation in rocky intertidal community structure. . *Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **146**: 69-100.
- MENGE, B. A. 2000. Rocky intertidal communities. In: Marine community ecology. Mark, S. D. & Bertness, D. (eds). Sinauer Associates. p. 221-251.
- MORAIS, G. C. (2011). Estrutura das assembléias de macroinvertebrados de substratos rochosos no litoral de curuçá, nordeste do Pará, Brasil. Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- MORTON. B.; G. BLACKMORE & C.T. KWOK. 2002. Carallivory and prey choice by *Drupella rugosa* (Gastropoda: Muricidae) in Hong Kong. *Journoul of Molluscan Studies*, **68**: 217-223.
- ORTEGA, S. 1986. Fish predation on gastropods on the pacific coast of costa rica. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **97**:181-191.
- OSORIO, C., & CANTUARIAS, V. 1989. Vertical Distribution of Mollusks on the Rocky Intertidal of Easter Island . *Pacific Science*, **43**: 302-315.
- PRZESLAWSKI, R., & BENKENDORFF, K. 2005. The Role Of Surface Fouling In The Development Of Encapsulated Gastropod Embryos. *Journal of Molluscan Studies*, **71**:75-83.
- RUPPERT, E. E., FOX, R. S., BARNES, R. D. 2005. **Zoologia dos invertebrados – Uma abordagem funcional-evolutiva**. 7ª ed., Editora Roca, São Paulo, 1145 p.
- SALATI, E., SALATI, E., CAMPANHOL, T., & NOVA, N. V. 2007. *Tendências das Variações Climáticas para o Brasil no Século XX e Balanços Hídricos para Cenários Climáticos para o Século XXI*. M. D. M. A. MMA, S. D. B. E. F. SBF, & D. D. C. D. B. DCBio, Eds. p. 1986. RIO DE JANEIRO.
- SILVA, M. S. 1996. Morfoestratigrafia e evolução holocênica da planície costeira de Salinópolis, Nordeste do Estado do Pará. Dissertação (Mestrado em Geologia) Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- UNDERWOOD, A. J. 1975. Intertidal zonation of prosobranch gastropods: analysis of densities of four co-existing species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **19**: 197-216.

- UNDERWOOD, A. J. 1984. Microalgal food and the growth of the intertidal gastropods *Nerita atramentosa* Reeve and *Bembicium nanum* Lamarck at four heights on a shore. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **79**: 277-291.
- UNDERWOOD, A. J., CHAPMAN, M. G., 1996. Scales of spatial patterns of distribution of intertidal invertebrates. *Oecologia* **107**: 212–224.
- UNDERWOOD, A. J. 2000. Experimental ecology of rocky intertidal habitats: what are we learning? *Journal of experimental marine biology and ecology*, **250**: 51-76.
- UNDERWOOD, A. J., CHAPMAN, M. G., COLE, V. J., & M. G. PALOMO. (2008). Numbers and density of species as measures of biodiversity on rocky shores along the coast of New South Wales. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **366**:175-183.
- VIANEY-LIAUD, M. & DUSSART, G. (2002). Aspects of pairing and reproduction in the hermaphrodite freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda; Pulmnata). *Journal of Molluscan Studies*, Londres, **68**: 243-248.
- WINGMAV5. (1997). Analysis of variance with up to five factores. Designed and coded by A.J. Underwood and M.G. Chapman. Windows implementation by S.A. Richards and M.B. Sage. Institute of Marine Ecology, University of Sydney. Licensed to Arraial do Cabo.
- WILLIAMS, G. A. (1993). Seasonal variation in algal species richness and abundance in the presence of molluscan herbivores on a tropical rocky shore. *October*, **167**: 261-275.

## **CAPITULO 2 – ECOMORFOLOGIA DE *NERITINA ZEBRA* (BRUGUIERE, 1792) EM UM ESTUÁRIO NA AMAZÔNIA BRASILEIRA, BRASIL.**

Cristiane Vieira da CUNHA  
Silvina VAN DER MOLEN  
Franklin Noel dos SANTOS  
James Tony LEE

Universidade Federal do Pará – Laboratório de Biologia Pesqueira e Manejo de Recursos Aquáticos – Av. Perimetral, n. 2651. Terra Firme. Belém, PA. CEP 66077- 830. Brasil. E-mail: crisvieira\_cunha@hotmail.com

### **RESUMO**

O presente estudo avaliou a plasticidade da curvatura da concha de *Neritina zebra* em afloramentos rochosos na zona inferior do entremarés em um estuário na Amazônia brasileira. Os locais de coletas estão situados em área oligohalina em Icoaraci, Mosqueiro e Colares na costa do Estado do Pará, Brasil. Para avaliar a plasticidade da concha foi utilizado o Morfometria Geométrica Moderna em pontos marcados na borda da concha em uma visão lateral da concha a partir de imagens digitalizadas, com o objetivo de estudar os componentes da forma em três localidades. Os resultados mostraram diferenças significativas para o formato da curvatura da concha entre os locais, sendo possível definir três morfotipos. O morfotipo Icoaraci apresentou uma curvatura mais fechada em relação a Mosqueiro e Colares. Sugerimos que a variação da forma da concha está relacionada com as condições hidrodinâmicas sofridas pelos morfotipos.

**PALAVRAS-CHAVE:** gastropoda, concha, forma, curvatura, morphotypes, plasticidade fenotípica.

### **ABSTRAT**

This study examined the plasticity of the curvature of the shell of *Neritina zebra* rock outcrops in the lower intertidal zone in an estuary in the Brazilian Amazon. The sampling sites are situated in an area oligohalina, in Icoaraci, Mosqueiro and Colares the coast of Para State, Brazil. To evaluate the plasticity was used in Modern Geometric Morphometrics points marked on the edge of the shell in a side view of the shell from scanned images, with the aim of studying the components of the form in three locations. The results showed significant differences between the local curvature of the shape of the shell, defining three ecotypes. The Icoaraci ecotype showed a more closed curve in the relationship Mosqueiro and Colares. We suggest that differentiation of form is related to the adaptive differences between the ecotypes.

**KEYWORDS:** gastropod, shell, shape, curvature, morphotypes, fenotypic plasticity.

## 1. INTRODUÇÃO

O molusco Gastropoda *Neritina zebra* (Bruguiere, 1792) habita ambientes do entremarés e ocupa predominantemente substratos consolidados. Está distribuído no Brasil desde o estado do Rio de Janeiro até a costa do estado do Pará (Barroso & Matthews-Cascon, 2009). e é a espécie dominante de molusco em afloramentos rochosos em Icoaraci, Mosqueiro e Colares na costa do Pará.

Os *Neritidae* possuem concha cônica e globosa, espira baixa, volta corporal lisa representando a maior parte da concha e abertura da boca semilunar (Barroso & Matthews-Cascon, 2009). Comprimento médio da concha é de 16,4mm das populações locais na costa do Pará (Borges, 2010). As espécies da família *Neritidae* possuem uma diversidade de formas da concha e esta característica pode ser atribuída a uma condição plesiomórfica (Ponder & Lindberg, 1997) e ao polimorfismo acentuado que espécies neritidaeas apresentam (Tan & Clements, 2008).. Entretanto estudos morfológicos da concha ainda são raros neste táxon. Portanto, para compreender os processos que contribuem para a alta plasticidade do táxon, é fundamental entender como diferentes ambientes determinam suas características ecomorfológicas.

A morfometria geométrica é uma ferramenta recente e utilizada para distinguir espécies ecomorfológicamente. Definida por Bookstein (1982) como uma fusão entre a geometria e a biologia, busca analisar a forma corporal de um organismo em um espaço bi- ou tri-dimensional. Para isso utiliza-se de métodos numéricos, e tem sido utilizada em análises morfométricas de diferentes áreas do conhecimento (Monteiro & Reis, 1999).

Diversos pesquisadores como taxonomistas, geneticistas e ecólogos têm utilizado a Morfometria Geométrica Moderna (MGM) associada às análises multivariadas com o objetivo de encontrar referências para comparações nos aspectos evolutivos e taxonômicos (Monteiro & Reis, 1999). Atualmente é possível trabalhar dentro da MGM com um conjunto de ferramentas que nos levam a resultados que podem ser testados a partir das análises multivariadas.



As ferramentas mais utilizadas são Landmarks (LM) semi landmarks (SLM) e a Análise Elíptica de Furrier (EFA) (Bocxlaer & Schultheiß, 2010).

A aplicabilidade dos métodos morfométricos tem sido empregada em moluscos gastrópodes, preferencialmente usando os LM, chamados neste estudo de marcos homólogos, disponíveis apenas em alguns gastrópodes como nos estudos realizados por Carvajal-Rodríguez *et al.*, (2005) e Abslão & Santos (2004). Porém Bocxlaer & Schultheiß (2010) encontraram no uso de LM e SLM ferramentas capazes de analisar conchas de gastrópodes que não possuem pontos homólogos. Esta ferramenta também é utilizada com sucesso para analisar estruturas que são difíceis de obter homologia, como no desenvolvimento craniano em espécies de chimpanzés (Mitteroecker, Gunz, & Bookstein, 2005) e na evolução de crânios humanos (González-José, Bortolini, Santos, & Bonatto, 2008). Entre os moluscos, recentes estudos com bivalves têm apresentado resultados positivos (Márquez *et al.*, 2010; Sousa *et al.*, 2007).

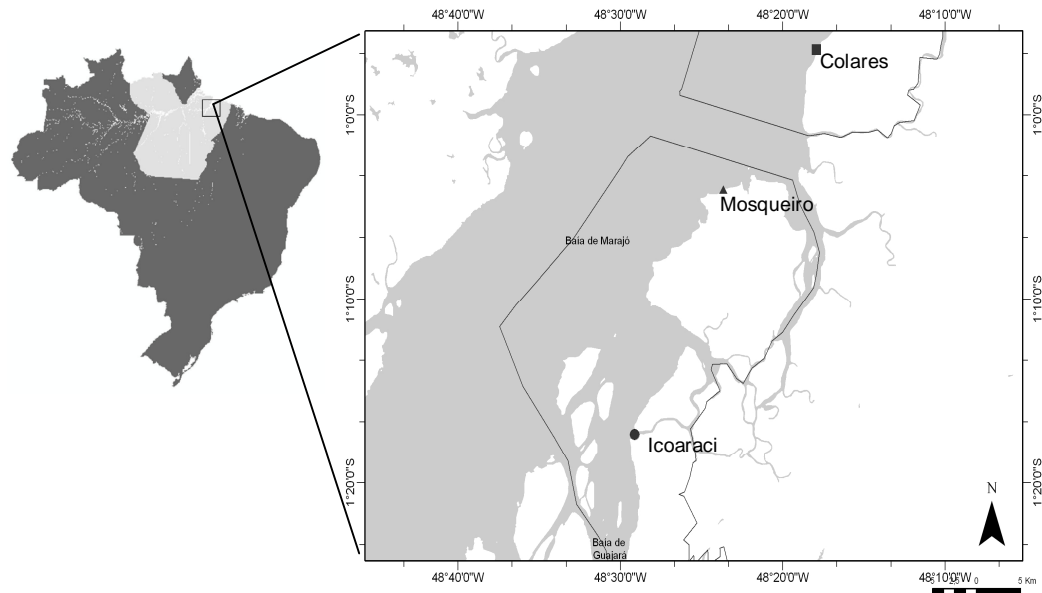
No presente estudo, verificamos através das ferramentas que combinam LM e SLM (Zelditch *et al.*, 2004; Bocxlaer & Schultheiß, 2010) a plasticidade na curvatura da concha de *N. zebra* em três localidade (Icoaraci, Mosqueiro e Colares) distantes entre si cerca de 30 km ao longo das Baías do Guajará e do Marajó. Observando que este é o primeiro trabalho de definição ecomorfológica de *Neritina zebra* em um gradiente ambiental em relação à exposição às ondas em zona costeira para o grupo taxonômico e para todo o litoral brasileiro. Neste contexto foi avaliada a hipótese de que diferentes condições hidrodinâmicas em um gradiente de exposição a ondas poderiam influenciar na morfologia da concha de *Neritina zebra*.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Área de Estudo**

As coletas foram realizadas no Distrito de Icoaraci (1°17'22,33"S/48°29'6,39"W) (baía de Guajára), e nas ilhas de Mosqueiro (1°3'55,2"S/48°22'45,28"W) e Colares (0°56'28,03"S/48°17'56,12W) (baía de Marajó), Brasil, Pará. O Distrito de Icoaraci está localizada dentro dos limites da

região metropolitana de Belém, a ilha de Mosqueiro e o município de Colares estão situadas a 70 km e 93 km de Belém, respectivamente. As três localidades estão distantes aproximadamente da desembocadura do estuário respectivamente 60, 38, e 20 km, e situadas em regiões estuarinas na Amazônia brasileira, (Figura 1:).



**Figura 1:** Mapa da área de estudo localizado no litoral da costa do Pará em praias de substrato consolidado em Icoaraci, Mosqueiro e Colares, Estado do Pará, Brasil.

A dinâmica estuarina amazônica é caracterizada por um sistema fluvial influenciado por macro e meso-máres, constituindo bancos lamosos criados pelo movimento de massas de sedimento através da ação de ondas e correntes (Sternberg *et al.*, 1996). No entanto, ocasionalmente estas áreas são interrompidas por afloramentos rochosos de material laterítico em blocos soltos, irregulares e de tamanhos variados provenientes da Formação Barreiras e Pós-Barreiras (Barbosa, 2007; El-Robrini, 2001; Farias, 2006).

O Distrito de Icoaraci é a localidade mais afastada da desembocadura do estuário, apresenta altura da onda em média de 0,5 m e velocidade do vento em média de 2,3 m/s (Farias, 2006). Mosqueiro é uma localidade intermediária entre os três locais de coleta e apresenta altura das ondas de aproximadamente 1 m e a velocidade do vento de até 4,24 m/s (El-Robrini, 2001). A ilha de Colares localiza-se a aproximadamente 20 km da

desembocadura do estuário e a altura das ondas podem variar entre 1 e 6 m. A velocidade do vento é de até 6 m/s em praias próximo a desembocadura do estuário (Barbosa, 2007; França, 2003; Silva, 2003).

## **2.2. Amostragem de campo**

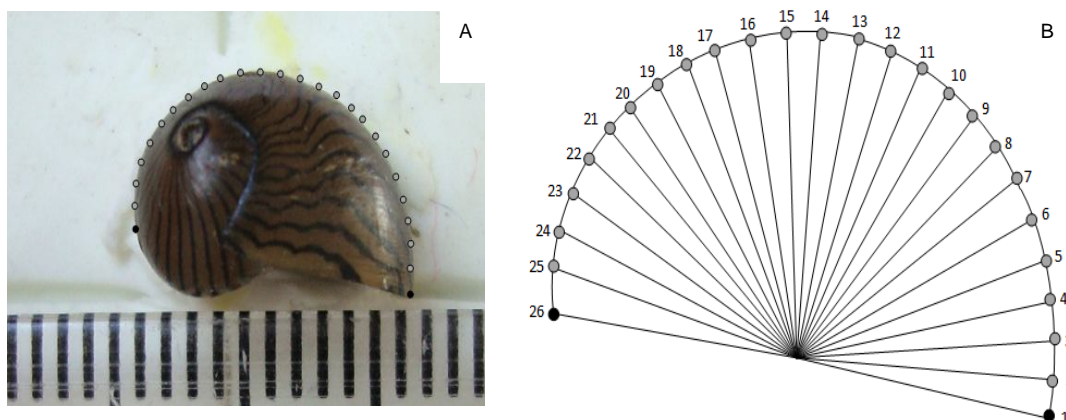
As coletas foram realizadas em substrato rochoso na zona inferior do médio litoral durante maré de sizígia no período chuvoso em 2011. Foram selecionados aleatoriamente 30 espécimes com conchas íntegras em cada localidade. Os espécimes selecionados foram padronizados com comprimento entre 10mm e 11mm. Os espécimes coletados foram devidamente etiquetados, transportados ao laboratório e congelados até posteriores análises de morfometria geométrica.

## **2.3. Captura de imagens e seleção de marcos (LM e SML)**

As amostras foram sorteadas e analisadas aleatoriamente. Após os procedimentos de obtenção das imagens e manipulação das mesmas, cada indivíduo foi identificado de acordo com sua localização. Para obtenção das imagens, os espécimes foram fotografados sempre na mesma posição com câmera Sony 12.1 e resolução de 12 Megapixel. A imagem da concha foi obtida em perfil lateral, com o eixo espiral em sentido horizontal e abertura da concha voltada para baixo. Os marcos foram plotados na borda da concha da porção posterior até o final da porção anterior (Figura 2 ).

Os marcos plotados foram baseados na direção da mudança da curvatura da concha em relação ao seu crescimento em perfil lateral, totalizando 26 marcos. Os marcos 1 e 26 foram LM tipo I e considerados marcos homólogos. Os marcos 2 a 25 foram LM Tipo III, esta última conhecida como SLM, e permite o deslizamento dos marcos ao longo da curva analisada (Bookstein, 1997; Mitteroecker & Gunz, 2009). Este critério foi seguido, pois a concha de *N. zebra* é globosa e a volta corporal representa a maior parte da concha, desta forma marcos homólogos podem ser difíceis de serem encontrados.

As fotos foram transformadas e manipuladas com os programas da série TPS (TPSútil, versão 1.26 (Rohlf, 2004); TPSdig2, versão 2.16 (Rohlf, 2010) e TPSrewl, versão 1.49 (Rohlf, 2003) onde foi possível marcar os marcos tipo I e III, (Figura 2), ajustar os pontos por Análise de Procrustes, alinhar a matriz de dados e estimar o tamanho dos exemplares por Centróide para a realização dos procedimentos estatísticos (Rohlf & Slice, 1990).



**Figura 2:** Procedimentos para obtenção dos marcos A) *Neritina zebra*; B) apresentação do esquema da delimitação dos marcos LM (1 e 26) e semimarcos SLM (2 a 25).

#### 2.4. Análise dos dados:

As tendências de variação da forma entre e dentro das amostras foram analisadas com uma Análise de Componentes Principais (ACP) a partir da matriz de variância-covariância das coordenadas da forma. Os diagramas dos Componentes Principais (CP) foram utilizados para visualização da variação da forma, obtidos através do programa MorphoJ (Klingenberg, 2011) e interpretadas neste trabalho como as deformações relativas (*Relative Warps*) (Rohlf, 1993).

Para obter informações confiáveis sobre os grupos e testar a metodologia utilizada foi realizado o teste de validação cruzada (*cross-validation*) (Kovarovic, Aiello, Cardini, & Lockwood, 2011; Viscosi & Cardini, 2011), para o qual foram selecionados cinco indivíduos de cada localidade. A discriminação entre as amostras e a validação cruzada dos dados foram realizadas por uma Análise de Variáveis Canônicas (AVC) com base na

distância de Mahalanobis no programa Past 2.14 (Hammer, 2001). Esta análise foi realizada utilizando-se os resíduos dos primeiros cinco componentes principais da coordenada de Procrusto obtidas pelo programa MorphoJ. A mesma é utilizada quando são comparados três ou mais grupos em estudos de morfometria geométrica. As diferenças entre os grupos foram testadas com o teste Wilk's Lambda (Viscosi & Cardini, 2011).

O grau de exposição à ondas foi estimado através das pistas de vento máximas - *fetch* (ou maior distância em água sem barreira). O *fetch* foi calculado para cada uma das localidades e quando a distância foi maior que 70 km, este foi assumido como distância ilimitada de acordo com metodologia de Puotinen (2005) adaptada para este estudo. As distâncias entre o local e o obstáculo mais próximo foi obtido através do programa ArcMap 9.2 em escala de 1.372.950. Os dados para calcular o Índice de Exposição Relativa, como a intensidade e direção do vento foram obtidas através da estação meteorológica obtidos em três leituras diárias as 00:00, 12:00 e 18:00 horas pela Estação Meteorológica de Belém ([www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br)) entre janeiro de 2000 a dezembro de 2011.

O Índice de Exposição Relativa (IER) foi dado pela equação a baixo (Garcon, Grech, Moloney & Hamann (2010):

$$REI = \sum_{i=1}^{16} (V_i \times P_i \times F_i)$$

Onde:

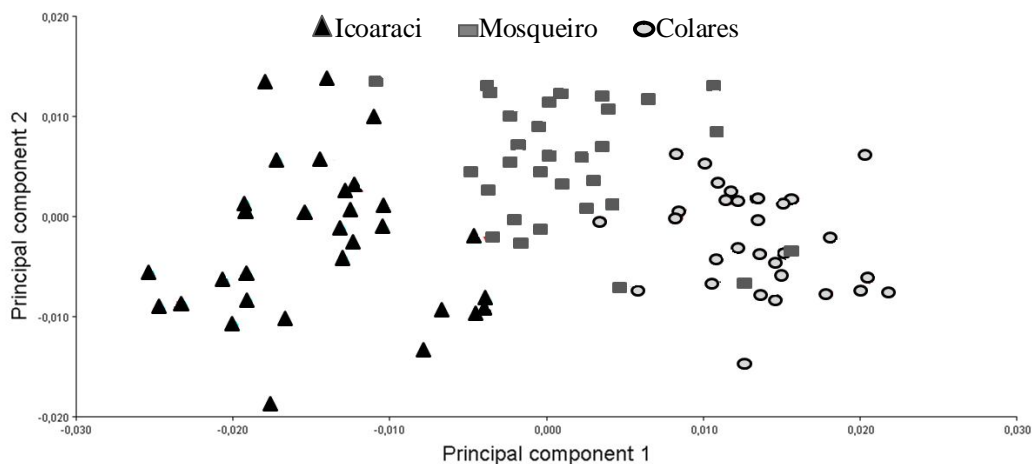
1. ( $V$ ) é a média de velocidade do vento (m/s).
2. ( $P_i$ ) é o percentual da frequência (%) direcional a partir da direção dos pontos cardeais e colaterais (a cada 22.5°).
3. ( $F_i$ ) é o *fetch*, definido como a distância entre o local e o obstáculo mais próximo ao longo da direção dos pontos cardeais e colaterais. (Ou seja,  $i=16$  direções N, NNE, NE, E, etc. em intervalos de 22.5°).

Para determinar a porcentagem do IER em cada localidade foi calculada a proporção em relação ao IER de Icoaraci, que é a localidade menos exposta.

### 3. RESULTADOS

Os dois primeiros componentes principais da ACP explicaram 66% do aporte da variação da amostra (48,7 % e 17,2 %). A representação gráfica do CP1 e CP2 mostrou pouca sobreposição entre os grupos, indicando que os indivíduos das três localidades apresentam formas distintas. As amostras de Icoaraci estão posicionadas na porção negativa no eixo negativo da CP1, enquanto as amostras de Mosqueiro estão em uma posição intermediária e as de Colares no eixo positivo da CP1 (Figura 3).

As variações da forma que correspondem aos CP1 e CP2 (Figura 4) indicam que no CP1 a curvatura da concha na porção anterior e posterior deforma em sentido positivo, havendo um aumento na porção anterior em sentido a abertura da concha. Por outro lado no CP2 há variação apenas da porção posterior, indicando alongamento da concha na parte posterior em relação ao seu crescimento em perfil lateral (Figura 4).



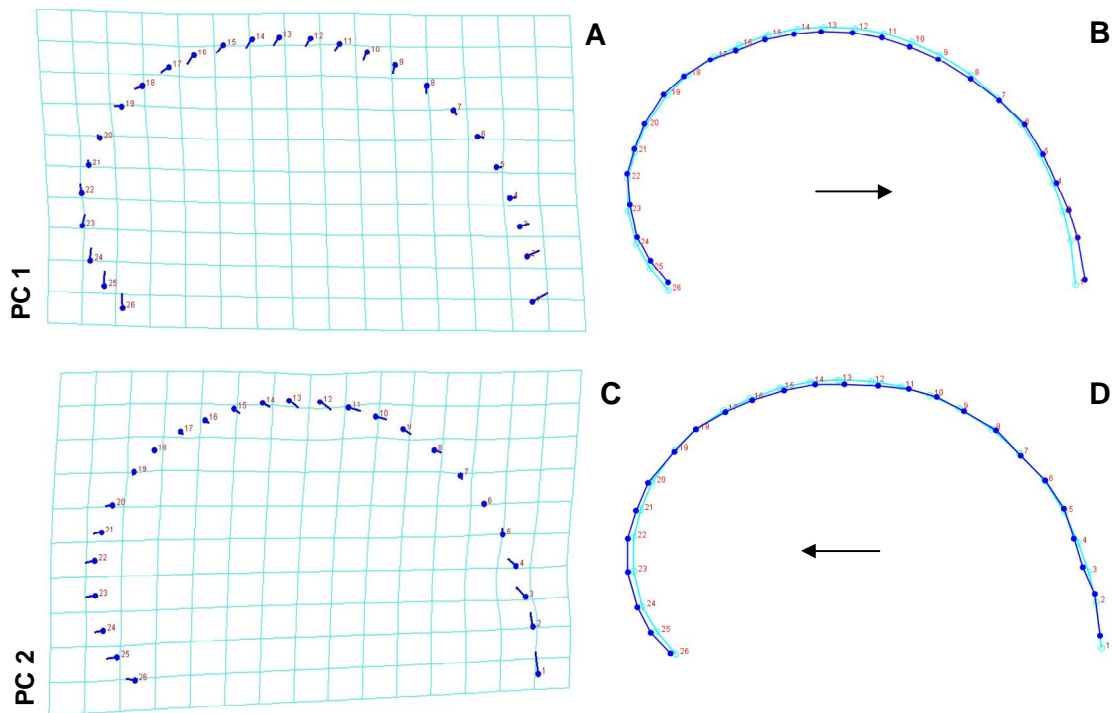
**Figura 3.** Representação dos CP1 e CP2 da ACP que explicam 66,1% da variância. ACP= Análise de Componentes Principais; CP= Componente Principal.

As conchas dos locais Icoaraci, Mosqueiro e Colares foram claramente discriminados na ordenação da AVC com base na distância de Mahalonobis, os indivíduos dos respectivos locais estavam bem separados, (Figura 5: e Tabela 1). Na análise de validação cruzada foi observada uma consistente classificação dos grupos, e os exemplares utilizados para realizar a validação cruzada foram classificados 100% dentro de seus respectivos grupos (Figura 5:

A). Assim, a metodologia se mostrou eficaz para discriminar os grupos de forma confiável.

**Tabela 2:** Resumo da Análise de Variáveis Canônicas e os valores das distâncias de Mahalanobis. Amostras referentes aos locais Icoaraci, Mosqueiro e Colares. \*\*:  $p < 0.01$ . CV: Variáveis Canônicas.

| Wilks' lambda             | F        | GL | GL        | Variáveis | Porcentagem (%) |
|---------------------------|----------|----|-----------|-----------|-----------------|
| 0.01025                   | 69.23 ** | 20 | 156       | CV1       | 79,23           |
|                           |          |    |           | CV2       | 20,77           |
| Distâncias de Mahalanobis |          |    |           |           |                 |
|                           | Icoaraci |    | Mosqueiro |           | Colares         |
| Icoaraci                  | 0        |    | 92.01     |           | 64.48           |
| Mosqueiro                 | 92.01    |    | 0         |           | 29.42           |
| Colares                   | 64.48    |    | 29.42     |           | 0               |



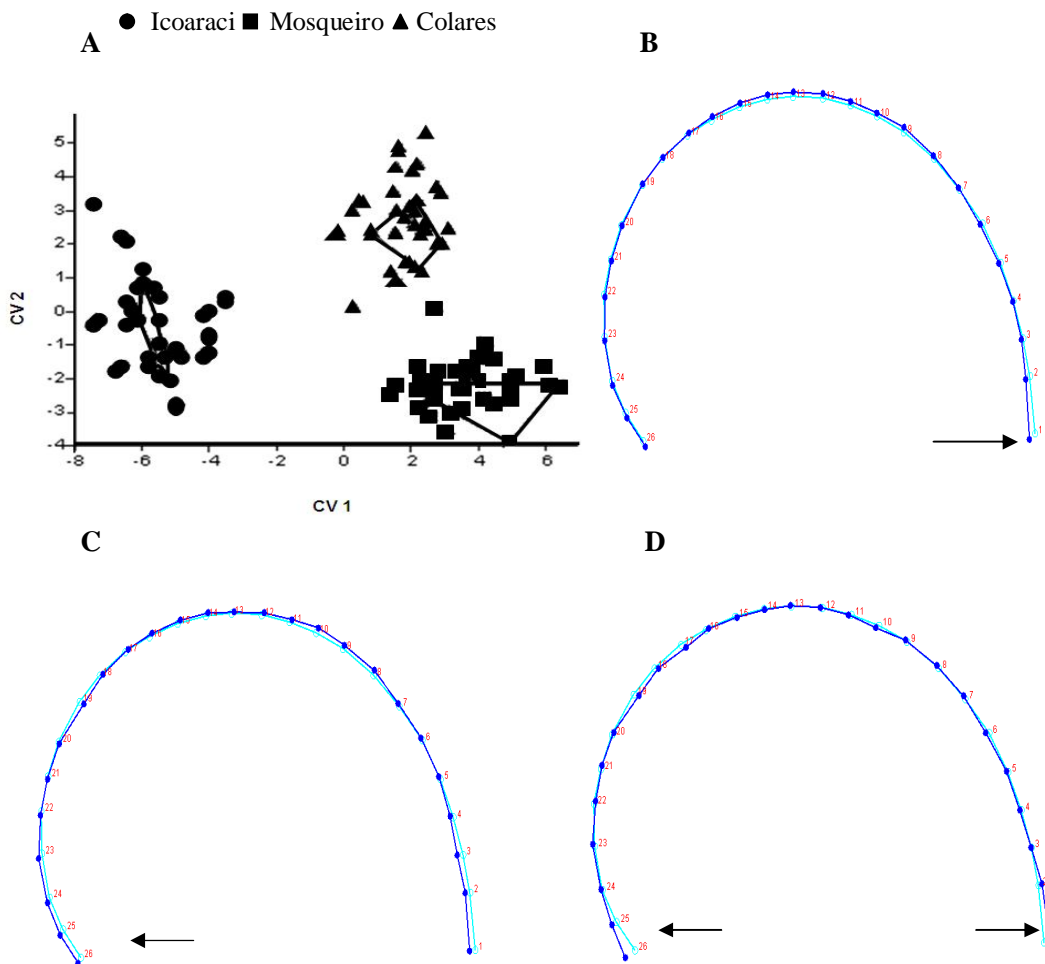
**Figura 4:** Representação gráfica das deformações relativas TPS (*Thin Plate Spline*) em relação à configuração dos valores médios: **A** e **B**: PC1; **C** e **D**: PC2. Azul claro indica os valores médios, azul escuro indica as deformações e as setas indicam o sentido da deformação na concha.

Os resultados mostram que os indivíduos de Icoaraci apresentam curvatura da concha mais fechada na parte frontal, com variação principalmente entre os marcos 1 e 2, sem deformação na porção posterior

(Figura 5: B). Em Mosqueiro observa-se deformação entre os marcos de 1 a 4, e os marcos 23 a 26, indicando um alongamento da concha em sentido a porção posterior (Figura 5: C). Em Colares, houve abertura acentuada da concha tanto na porção frontal como na porção posterior, com deformações entre os marcos 1 a 3 na porção frontal e entre os marcos 24 e 26 na porção posterior, indicando o formato de uma concha mais aberta (Figura 5: D).

O gráfico mostra que ao longo da CV1 há uma separação de Mosqueiro e Colares em relação à Icoaraci e na CV2 há a separação das formas, sugerindo que Colares tem uma forma intermediária entre os outros locais (Figura

A).



**Figura 5:** Análise discriminante entre os grupos e representação gráfica das deformações. **A.** Gráfico da AVC aplicada aos três locais amostrados, Icoaraci, Mosqueiro e Colares. Polígono no interior indicando as amostras referentes à AVC de



validação cruzada. Representação gráfica da deformação da curvatura da concha em; **B**: Icoaraci; **C**: Mosqueiro; **D**: Colares.

Em relação à exposição à costa foi verificado que Icoaraci é a localidade mais protegida. O Índice de Exposição Relativa apresenta 10,5% de exposição nesta praia e Mosqueiro e Colares apresentam 32,9% e 56,6% de exposição respectivamente. Mosqueiro e Colares são mais expostos que Icoaraci respectivamente 3,1 e 5,4 vezes a mais que Icoaraci.

#### 4. DISCUSSÃO

A aplicação do método de morfometria geométrica no gastrópode *N. zebra* é inédita e os resultados neste estudo mostraram uma variabilidade na curvatura da concha em relação às localidades amostradas. Vários fatores podem ser atribuídos a variação da curvatura da concha de *N. zebra*, por exemplo, as variações fenotípicas como acontece com a espécie de gastrópodes terrestre *Candidula unifasciata* (Pfenninger & Magnin, 2001) e marinhos (Martínez-Fernández, De La Cadena, & Rolán-Alvarez, 2010).

Estas modificações morfológicas podem estar relacionadas à genética. No entanto, sugerimos que os fatores que levam a variação na curvatura na concha de *N. zebra* estejam relacionados à capacidade que a espécie tem em se adaptar ao ambiente, como sugerido para as espécies costeiras, *Littorina saxatilis* (Carvajal-Rodríguez et al., 2005) e *Nucella lapillus* (Etter, 1989; 1996).

O polimorfismo de *N. zebra* em relação à coloração de sua concha já foi observado Barroso, & Matthews-Cascon (2009) e Tan & Clements, (2008) onde afirmam que as conchas de *N. zebra* apresentam cores variadas e padrões de listras diferentes. Este é um dado importante de como as espécies se adaptam as condições do ambiente. Um exemplo de como o ambiente pode moldar as características de uma espécie ao longo de uma escala geográfica foi observado por Cameron & Cook, (2012) em gastrópodes terrestres *Cepaea nemoralis* quando comparou a coloração das conchas da espécie entre vários países da Europa e seus respectivos habitats, encontrando acentuado polimorfismo relacionado aos seus ambientes.

Mudanças morfológicas em populações são possíveis e podem ser interpretadas como uma adaptação as condições do ambiente e a capacidade que algumas espécies têm em suportar as mudanças ambientais (Nussey, Wilson, & Brommer, 2007). Vários estudos demonstram que gastrópodes apresentam variações polimórficas ao longo de um gradiente ambiental, em grandes ou pequenas escalas geográficas (Gardner & Westfall, 2011; Sepulveda, Jara, & Gallardo, 2012; Dunithan, Jacquemin, & Pyron, 2012). Esta plasticidade observada pode ser resultado da alteração do genótipo através das diferentes condições ambientais, pode aumentar a sobrevivência da espécie (Martínez-Fernández *et al.*, 2010; Via *et al.*, 1995).

As diferenças morfológicas em relação aos habitats podem estar relacionadas à hidrodinâmica que cada uma das praias sofre com base em seu grau de exposição às ondas e aos ventos. Como resultado, a plasticidade fenotípica em moluscos pode ser produzida como resposta a predação, a alimentação e ao grau de exposição às ondas (Sepulveda *et al.*, 2012). Dessa forma, uma mesma espécie pode apresentar adaptações morfológicas a cada micro habitat em que vive, como observado nos trabalhos realizados com os gastropodas *Littorina saxatilis* (Carvajal-Rodríguez *et al.*, 2005) *Melarhaphe neritoides* (Cuña *et al.*, 2011) e *Nucella lapillus* (Etter, 1989) e como observado no presente estudo.

Por exemplo, Icoaraci é a praia mais afastada da desembocadura do estuário e com velocidade do vento de aproximadamente 2,3 m/s e altura da onda em média de 0,5 m (Farias, 2006) e com o menor IER observado. As praias nesta região apresentam zona de entremarés bastante suave, com elevação de aproximadamente 2 m de costa e arrebentação das ondas de forma deslizante, fazendo com que as condições de energia sejam baixas (Farias, 2006). Estas características explicariam a concha de *N. zebra* mais fechada, em contraste ao observado em Mosqueiro e Colares.

De acordo com El-Robrini, (2001) a praia amostrada em Mosqueiro apresenta perfil praiial íngreme na faixa do entremarés e inclinação da costa de cerca de 5 metros e IER 3,1 vezes maior que em Icoaraci. Nesta localidade foi observado variação na forma da concha, sugerindo um alongamento desta, isto pode ser reflexo de adaptação aquele ambiente.

Em Colares por sua vez, observamos o formato de uma concha mais aberta que as demais localidades, e a característica deste ambiente é distinto dos demais. Em Colares podemos observar um perfil praias bastante íngreme e com dinâmica praias mais semelhante aos observados em praias do litoral do Nordeste Paraense, que apresentam maior hidrodinamismo que as praias estuarinas do interior da baía do Guajará (Barbosa, 2007). O IER observado nesta localidade é 5,4 vezes maior que em Icoaraci, o que é esperado, pois esta praia está localizada a cerca de 20 Km da desembocadura do estuário. Estas características por sua vez explicariam a concha de *N. zebra* mais alongada em Mosqueiro e Colares, em contraste ao observado em Icoaraci.

Estas modificações são semelhantes às observadas em *Littorina saxatilis* (Carvajal-Rodríguez et al., 2005; Martínez-Fernández et al., 2010) e *Nucella lapillus* (Etter, 1989; 1996) submetidas a diferentes graus de exposição a ondas. Estas alterações podem ser identificadas a partir da morfometria geométrica, sendo esta metodologia eficaz para distinguir espécies ecomorfológicamente (Ibacache, Soto, & Galdames, 2010).

Os resultados obtidos através da morfometria geométrica neste estudo deixam clara a separação dos grupos entre os locais ao longo do primeiro eixo das variações canônicas, indicando morfotipos diferentes. O segundo eixo canônico demonstra que Colares têm uma forma intermediária entre as demais localidades. Estes resultados permitem uma interpretação intuitiva e objetiva da forma de *N. zebra* e sugere que Colares e Mosqueiro têm uma concha mais globosa com abertura da concha maior o que poderia conferir vantagens para resistir à força das ondas e se sustentar de forma mais eficaz nas rochas

Desta forma podemos sugerir que o formato da curvatura da concha dos espécimes esteja relacionado à adaptação a energia causada pela exposição às ondas e a inclinação do costão rochoso em que vivem. Um padrão semelhante foi observado por Reid e Osório (2000) nas conchas de *Acanthina monodon*. Estes autores sugeriram que há maior abertura na concha desta espécie quando inseridas em praias expostas, possivelmente com a finalidade do gastrópode ter melhor aderência ao substrato. Padrões dessa natureza também foram observados em *Littorina saxatilis*, sendo esta espécie altamente adaptável ao ambiente em que vive (Galindo, Morán, & Rolán-Alvarez, 2009).

O uso da morfometria geométrica para distinguir os morfotipos se mostrou eficaz, reflexo disso foram os resultados obtidos através da validação cruzada. De acordo com Viscosi & Cardini, (2011) e Klingenberg, (2011) é necessário fazer a validação cruzada para obter a confiabilidade dos dados, principalmente por se tratar de uma espécie que é a primeira vez a ser realizada esta metodologia. Bocxlaer & Schultheiß, (2010) em um estudo para testar diferentes metodologias em gastrópodes ornamentados e não ornamentados também utilizaram deste recurso e as amostras que foram submetidas à análise utilizando SLM foram classificadas prosperamente através da validação cruzada . Desta forma o método MGM e as ferramentas LM e SML aqui utilizadas poderão ser facilmente aplicadas para outros moluscos gastrópodes que não tenham ornamentação, representando um avanço para estudos ecomorfológicos e taxonômicos em moluscos não ornamentados.

Conclui-se desta maneira que a metodologia empregada neste trabalho mostrou-se capaz de discriminar os espécimes ecomorfolologicamente em uma escala de aproximadamente 30 km entre as localidades, podendo as deformações descritas aqui ser causada pela variação genética entre esta população ou como estratégia a adaptações ao ambiente como discutido neste estudo. Dessa forma, sugerimos que futuros estudos com a espécie avaliem se há variação genética nas diferentes populações dos diferentes locais, e avaliem a plasticidade fenotípica através de experimentos controlados. Assim, será possível entender as causas que levam as modificações na concha de *Neritina zebra*.

## **CONCLUSÕES GERAIS**

## CONCLUSÕES GERAIS

Este é o primeiro trabalho de distribuição e definição ecomorfológica de *Neritina zebra* em um gradiente ambiental em zona costeira. Portanto os resultados obtidos nesta pesquisa auxiliam a entender como os processos que ocorrem em ambientes de entremarés podem afetar a dinâmica de uma população e até mesmo moldar sua estrutura morfológica. O resultado obtido neste estudo apontam para diferenças na abundância da espécie entre os locais amostrados e diferenças na morfologia da concha. O método aplicado neste estudo para a descrição da morfologia da concha fornecerá subsídios para futuros trabalhos com gastrópodes que não possuem pontos homólogos ao longo da concha.

Os padrões de distribuição aqui apresentados mostram alta variabilidade entre os locais, no entanto um padrão geral foi observado, apontando menor abundância em Icoaraci em relação à Mosqueiro e Colares, estas duas últimas localidades apresentaram padrão de distribuição semelhantes. A morfologia da concha dos indivíduos de Icoaraci é significativamente diferente de Mosqueiro e Colares, no entanto as duas últimas localidades apesar de serem diferentes, apresentam semelhanças na morfologia da concha. São portanto ecomorfológicamente semelhantes, assim como a abundância entre esses dois locais é semelhante. Esta variabilidade na distribuição e nos ecomorfotipos pode estar sendo influenciada pelas variações ambientais, possivelmente devido a plasticidade que os Gastropoda têm em se adaptar ao meio em que vivem, em especial os moluscos gastrópodes marinhos.

Os locais amostrados estão distribuídos em uma gradiente ambiental na zona costeira amazônica em substrato consolidado, no entanto cada local apresenta características ambientais próprias. Icoaraci está localizado na porção interna do estuário, Mosqueiro e Colares na porção mais externa do estuário, estando as localidades Mosqueiro e Colares expostas à ação de ondas mais intensas e maior variabilidade de salinidade ao longo do ano, além de apresentarem uma maior área de cobertura de rochas. Estes fatores podem estar diretamente ligados ao padrão de distribuição espacial. As características

ambientais de cada localidade além de exercer influências na abundância e distribuição da espécie, também exercem influências quanto a sua morfologia.

A baixa densidade em Icoaraci pode estar diretamente relacionada à ação antrópica neste local. A baixa abundância da espécie na área urbana de Belém mostra que a qualidade naquele ambiente pode estar comprometida, uma vez que moluscos têm características bioindicadoras da qualidade do ambiente. Futuros trabalhos devem medir as variáveis de perturbação para verificar as causas que restringem o crescimento da população nesta localidade.

As lacunas existentes sobre a distribuição espacial e sazonal de espécies viventes em substrato consolidado na região Amazônica e em especial sobre *Neritina zebra*, limitam a compreensão dos padrões de distribuição. Experimentos de longa duração poderão explicar de maneira mais sólida os resultados obtidos nesta pesquisa quanto à distribuição entre as zonas do entremarés e quanto à preferência por substrato. Futuras análises devem ser realizadas para testar a complexidade dos substratos utilizando métodos de dimensão fractal, além da quantificação da cobertura vegetal na superfície do substrato, para melhor entender os processos que ocorrem nestas áreas.

Por fim há uma lacuna sobre trabalhos de morfometria geométrica para a família Neritidae, e até mesmo para gastrópodes que não possuem pontos homólogos. Observa-se que algumas espécies desta família são de interesse comercial e esta metodologia aplicada aqui poderá servir de inferência para identificação de estoques de espécies de interesse econômico.

## REFERÊNCIAS:

- ABSLÃO, R. S., & SANTOS, F. N. (2004). Recent deep-sea species of benthonellania lozouet, 1990 Gastropoda: Rissoidae from the southwestern Atlantic, with descriptions of two new species utilizing a shell morphometric- multivariate approach. *Journal of Conchology*, Vol. **38**: 1-12.
- BARBOSA, E. J. D. S. 2007. Unidades de relevo em zona costeira estuarina: municípios de Colares e Santo Antônio do Tauá PA. Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- BARROSO, C. X. & H. MATTHEWS-CASCON. (2009). Spawning and intracapsular development of *Neritina zebra* Bruguière, 1792 Mollusca: Gastropoda: Neritidae under laboratory conditions. *Invertebrate Reproduction and Development*, **53**: 137-143.
- BOCXLAER, B. V., & SCHULTHEISS, R. (2010). Comparison of morphometric techniques for shapes with few homologous landmarks based on machine-learning approaches to biological discrimination. *Paleobiology*, **36**: 1-470.
- BORGES, A. N. D. S. (2010). Crescimento e dinâmica populacional de *Neritina zebra* (Bruguière, 1792) (Mollusca: Gastropoda) na região do entremarés da ilha de Mosqueiro, Belém- Pa. Universidade Federal do Pará. Centro de Ciências Biológicas. Belém-PA. (Trabalho de Conclusão de Curso).
- BOOKSTEIN, F. L. (1997). Shape and the Information. In: Medical Images: A Decade of the Morphometric Synthesis, **66**: 97-118.
- BOOKSTEIN, F. L. (1982). Foundations of Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **13**: 451-470.
- BORGES, A. N. D. S. (2010). Crescimento e dinâmica populacional de *Neritina zebra* Bruguière, 1792 Mollusca: Gastropoda na região do entremarés da ilha de Mosqueiro, Belém- Pa. Universidade Federal do Pará. Centro de Ciências Biológicas. Belém-PA. Trabalho de Conclusão de Curso.
- CAMERON, R. A. D., & COOK, L. M. (2012). Habitat and the shell polymorphism of *Cepaea nemoralis* L.: interrogating the Evolution Megalab database. *Journal of Molluscan Studies*, **78**:179-184.
- CARVAJAL-RODRÍGUEZ, A., CONDE-PADÍN, P., & ROLAND-ALVAREZ, E. (2005). Decomposing shell form into size and shape by geometric morphometric methods in two sympatric ecotypes of *Littorina saxatilis*. *Journal of Molluscan Studies*, **71**:313-318.



- CUÑA, V., SAURA, M., QUESADA, H., & ROLÁN-ALVAREZ, E. (2011). Extensive micro-geographical shell polymorphism in a planktotrophic marine intertidal snail. *Marine Ecology Progress Series*, **427**:133-143.
- DUNITHAN, A., JACQUEMIN, S., & PYRON, M. (2012). Morphology of *Elimia livescens* Mollusca: Pleuroceridae in Indiana, U.S.A. covaries with environmental variation. *Amer. Malac. Bull.*, **30**: 1-7.
- EL-ROBRINI, M.H.S. (2001). Estudo da variabilidade morfo-sedimentar sazonal de praias estuarinas - ilha de Mosqueiro. Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- ETTER, R. J. (1989). Life history variation in the intertidal snail *Nucella lapillus* across a wave-exposure gradient. *Ecological Society of America*, **70**:1857-1876.
- ETTER, R. J. (1996). The influence of wave action, prey type, and foraging time on growth rates of the predatory whelk *Nucella lapillus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **196**: 341-356.
- FARIAS, D. R. (2006). Variabilidade morfo-sedimentar das praias estuarinas do Amor e dos Artistas ilha de Caratateua, Pará. Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- FRANÇA, C. F.; SOUZA FILHO, P. W.; EL-ROBRINI, M. (2007). Análise faciológica e estratigráfica da planície costeira de Soure (margem leste da ilha de Marajó – PA), no trecho compreendido entre o canal do Cajuúna e o estuário Paracauari. *Acta Amazônica*. **37**: 261-268.
- GALINDO, J., MORÁN, P., & ROLÁN-ALVAREZ, E. (2009). Comparing geographical genetic differentiation between candidate and noncandidate loci for adaptation strengthens support for parallel ecological divergence in the marine snail *Littorina saxatilis*. *Molecular Ecology*, **18**: 919-930.
- GARCON, J. S., GRECH, A., MOLONEY, J., & HAMANN, M. Ñ. (2010). Relative Exposure Index: an important factor in sea turtle nesting distribution. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.*, **20**: 140-149.
- GARDNER, J. P. A., & WESTFALL, K. M. (2011). Geographic distribution and molecular identification of a metapopulation of blue mussels genus *Mytilus* in northeastern New Zealand. *Journal of Molluscan Studies*, **78**: 66-73.
- GONZÁLEZ-JOSÉ, R., BORTOLINI, M. C., SANTOS, F. R., & BONATTO, S. L. (2008). The peopling of America: craniofacial shape variation on a continental scale and its interpretation from an interdisciplinary view. *American Journal Of Physical Anthropology*, **137**:175-87.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN, P.D., (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeonlogia Electronica* 4 art. 4.

- IBACACHE, M. V. T., SOTO, G. M., & GALDAMES, I. S. (2010). Morfometría Geométrica y el Estudio de las Formas Biológicas: De la Morfología Descriptiva a la Morfología Cuantitativa. *Int. J. Morphol.*, **28**: 977-990.
- KLINGENBERG, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, **11**: 353-7.
- KOVAROVIC, K., AIELLO, L. C., CARDINI, A., & LOCKWOOD, C. A. (2011). Discriminant function analyses in archaeology: are classification rates too good to be true? *Journal of Archaeological Science*, **38**: 3006-3018.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, M., DE LA CADENA, M. P., & ROLÁN-ALVAREZ, E. (2010). The role of phenotypic plasticity on the proteome differences between two sympatric marine snail ecotypes adapted to distinct microhabitats. *BMC Evolutionary Biology*, **10**: 1-8.
- MITTEROECKER, P., & GUNZ, P. (2009). Advances in geometric morphometrics. *Evolutionary Biology*, **36**: 235-247.
- MITTEROECKER, P., GUNZ, P., & BOOKSTEIN, F. L. (2005). Heterochrony and geometric morphometrics: a comparison of cranial growth in *Pan paniscus* versus *Pan troglodytes*. *Evolution & Development*, **7**: 244-58.
- MONTEIRO, L. R., & REIS, S. F. (1999). *Princípios de morfometria geométrica*. Holos, Ed. *Ecologia* p. 198. Ribeirao Preto-S.P.
- MÁRQUEZ, F., ROBLEDO, J., PEÑALOZA, G. E., & VAN DER MOLEN, S. (2010). Use of different geometric morphometrics tools for the discrimination of phenotypic stocks of the striped clam *Ameghinomya antiqua* Veneridae in north Patagonia, Argentina. *Fisheries Research*, **101**:127-131.
- NUSSEY, D. WILSON, A., & BROMMER, J. (2007). The evolutionary ecology of individual phenotypic plasticity in wild populations *J. Evol. Bio.* **20**: 831-844.
- PFENNINGER, M., & MAGNIN, F. (2001). Phenotypic evolution and hidden speciation in *Candidula unifasciata* ssp. Helicellinae, Gastropoda inferred by 16S variation and quantitative shell traits. *Molecular Ecology*, **10**: 2541-54.
- PONDER, W. F.; LINDBERG, D. R. (1997). Towards a phylogeny of gastropod molluscs: Analysis using morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **119**: 83- 265.
- PUOTINEN, M. L. (2005). An automated GIS method for modeling relative wave exposure within complex reef-island systems: a case study of the Great Barrier Reef. In A. Zenger & R. Argent (Eds.), Congress of the Modelling and Simulation Society of Australia and New Zealand (pp. 1437-1443). Melbourne, Australia: Modelling and Simulation Society of Australia and New Zealand.

- REID, D.G. & OSORIO, C. (2000). The shallow-water marine Mollusca of the Estero Elefantes and Laguna San Rafael, southern Chile. *Bulletin of the Natural History Museum of London (Zoology)*, **66**: 109–146
- ROHLF, F. J., & SLICE, D. E. (1990). Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Syst. Zool.*, **39**: 40-59.
- ROHLF FJ (1993) Relative warp analysis and an example of its application to mosquito wings. In: Marcus LF, Bello E, García-Valdecasas E eds Contributions to morphometrics. Museo Nacional de Ciencias Naturales CSIC, Madrid, p 131–159.
- ROHLF, F. J. (2003). tpsRelw, Relative Warps Analysis, version 1.36. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- ROHLF, F. J. (2004). tpsUtil, File Utility Program. version 1.26. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- ROHLF, F. J. (2010). tpsDig, Digitize Landmarks and Outlines, version 2.16. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- SEPULVEDA, R. D., JARA, C. G., & GALLARDO, C. S. (2012). Morphological analysis of two sympatric ecotypes and predator-induced phenotypic plasticity in *Acanthina monodon* Gastropoda: Muricidae. *Journal of Molluscan Studies*, **78**:173-178.
- SILVA, M. S. (1996). Morfoestratigrafia e evolução holocênica da planície costeira de Salinópolis, Nordeste do Estado do Pará. Dissertação (Mestrado em Geologia) Universidade Federal do Pará. Centro de Geociências. Belém-PA. Dissertação de Mestrado.
- SOUSA, R., FREIRE, R., RUFINO, M., MÉNDEZ, J., GASPAR, M., ANTUNES, C., & GUILHERMINO, L. (2007). Genetic and shell morphological variability of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in two Portuguese estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **74**: 166-174.
- STERNBERG, R. W., CACCHIONE, D. A., PAULSON, B., & DRAKE, D. E. (1996). Observations of sediment transport on the Amazon subaqueous delta. *Science*, **16**: 697-715.
- TAN, S. K., & CLEMENTS, R. (2008). Taxonomy and distribution of the *Neritidae* Mollusca: Gastropoda in Singapore. *Zoological Studies*, **47**: 481-494.
- VIA, S., GOMULKIEWICZ, R., JONG, G. D., SCHEINER, S. M., SCHLICHTING, C. D., & TIENDEREN, P. H. V. (1995). Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *TREE*, **10**: 212-217.

- VISCOSI, V., & CARDINI, A. (2011). Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. *PLoS one*, **6**:1-20.
- ZELDITCH, M. L., D. L. SWIDERSKI, H. D. SHEETS, AND W. L. FINK. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Elsevier Academic Press, London.