

Complexo *Littorina ziczac* (Gmelin) (Mollusca, Gastropoda, Caenogastropoda) no litoral fluminense: análise morfométrica, distribuição vertical e bioquímica

Ricardo Silva Absalão^{1, 2}
Renata Alves Pinheiro Roberg¹

ABSTRACT. The *Littorina ziczac* (Gmelin) complex (Mollusca, Gastropoda, Caenogastropoda) in the Rio de Janeiro coast: morphometric analysis, vertical distribution and biochemistry. The *Littorina ziczac* (Gmelin, 1791) species complex was studied in Rio de Janeiro State, southeastern Brazil. The occurrence of three species was confirmed, through the analysis of penis morphology: *L. ziczac* (Gmelin, 1791), *L. lineata* d'Orbigny, 1841 and *L. lineolata* d'Orbigny, 1840. There is a correlation between the morphology of the penis and shell shape, thus it was possible to make a discrimination model based in conchologic data, with an efficiency of 75%. However, this model cannot be applied to others samples that weren't included in its formulation, due to phenotypic plasticity of the shell caused by biotic and abiotic factors. In the 9 areas studied *L. lineolata* was always the most abundant species. No vertical stratification in the distribution of the species was verified. From the nine enzymatic systems examined, only Pgi, Pgm e Mpi, presented identifiable patterns and no diagnostic locus was identified in any species. Nevertheless, S and I suggest the individualization of *L. ziczac* and *L. lineata*, respectively.

KEY WORDS. *Littorina*, species complex, vertical distribution, biochemistry, Rio de Janeiro, Brazil

Os litorinídeos são caenogastropódes que habitam, tipicamente, os substratos consolidados da zona entre marés em todo o mundo e, particularmente, a zona supralitoral. No Brasil se distribuem do Cabo Orange ao Chuí (RIOS 1994), desde que o substrato apropriado esteja presente.

Apesar da ampla distribuição e da abundância numérica dos litorinídeos, eles não têm sido bem estudados no Brasil, com exceção de MARCUS & MARCUS (1963). Por outro lado, em escala mundial, são relativamente abundantes os estudos sobre sua taxonomia, ecologia e biologia.

Um problema comum que parte considerável desses estudos tem enfrentado é o de espécies crípticas ou, como é comumente chamado entre os malacologistas, um complexo de espécies. Um complexo de espécies deve ser entendido como a existência de duas ou mais espécies com características semelhantes e geralmente associados a um habitat ou conjunto de habitats. Assim, pode-se esperar dificuldades relacionadas à identificação das espécies integrantes de complexos desta natureza.

1) Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 21941-570 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

2) Departamento de Biologia Animal e Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rua São Francisco Xavier 524, 20550-900 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

Atualmente continuam a ocorrer controvérsias quanto a identificação das espécies dentro dos complexos: LINDBERG (1982), BECK (1986), ROTH & PRESSLEY (1986), VERDUIN (1986) e PALMER *et al.* (1990).

Embora a existência de complexos não seja exclusiva do gênero *Littorina* Ferussac, 1822, neste tem recebido considerável atenção o complexo de *L. saxatilis* (HANNAFORD ELLIS 1983, 1984; JANSON 1983, 1985; JOHANNASSEN & JOHANNASSEN 1990; KNIGHT & WARD 1991) e o complexo de *L. scutulata* (Gould, 1849) (MURRAY 1982; MASTRO *et al.* 1982).

Os métodos mais utilizados para estudar as espécies crípticas do gênero *Littorina* são: 1) análise estatística a partir de dados morfométricos (GOODWIN & FISH 1977; VERMEIJ 1982; MOYSE *et al.* 1982; MURRAY 1982; JANSON & WARD 1984; JANSON 1985; SUNDBERG 1988; GRAHAME & MILL 1989; JOHANNASSEN & JOHANNASSEN 1990; KNIGHT & WARD 1991; WARWICK & CLARKE 1991); 2) estudos bioquímicos, especialmente utilizando-se a eletroforese (WARD & WARDWICK 1980; MOYSE *et al.* 1982; MASTRO *et al.* 1982; JANSON 1985, 1987; JANSON & WARD 1984; SEELEY 1986; FEVOLDEN & GARNER 1987; MILL & GRAHAME 1988; WARD 1990; JOHANNASSEN & JOHANNASSEN 1990; KNIGHT & WARD 1991); e 3) características fisiológicas e/ou anatômicas dos indivíduos (GOODWIN & FISH 1977; HANNAFORD ELLIS 1983; BANDEL & KADOLSKY 1982; RAFFAELLI 1982; MURRAY 1982; MASTRO *et al.* 1982; MOYSE *et al.* 1982; JANSON 1985, 1987; SEELEY 1986; GRAHAME & MILL 1986, 1989; SUNDBERG 1988).

O complexo *Littorina ziczac* foi caracterizado como tal, pela primeira vez por BORKOWSKI & BORKOWSKI (1969) para a Florida (EUA). De acordo com esses autores o complexo é constituído por três espécies: *Littorina ziczac* (Gmelin, 1791), *Littorina lineolata* d'Orbigny, 1840 e *Littorina lineata* d'Orbigny, 1841 que, segundo eles, podem ser discriminadas a partir de evidências biológicas, ecológicas e morfológicas.

O complexo *Littorina ziczac* tem como limites de distribuição o sul do Uruguai e o norte das Bermudas; variando sua distribuição vertical conforme a região considerada, contudo as espécies sempre se apresentariam estratificadas dentro da zona supralitoral (BORKOWSKI & BORKOWSKI 1969).

MARCUS & MARCUS (1963) foram os primeiros a estudar o que se conhecia como *L. ziczac* no Brasil e, a não ser pelos trabalhos de RIOS (1970, 1975, 1985), de âmbito muito mais geral, só em 1983, Luiz Eduardo Lima (com. pessoal) veio confirmar a ocorrência do complexo no litoral fluminense; no entanto, afirmou não ter encontrado nenhuma estratificação vertical entre as espécies integrantes, muito embora não apresentasse resultados que corroborassem sua posição. Além disso, segundo Luiz Eduardo Lima (com. pessoal) seria necessário dissecar os animais para identificá-los pois os caracteres conchiliológicos apresentados por ele eram excessivamente frágeis.

Assim, motivados em parte pela questão da aparente ausência de estratificação vertical entre as espécies do complexo em oposto a BORKOWSKI & BORKOWSKI (1969), e em parte, pela necessidade de se discriminar seus integrantes sem a necessidade de dissecá-los -essencial ao desenvolvimento de quaisquer trabalhos

ecológicos que requeiram uma identificação dos animais vivos – resolveu-se desenvolver este estudo que tem por objetivos: 1) discriminar as espécies do complexo *Littorina ziczac*, baseando-se em características morfométricas, que pudessem ser utilizadas em campo; 2) verificar a possível ocorrência de estratificação vertical entre as espécies do complexo no litoral do estado do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Distribuição Vertical

As coletas de material para determinar os padrões de distribuição vertical foram realizadas com “quadrats” de 200 cm² em dois transectos perpendiculares à linha d’água. Os “quadrats” foram posicionados a cada 10 cm de deslocamento vertical e de modo que a partir do início da ocorrência dos litorínídeos todos os níveis de maré (de 10 em 10 cm) fossem amostrados. Todos os indivíduos presentes no interior dos “quadrats” foram coletados, fixados e conservados em álcool 70%. Em laboratório foram separados por sexo e os machos classificados de acordo com as características morfológicas da genitália; logo, os dados de distribuição e abundância referem-se ao número médio de indivíduos machos das amostras. Para esta finalidade coligiram-se amostras das seguintes localidades e anos: Arpoador (1989), Prainha (1989) e Urca (1990) no município do Rio de Janeiro; Praia Brava (1989) e Forno (1990) em Arraial do Cabo; Praia do Forte (1990), das Conchas (1990) em Cabo Frio; Boa Viagem (1989) e Itaipu (1989) em Niterói. Durante estas coletas, virtualmente todas as inclinações dos costões foram representadas.

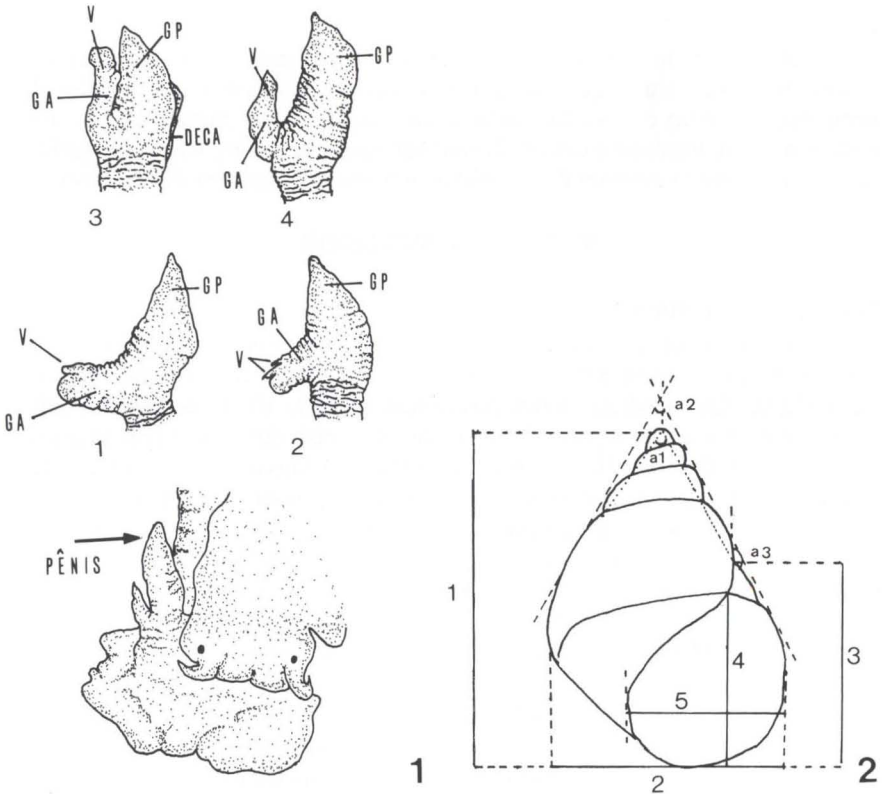
Baseou-se amplamente nas descrições das genitálias masculinas para assinalar cada indivíduo como pertencente a um dos táxons do complexo; contudo, denominou-se, como um quarto táxon, *Littorina af. lineolata* em virtude da semelhança entre a genitália desta e a de *L. lineolata* (Fig. 1).

Este material encontra-se depositado na coleção malacológica do Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), lotes: 2754, 2777, 2778, 2797, 2798, 2800 a 2806, 2812 a 2821, 2824 a 2827, 3172, 3710* a 3714* (* lotes utilizados para realização dos desenhos em câmara clara, ver a seguir).

Análise Morfométrica

Para a análise conquiológica separou-se 30 indivíduos machos de cada táxon. Esses animais tiveram suas conchas individualmente desenhadas em câmara clara e a partir desses desenhos, foram obtidas as seguintes medidas: comprimento total (CT), largura total (LT), comprimento do último anfracto (CUA), comprimento da abertura (CA), largura da abertura (LA), ângulo externo (AE), ângulo interno (AI) e ângulo de inserção (AIN) (Fig. 2).

A fim de minimizar uma possível influência do tamanho dos indivíduos na análise, trabalhou-se com medidas proporcionais: $V_1 = CT/LT$, $V_2 = CT/CUA$, $V_3 = CUA/LA$, $V_4 = CA/LA$, $V_5 = LT/LA$ e $V_6 = AE/AI$. Através de V_1 tem-se uma idéia da forma da concha, se é mais bojuda ou afilada; V_2 indica o quanto da concha é ocupada pelo último anfracto, onde a perda de água seria potencialmente maior.



Figs 1-2. (1) Genitália masculina dos táxons componentes do complexo *Littorina ziczac*: (GP) glândula peniana, (V) verruga, (GA) glândula acessória, (DECA) ducto espermático de calha aberta, (1) *L. lineolata*, (2) *L. af. lineolata*, (3) *L. ziczac*, (4) *L. lineata*, (2) Representação esquemática da concha de um espécime do complexo *Littorina ziczac* e as medidas utilizadas na análise morfométrica: (1) comprimento total, (2) largura total, (3) comprimento do último anfracto, (4) comprimento da abertura, (5) largura da abertura, (a1) ângulo interno da espira, (a2) ângulo externo da espira, (a3) ângulo de inserção.

As variáveis 3 e 4 (V_3 e V_4 respectivamente) referem-se à abertura, fornecendo noções de sua forma – alongada ou alargada -conseqüentemente indica se a superfície de contato com o ar é grande ou pequena. Essa informação é complementada por V_5 , que mostra o quanto da largura da concha é ocupada pela abertura. A V_6 representa o grau de convexidade das voltas da concha. Concluindo, as variáveis de 1 a 6 juntas, indicam a forma a concha (inclusive a da abertura) que, em última instância, tem significado ecológico para o animal.

Além dessas, utilizou-se, também, os valores absolutos do ângulo interno (AI), do ângulo externo (AE), do ângulo de inserção (AIN), do número de bandas claras na abertura (BAN) e do número de linhas em 1 mm da concha (LIN).

Estes dados foram submetidos à análise discriminante multivariada do pacote estatístico SPSS, no Núcleo de Computação Eletrônica (UFRJ). Essa técnica obtém a melhor combinação linear de variáveis para discriminar, o mais eficiente-

mente, entre grupos definidos “a priori”. Os grupos definidos “a priori” foram aqueles identificados a partir da genitália. Para detalhes da técnica consulte-se LEGENDRE & LEGENDRE (1983).

Para testar a aplicabilidade do modelo discriminante, utilizou-se indivíduos coletados em localidades diferentes daquelas nas quais foram obtidos os indivíduos utilizados para a construção do modelo. Estas localidades foram Ibicuí e Praia Brava (Mangaratiba, Rio de Janeiro), Camburí (Vitória, Espírito Santo), Saquarema e Grumari (Rio de Janeiro).

Análise de genética bioquímica – eletroforese

Para esta finalidade foram realizadas novas coletas nas praias do Arpoador, Vermelha, Joatinga e Ilha Rasa (Rio de Janeiro), Itaipu (Niterói), Prainha e Pontal do Atalaia (Arraial do Cabo) e Porto Galo (Angra dos Reis) (todas realizadas em 1992). Para evitar que as características bioquímicas destes animais fossem adulteradas, as dissecações foram realizadas com os animais vivos, os machos separados e mantidos congelados a -18°C por um período inferior a 30 dias. Por fim selecionou-se 10 espécimens de *Littorina lineolata*, 11 de *L. lineata*, 06 de *L. af. lineolata* e 04 de *L. ziczac*.

A análise em si, empregou o processo eletroforético, tendo como base de análise as isoenzimas destes animais. Para a obtenção do homogeneizado para análise, cada indivíduo foi macerado inteiro com água destilada em diluição de 1:1. O gel suporte da eletroforese consistiu em uma solução à 12,5% de amido e o tempo de corrida foi de seis horas com tampão triscitrato, pH 8 (TC 8), à 4°C, e sob potência entre 3600-4200 mW. A voltagem utilizada foi de 120 volts e a corrente de 30-35 mA. Os detalhes da técnica podem ser obtidos em SOLÉ-CAVA & THORPE (1987). Foram testados nove sistemas de enzimas: leucina aminopeptidase (Lap), alfa esterase (α -Est), lactato desidrogenase (LDH), malato desidrogenase (Mdh), manose fosfato isomerase (Mpi), fosfogluose isomerase (Pgi), fosfoglucomutase (Pgm), xantina oxidase (Xod) e isocitrato desidrogenase (Idh). Dessas, apenas Pgi, Pgm e Mpi apresentaram padrões interpretáveis.

Calculou-se as similaridades entre os táxons através do índice de Thorpe (S) e de Ney (I) (THORPE 1983). O índice de Thorpe é calculado a partir da soma das menores sobreposições. E para o cálculo do índice de Ney (I) usa-se a fórmula:

$$I = \frac{\sum (f_i \times f_j)}{\sqrt{\sum f_i^2 \times \sum f_j^2}}$$

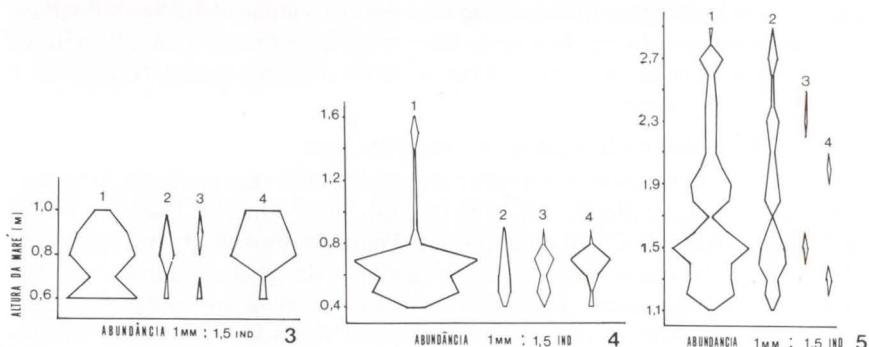
sendo: (f_i) freqüência gênica de A, (f_j) freqüência gênica de B

RESULTADOS

Distribuição Vertical

As figuras 3-5 constituem-se numa amostra gráfica da distribuição vertical dos táxons. Pode-se notar que não há separação vertical entre eles, e sim uma ampla sobreposição em todos os níveis do costão. Além disto, não detectou-se alternância significativa da forma dominante de um costão para outro. Na maioria deles o táxon

mais abundante foi aquele considerado como *Littorina lineolata*. Por este motivo elegeu-se, apenas, estes três costões como representativos dos demais para fins de apresentação nesse trabalho.



Figs 3-5. Distribuição vertical e abundância dos táxons do complexo *Littorina ziczac*, no estado do Rio de Janeiro. (3) Praia da Urca; (4) Praia do Forno, Arraial do Cabo; (5) Praia de Boa Viagem, Niterói. Os números referem-se aos indivíduos machos dos seguintes táxons: (1) *L. lineolata*, (2) *L. af. lineolata*, (3) *L. ziczac* e (4) *L. lineata*.

Análise Morfométrica

A figura 6 apresenta a posição relativa de cada táxon em relação ao plano criado pelas funções discriminantes:

$F1 = 11,23 V_1 + 4,02 V_2 + 5,89 V_5 + 8,14 V_6 + 0,01 AIN + 0,28 AI + 0,02 LIN - 0,72 V_3 - 6,36 V_4 - 0,1 AE - 0,13 BAN - 44,93$ e $F2 = 0,002 V_1 + 6,24 V_2 + 0,74 V_4 + 11,13 V_5 + 1,03 V_6 + 0,01 AIN + 0,02 AI + 0,53 LIN - 3,5 V_3 - 0,02 AE - 0,12 BAN - 29,34$.

Pode-se observar uma considerável discriminação entre *L. lineolata*, *L. ziczac* e o conjunto formado por *L. lineata* e *L. af. lineolata* que não se separaram com clareza entre si.

A percentagem de discriminação correta, isto é, de concordância entre a classificação baseada na morfologia da genitália masculina e a baseada nas medidas morfométricas das conchas foi de 60,83% (Tab. I). Devido a "proximidade" observada entre *L. lineata* e *L. af. lineolata*, refez-se a análise considerando-se as duas formas como um único táxon conquiliológico.

O mapa territorial (Fig. 7) obtido a partir das novas funções discriminantes em função da recombinação dos táxons:

$F1 = 12,19 V_1 + 3,43 V_2 + 6,84 V_5 + 8,47 V_6 + 0,01 AIN + 0,28 AI + 0,29 LIN - 1,89 V_3 - 6,34 V_4 - 0,1 AE - 0,17 BAN - 45,57$ e $F2 = 5,11 V_1 + 1,97 V_2 + 1,08 V_4 + 15,37 V_5 + 2,49 V_6 + 0,01 AIN + 0,02 AI + 0,53 LIN - 10,08 V_3 - 0,02 AE - 0,38 BAN - 28,11$ mostrou boa discriminação dos três táxons e, como resultado final, obteve-se um percentual de discriminação correta de 75,83% (Tab. II).

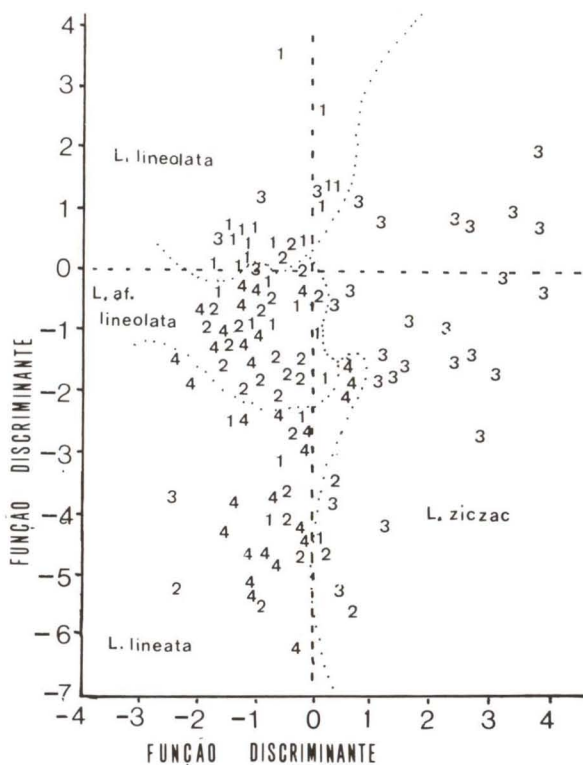


Fig. 6. Mapa territorial resultante da análise discriminante multivariada com os quatro táxons. Os números referem-se aos indivíduos machos dos seguintes táxons: (1) *L. lineolata*, (2) *L. af. lineolata*, (3) *L. ziczac* e (4) *L. lineata*.

Tabela I. Demonstrativo do percentual de discriminação do modelo conchiliológico com quatro táxons.

Táxon	<i>L. lineolata</i>	<i>L. af. lineolata</i>	<i>L. ziczac</i>	<i>L. lineata</i>
<i>L. lineolata</i>	66,70	16,70	0,00	16,70
<i>L. af. lineolata</i>	10,00	50,00	6,70	33,30
<i>L. ziczac</i>	13,30	6,70	66,70	13,30
<i>L. lineata</i>	6,70	33,30	6,70	60,00

Percentual geral de discriminação correta: 60,83 %

Tabela II. Demonstrativo do percentual de discriminação do modelo conchiliológico após recombinação dos táxons.

Táxon	<i>L. lineolata</i>	<i>L. af. lineolata</i> + <i>L. lineata</i>	<i>L. ziczac</i>
<i>L. lineolata</i>	73,33	23,33	3,33
<i>L. af. lineolata</i> + <i>L. lineata</i>	18,33	78,33	3,33
<i>L. ziczac</i>	13,33	13,33	73,33

Percentual geral de discriminação correta: 75,83 %

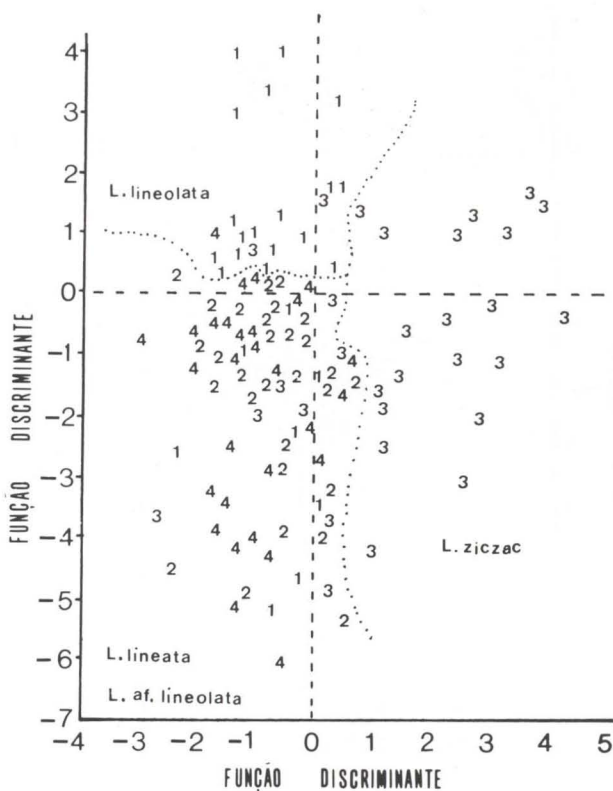


Fig. 7. Mapa territorial resultante da análise discriminante multivariada após a recombinação dos quatro táxons em três (*Littorina af. lineolata* e *L. lineata* consideradas em conjunto). Os números referem-se aos indivíduos machos dos seguintes táxons: (1) *L. lineolata*, (2) *L. af. lineolata*, (3) *L. ziczac* e (4) *L. lineata*.

Utilizando-se os dados morfométricos dos indivíduos machos provenientes de localidades outras que não aquelas que forneceram os espécimes para as análises precedentes, constatou-se uma concordância muito baixa entre os indivíduos provenientes das novas amostras e as previsões baseadas nas amostras iniciais (Tabs III, IV). Em outras palavras, houve uma baixa concordância entre a classificação proposta pelo modelo (baseada na morfologia da concha) e a baseada na morfologia da genitália masculina destes “novos” espécimes.

Análise de genética bioquímica – eletroforese

Para cada sistema enzimático foram calculadas as freqüências genotípicas e gênicas e a seguir calcularam-se, também, as similaridades entre os táxons pelo índice de Thorpe (Tab. V) e pelo índice de Ney (Tab. VI). Segundo THORPE (1983) valores de S acima de 0,9 indicam indivíduos coespecíficos; valores entre 0,85 e 0,35 indivíduos cogenéricos e valores abaixo de 0,3 são supragenéricos.

Tabela III. Teste do modelo de discriminação conchiliológico com material proveniente de outras localidades (análise com quatro táxons). (E) Erro, (A) acerto, (%) percentagem de acerto, (total) total de indivíduos utilizados.

Local Táxon/situação	Ibicui			Praia Brava			Grumari			Camburi			Saquarema		
	E	A	%	E	A	%	E	A	%	E	A	%	E	A	%
<i>L. lineolata</i>	31	2	6	6	2	25	43	8	15	25	10	28	11	2	18
<i>L. af. lineolata</i>	10	1	9	1	0	0	3	0	0	6	0	0	1	1	50
<i>L. ziczac</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	100
<i>L. lineata</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	-	-	-
Total	41	3	7	7	2	22	47	8	14	33	10	23	12	4	25

Tabela IV. Teste do modelo de discriminação conchiliológico com material proveniente de outras localidades (análise com três táxons). (E) Erro, (A) acerto, (%) percentagem de acerto, (total) total de indivíduos utilizados.

Local Táxon/situação	Ibicui			Praia Brava			Grumari			Camburi			Saquarema		
	E	A	%	E	A	%	E	A	%	E	A	%	E	A	%
<i>L. lineolata</i>	33	0	0	8	0	0	51	0	0	35	0	0	13	0	0
<i>L. af. lineolata</i> + <i>L. lineata</i>	9	2	18	1	0	0	4	0	0	7	0	0	2	0	0
<i>L. ziczac</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	100
Total	42	2	5	9	0	0	55	0	0	42	1	2	15	1	6

Assim, segundo o índice de Thorpe, pode-se afirmar que *L. ziczac* individualiza-se com clareza de *L. lineata* e de *L. lineolata*, enquanto que os táxons restantes não se individualizam entre si (Tab. V). Enquanto que o índice de Ney (Tab. VI) reforça a separação de *L. lineata* dos outros membros do complexo e os demais não se individualizariam entre si. Ressalte-se que não se encontrou evidências a favor do "status" de espécie para o morfo denominado *L. af. lineolata* através de nenhum dos dois índices.

Tabela V. Proximidade filogenética dos táxons do complexo *Littorina ziczac* calculada a partir do índice de Thorpe utilizando-se os sistemas enzimáticos Pgi, Pgm e Mpi.

Sistema Enzimático Pgi	
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. af. lineolata</i>) = 0,93	S (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,92
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,85	S (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,94
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,99	S (<i>L. ziczac</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,86
Sistema Enzimático Pgm	
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. af. lineolata</i>) = 0,75	S (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,96
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,75	S (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,80
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,95	S (<i>L. ziczac</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,80
Sistema Enzimático Mpi	
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. af. lineolata</i>) = 0,93	S (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,83
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,90	S (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,96
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,92	S (<i>L. ziczac</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,82
Média	
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. af. lineolata</i>) = 0,87	S (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,90
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,83	S (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,90
S (<i>L. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,95	S (<i>L. ziczac</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,83

Tabela VI. Proximidade filogenética dos táxons do complexo *Littorina ziczac* calculada a partir do índice de Ney utilizando-se os sistemas enzimáticos Pgi, Pgm e Mpi.

Sistema Enzimático Pgi		
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. af. lineolata</i>) = 0,99	I (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 1,00	
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,98	I (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,25	
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,44	I (<i>L. ziczac</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,16	
Sistema Enzimático Pgm		
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. af. lineolata</i>) = 0,93	I (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,99	
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,94	I (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,94	
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,99	I (<i>L. ziczac</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,95	
Sistema Enzimático Mpi		
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. af. lineolata</i>) = 0,99	I (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,97	
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 1,00	I (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,99	
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,99	I (<i>L. ziczac</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,98	
Média		
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. af. lineolata</i>) = 0,97	I (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,98	
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. ziczac</i>) = 0,97	I (<i>L. af. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,72	
I (<i>L. lineolata</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,80	I (<i>L. ziczac</i> – <i>L. lineata</i>) = 0,69	

DISCUSSÃO

MARCUS & MARCUS (1963) não consideraram *L. lineolata* para o Brasil. FLORES (1973) propôs a ocorrência das três espécies no Brasil. Além disso, BORKOWSKI & BORKOWSKI (1969) citam que *L. ziczac brasiliensis* (VERMEIJ & PORTER 1971) provavelmente representaria *L. lineata*.

Luiz Eduardo Lima (com. pessoal) explica a ausência de *L. lineolata* nos sensores faunísticos realizados no Brasil como resultado da confusão entre *L. lineolata* e *L. ziczac*. Segundo esse mesmo autor, *L. lineolata* apresenta um pênis com uma glândula acessória na base e possui uma banda clara na abertura da concha. Para *L. lineata*, ele descreve uma concha com duas bandas claras na abertura e pênis com uma glândula acessória constituída de um lobo glandular com uma verruga na extremidade. Em relação à *L. ziczac*, afirma não haver glândula acessória no pênis e que MARCUS & MARCUS (1963) equivocaram-se ao identificar tal estrutura, que seria, segundo ele, uma dobra terminal do lóbulo de fixação. Sustenta, ainda, que o material estudado por ele difere do apresentado por outros autores (BEQUAERT 1943; BORKOWSKI & BORKOWSKI 1969; RIOS 1975). Nesse estudo considerou-se, com base na morfologia, a presença de uma glândula acessória com uma pequena verruga como característico de *L. ziczac* (Fig. 1). Em relação ao número de bandas claras presentes na abertura da concha, não se obteve qualquer padrão que pudesse separar os táxons, em oposto ao encontrado por BORKOWSKI & BORKOWSKI (1969) e BORKOWSKI (1975).

Distribuição Vertical

Não se observou a existência de um padrão de distribuição vertical estratificado para as espécies do complexo *Littorina ziczac* nas localidades estudadas. Por outro lado, BORKOWSKI & BORKOWSKI (1969) detectaram uma distribuição tipicamente estratificada com *L. lineata* mais afastada da linha d'água, *L. lineolata* nos

níveis intermediários e *L. ziczac* mais próxima a linha d'água. Talvez a distribuição vertical das espécies do complexo varie em conformidade com a latitude, apresentando-se estratificada no seu limite de ocorrência setentrional e não estratificada no meridional.

Análise Morfométrica

A análise discriminante multivariada sobre as variáveis conquílio-morfométricas resultou num modelo discriminante de razoável eficiência, mas aparentemente aplicável, apenas, as amostras que serviram de base a sua construção (Tabs IV, V). As variações relativamente amplas nas variáveis conquiliológicas que, em última instância invalidaram a aplicação do modelo construído a outras amostras alheias àquelas originalmente utilizadas na elaboração do mesmo, podem representar respostas adaptativas às alterações nas condições ambientais como reportado por Claudia Magalhães (com. pessoal) para o complexo *L. ziczac* que alcançaram maiores tamanhos em localidades mais expostas a ação das ondas e por GOODWIN & FISH (1977) que comprovaram haver relação entre o grau de exposição do local e as medidas da concha como altura, largura e altura da abertura de *L. obtusata* e *L. mariae*. Além desses, JANSON (1983) demonstrou que *L. saxatilis* é apta a apresentar fenótipos distintos conforme ocupe locais com diferentes graus de exposição, conclusão idêntica a que chegou MCMAHON & YIPP (1992) trabalhando com *Nodilittorina unifasciata*. Fatores biológicos como a presença de predadores (JANSON 1983), de estarem em alopatria ou simpatria com outras espécies do complexo que integram (GRAHAME & MILL 1989; GRAHAME *et al.* 1992) e efeitos da densidade são, também, fatores importantes na expressão da variabilidade conquiliológica entre os litoríneos e que também poderiam estar contribuindo a pobre capacidade de discriminação desse modelo quando aplicado a outras amostras. Na verdade estudos que encontraram evidências de uma base genética para as diferenças populacionais utilizaram espécies com desenvolvimento direto e ausência de uma fase larvar amplamente dispersável. Nessas espécies a morfologia da concha poderia estar sujeita a pressões de seleção em escala microambiental o que levaria ao desenvolvimento de raças genéticas com formas de concha distintas em populações isoladas (CROTHERS 1985). Por outro lado, em espécies com fases larvares livres, ou com cápsulas ovíferas como nas espécies do complexo *Littorina ziczac* (BORKOWSKI & BORKOWSKI 1969) que garantam o fluxo gênico entre populações, as variações conquiliológicas seriam muito mais reflexo da plasticidade fenotípica que de diferenças genéticas (MCMAHON & YIPP 1992; GRAHAME *et al.* 1992).

BORKOWSKI & BORKOWSKI (1969) utilizaram-se de características conquiliológicas para separar as três espécies do complexo *L. ziczac* na Flórida (EUA). BORKOWSKI (1975) afirma que estas mesmas "características conquiliológicas" seriam inadequadas à separação dos táxons integrantes do complexo *L. ziczac*, mas as utiliza em indivíduos adultos na distinção entre *L. lineata* e *L. lineolata*. BORKOWSKI (1975) afirma que há grande confusão nas determinações das três espécies do complexo *L. ziczac* realizadas por outros autores como por exemplo a de *L. jamaicensis* C.B. Adams, 1850 realizada por BANDEL (1974) para o que seria realmente *L. lineata* d'Orbigny, 1841 ou ainda a identificação equivocada de *L. lineolata* como *L. lineata* realizada pelo mesmo autor. Dada a possível influência

de fatores bióticos e abióticos na determinação do fenótipo final das espécies do complexo *L. ziczac* em cada localidade não é surpreendente a confusão reinante entre os conchiliologistas. Sem dúvidas, a observação anatômica das genitálias continuará como um instrumento decisivo para o reconhecimento das espécies integrantes do complexo *L. ziczac*.

Análise Bioquímica

A análise eletroforética não foi capaz de encontrar *loci* diagnósticos, o que pode-se levar a considerar a possibilidade de que se trata de uma única espécie com um alto grau de polimorfismo em relação a morfologia da genitália masculina. WARD (1990) ao desenvolver abordagem similar a apresentada neste trabalho também não encontrou *locus* diagnóstico algum entre *Littorina saxatilis* e *L. arcana*; entretanto, manteve o *status* de espécies para ambas baseado nas diferenças da frequência alélica e no número de *loci* polimórficos. MILL & GRAHAME (1988) haviam conseguido separá-las através do sistema enzimático esterase (Est.) além de diferenciarem as fêmeas maduras pela morfologia e cor da genitália. JOHANNESSON & JOHANNESSON (1990) afirmaram que *L. arcana* e *L. saxatilis* seriam espécies crípticas e que por conta disso apresentariam diferenças em aloenzimas muito pequenas, mas que o fluxo gênico entre indivíduos pertencentes a mesma espécie, em locais distintos, seria maior do que aquele entre indivíduos de ambas as espécies presentes em um mesmo local. KNIGHT & WARD (1991) argumentaram que a falta de *loci* diagnósticos e a baixa distância gênica entre elas seria devido a recente especiação a partir de um ancestral comum.

Em nosso caso, a análise eletroforética não foi conclusiva (ausência de *locus* diagnóstico) apesar do valor do índice de Ney se constituir em forte evidência a favor da separação de *L. lineata* dos táxons restantes. Por outro lado, o índice de Thorpe também sugere a individualização de *L. ziczac* dos outros táxons. Infelizmente o pequeno número de indivíduos examinados e, principalmente, de sistemas enzimáticos considerados recomendam extrema cautela na interpretação da ausência de um *locus* diagnóstico, o que poderia em parte, explicar os resultados não concordantes entre os índices de Ney e de Thorpe.

Se, por um lado, a presença de um único *locus* é determinante na validação da separação de dois táxons quaisquer, por outro lado sua ausência não significa que estejamos tratando com uma única entidade biológica polimórfica, como demonstrado no caso do complexo *L. saxatilis*. O complexo *L. ziczac* demanda, ainda, considerável esforço em vários campos de pesquisa antes que uma posição definitiva possa ser proposta.

CONCLUSÕES

Existe considerável associação entre a morfologia da genitália masculina das espécies integrantes do complexo *Littorina ziczac* e variáveis conchiliológicas que traduzem a forma das conchas. Esta associação genitália-forma da concha é restrita as amostras investigadas, ou seja, não pode ser extrapolada para populações não estudadas quando da construção de um modelo discriminante.

Os táxons do complexo não se apresentaram verticalmente estratificados nos costões estudados.

A análise eletroforética não foi conclusiva quanto ao reconhecimento específico das espécies integrantes do complexo *L. ziczac*; no entanto o índice de Ney aponta para a individualização de *L. lineata* e o índice de Thorpe para a de *L. ziczac* dos táxons restantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANDEL, K. 1974. Studies on Littorinidae from the Atlantic. **Veliger** 17 (2): 92-114.
- BANDEL, K. & D. KADOLSKY. 1982. Western atlantic species of *Nodilittorina* (Gastropoda: Prosobranchia): Comparative morphology and its functional, ecological, philogenetic and taxonomic implications. **Veliger** 25 (1): 11-42.
- BECK, L. 1986. The radula, shell and soft body of the twin species *Gibbula umbilicalis* (Da Costa) and *Gibbula pennanti* (Philippi) (Gastropoda: Prosobranchia, Trochidae). **Arch. Mollusckenkd** 117 (1-3): 11-18.
- BEQUAERT, J.C. 1943. The genus *Littorina* in the Western Atlantic. **Johnsonia** 7: 1-28.
- BORKOWSKI, T.V. 1975. Variability among Caribbean Littorinidae. **Veliger** 171 (4): 369-377.
- BORKOWSKI, T.V. & M.R. BORKOWSKI. 1969. The *ziczac* species complex. **Veliger** 11 (4): 408-414.
- CROTHERS, J.H. 1985. Two different patterns of shell-shape variation in the dogwhelk *Nucella lapillus* (L.). **Biol. Jour. Linn. Soc.** 25 (4): 339-353.
- FELVODEN, S.E. & S.P. GARDINER. 1987. Environmental stress and allozyme variation in *Littorina littorea* (Prosobranchia). **Mar. Ecol.** 39: 129-136.
- FLORES, C. 1973. La familia Linidae (Mollusca: Mesogastropoda) en las aguas costeras de Venezuela. **Bol. Inst. oceanogr. Cumana** 12 (1): 3-22.
- GOODWIN, B.J. & J.D. FISH. 1977. Inter- and intra-specific variation in *Littorina obtusata* and *L. marie* (Gastropoda: Prosobranchia). **Jour. Moll. Stud.** 43: 241-254.
- GRAHAME, J. & P.J. MILL. 1986. Relative size of the foot of two species of *Littorina* on a rocky shore in Wales. **Jour. Zool.** 208: 229-236.
- . 1989. Shell shape variation in *Littorina saxatilis* and *L. arcana*: a case of character displacement? **Jour. Mar. Biol. Ass. U.K.** 69: 837-855.
- GRAHAME, J.; P.J. MILL; M. DOUBLE & S.L. HULL. 1992. Patterns of variation in Aat-1 allele frequencies in rough periwinkles (*Littorina*) suggest similar selection regimes rather than conspecificity. **Jour. Mar. Biol. Ass. U.K.** 72 (2): 499-502.
- HANNAFORD ELLIS, C. 1983. Patterns of reproduction in four *Littorina* species. **Jour. Moll. Stud.** 49: 98-106.
- . 1984. Ontogenetic change in colour shell pattern in *Littorina neglecta* Bean (1844). **Jour. Conch.** 31: 343-347.
- JASON, K. 1983. Selection and migration in two distinct phenotypes of *Littorina saxatilis* in Sweden. **Oecologia** 59: 58-61.
- . 1985. A morphologic and genetic analysis of *Littorina saxatilis*

- (Prosobranchia) from Venice, and on the problem of *saxatilis-rudis* nomenclature. **Biol. Jour. Lin. Soc.** **24**: 51-59.
- . 1987. Allozyme and shell variation in two marine snails (*Littorina*, Prosobranchia) with different dispersal abilities. **Biol. Jour. Lin. Soc.** **30**: 245-256.
- JASON, K. & R.D. WARD. 1984. Microgeographic variation in allozyme and shell characters in *Littorina saxatilis* Olivi (Prosobranchia, Littorinidae). **Biol. Jour. Lin. Soc.** **22**: 289-307.
- JOHANNESSON, K. & B.O. JOHANNESSON. 1990. Genetic variation with *Littorina saxatilis* (olivi) and *Littorina neglecta* Bean: Is *L. neglecta* a good species? **Hidrobiologia** **193**: 89-97.
- KNIGHT, A.J. & R.D. WARD. 1991. The genetic relationships of three *taxa* in the *Littorina saxatilis* species complex (Prosobranchia: Littorinidae). **Jour. Moll. Stud.** **57**: 81-91.
- LEGENDRE, L. & P. LEGENDRE. 1983. **Numerical ecology**. New York, Elsevier Sci. Publ., 419p.
- LINDBERG, D.R. 1982. A multivariate study of morphological variation of the limpet *Notoacmea depicta* and its synonyms *Notoacmea gabatella* and *Notoacmea lepisma* (Gastropoda: Acaecidae). **Bull. South Calif. Acad. Sci.** **81**: 87-96.
- MARCUS, E. & E.B.R. MARCUS. 1963. Mesogastropoden von der Küste von São Paulo. **Abhandlungen der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Klasse** **1**: 1-105.
- MASTRO, E.; V. CHOW & D. HEDGECOCK. 1982. *Littorina scutulata* and *Littorina plena*: Sibling species status of two prosobranch gastropod species confirmed by electrophoresis. **Veliger** **24** (3): 239-246.
- MCMAHON, R. & M.W. YIPP. 1992. Evaluation of evaporative cooling as a mechanism for regulation of tissue temperatures during insolation in twelve species of Hong Kong mangrove and rocky shore prosobranchs gastropods, p.745-767. *In*: B. MOUTON (Ed.). **The marine flora and fauna of Hong Kong and Southern China**. Vol. 2: **Introduction taxonomy and ecology**. Hong Kong, Univ Press.
- MILL, P.J. & J. GRAHAME. 1988. Esterase variability in the gastropods *Littorina saxatilis* (Olivi) and *L. arcana* Ellis. **Jour. Moll. Stud.** **54**: 347-353.
- MOYSE, J.; J.P. THORPE & E. AL-HAMADANI. 1982. The status of *Littorina aestuarii* Jeffreys an approach using morphology and biochemical genetics. **Jour. Conch.** **31**: 7-15.
- MURRAY, T. 1982. Morphological characterization of the *Littorina scutulata* species complex. **Veliger** **24** (3): 233-238.
- PALMER, A.R.; S.D. GAYRON & D.S.W. DRUFF. 1990. Reproductive, morphological and genetic evidence for two cryptic species of Northeastern Pacific *Nucella*. **Veliger** **33** (4): 325-338.
- RAFFAELLI, D. 1982. Recent ecological research on some european species of *Littorina*. **Jour. Moll. Stud.** **48**: 342-354.
- RIOS, E.C. 1970. **Coastal Brazilian Seashells**. Rio Grande, Museu Oceanográfico do Rio Grande, 255p.
- . 1975. **Brazilian Marine Mollusks**. Rio Grande, Museu Oceanográfico

- Fundação Universidade de Rio Grande, 331p.
- . 1985. **Seashells of Brazil**. Rio Grande, Museu Oceanográfico Fundação Universidade de Rio Grande, 328pp.
- ROTH, B. & P.H. PRESSLEY. 1986. Observations on the range and natural history of *Manadenia setosa* (Gastropoda: Pulmonata) in the Klamath Montains, California (USA) and the taxonomy of the same relates species. **Veliger** **29** (2): 169-182.
- SEELEY, R.H. 1986. Intense natural selection caused a rapid morphological transition in a living marine snail. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA** **83**: 6897-6901.
- SOLÉ-CAVA, A. & J.P. THORPE. 1987. The use of eletrophoresis in sponge taxonomy, p.243-258. *In*: J. VACELET & N. BOURY ESNAULT (Eds). **The Sponge Taxonomy**. Nato Asi Series Vol. 13, Springer Verlag.
- SUNDBERG, P. 1988. Microgeographic variation in shell characters of *Littorina saxatilis* Olivi-a question mainly of size ? **Biol. Jour. Lin. Soc.** **35**: 169-184.
- THORPE, J.P. 1983. Enzime variations, genetic distance and evolutionary divergencce in relation to levels of taxonomic seoaration, p. 131-152. *In*: **Protein polymorphism: Adaptative and taxonomic significance**. Systematic Association.
- VERDUIN, A. 1986. On the systematics of some recent *Rissoa*. **Basteria** **50**: 13-24.
- VERMEIJ, G.J. 1982. Environmental change and evolutionary history of the periwinkle (*Littorina littorea*) in North America. **Evolution** **36**: 561-580.
- VERMEIJ, G.J. & J.W. PORTER. 1971. Some characteristics of the dominant intertidal molluscs from rocky shores in Pernambuco, Brazil. **Bull. Mar. Sci.** **21** (2): 440-454.
- WARD, R.D. 1990. Biochemical genetic variation in the genus *Littorina* (Prosobranchia: Mollusca). **Hydrobiologia** **193**: 53-69.
- WARD, R.D. & T. WARWICK. 1980. Genetic diferentiation in the molluscan species *Littorina rudis* and *Littorina arcana* (Prosobranchia: Littorinidae). **Biol. Jour. Lin. Soc.** **14**: 417-428.
- WARWICK, R.M. & K.R. CLARKE. 1991. A comparison of some methods for analysing changes in benthic community structure. **Jour. Mar. Biol. Ass. U.K.** **71**: 225-244.