

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E DO MUCURI

Programa de Pós Graduação *Stricto sensu* em Biologia Animal

Davi José Araújo de Lima

Rodrigo Cesar Marques

**VARIAÇÕES MORFOMÉTRICAS DE *Donax* LINNAEUS, 1758 (BIVALVIA: DONACIDAE) DO
ATLÂNTICO OCIDENTAL: É possível reconhecer a espécie utilizando a morfometria
geométrica?**

Diamantina – MG

2024

Davi José Araújo de Lima

**VARIAÇÕES MORFOMÉTRICAS DE *Donax* LINNAEUS, 1758 (BIVALVIA: DONACIDAE) DO
ATLÂNTICO OCIDENTAL: É possível reconhecer a espécie utilizando a morfometria
geométrica?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação
Stricto Sensu em Biologia Animal da Universidade Federal
dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Rodrigo Cesar Marques

Diamantina – MG

2024

Davi José Araújo de Lima

**VARIAÇÕES MORFOMÉTRICAS DE *Donax* LINNAEUS, 1758 (BIVALVIA: DONACIDAE) DO
ATLÂNTICO OCIDENTAL: É possível reconhecer a espécie utilizando a morfometria
geométrica?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação
Stricto Sensu em Biologia Animal da Universidade Federal
dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Cesar Marques

Data de Aprovação ____/____/____

Profa. Dra. Eliane Pintor de Arruda
Departamento de Biologia – UFSCar

Prof. Dr. Thiago Santos
Direção e administração, Programa de Pós-graduação em Biologia Animal – UFVJM

Prof. Dr. Rodrigo Cesar Marques
Coordenador do curso de Ciências Biológicas UFVJM

Diamantina – MG

AGRADECIMENTOS

Expresso minha profunda gratidão ao meu povo Tremembé da aldeia de Camundongo em Itarema – CE, pelo reconhecimento como pessoa originária e parte integrante dessa comunidade.

À minha mãe/avó Tereza Andrade do Nascimento, pelo apoio contínuo e pelos esforços dedicados a mim até este momento. Seu incentivo na vida acadêmica, mesmo diante do desconhecimento desse mundo desafiador, foi inestimável.

Ao meu pai/avô falecido, Raimundo Nonato de Araújo, cuja orientação e encorajamento durante sua vida foram fundamentais para minha jornada acadêmica. Seu exemplo de superação das dificuldades inspira minha eterna gratidão.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro concedido a este trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo Cesar Marques, pela orientação no desenvolvimento deste trabalho. Seus conhecimentos e sua disponibilidade foram essenciais para a composição desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Thiago Santos e a toda a equipe do Laboratório de Sistemática e Ecologia, pelos conselhos valiosos, apoio contínuo e ajuda prestada ao longo deste projeto.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, pela estrutura proporcionada, pelo esclarecimento de dúvidas e pelo suporte constante. Aos demais professores do programa, sou grato pelos conhecimentos transmitidos.

Ao meu parceiro, Sérgio Ricardo Retroz, pelo estímulo e apoio para que eu continuasse no caminho acadêmico, especialmente nos momentos de fraqueza.

Aos meus amigos, que estiveram presentes nesta jornada, e àqueles que ofereceram apoio durante este período, expresso meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

O gênero *Donax*, composto por cerca de 80 espécies de moluscos na superfamília Tellinoidea, habita vários ambientes de praias arenosas, excluindo regiões polares. Recentemente, a malacologia concentrou-se no uso da morfometria geométrica para encontrar caracteres diagnósticos. Neste estudo utilizamos caracteres discretos conchiliológicos e contínuos com técnicas de morfometria geométrica em seis espécies de *Donax* do Atlântico Ocidental para tentar reconhecer caracteres diagnósticos. As análises de componente principal e variância canônica revelaram *Donax hanleyanus*, separado de outras espécies do Atlântico Ocidental - enquanto *D. variabilis*, *D. gemmula*, *D. texasianus*, *D. striatus* e *D. denticulatus* estão sobrepostos. A validação cruzada apoiou a identificação precisa de *D. hanleyanus* e *D. gemmula*, com menor precisão para outras espécies. As análises de tamanho indicaram variações nas classes de tamanho entre as espécies, sendo *D. gemmula* com menor tamanho e *D. hanleyanus* as maiores. A dificuldade em reconhecer um padrão claro de diferenciação morfométrica em *Donax* pode ser atribuída a fatores ambientais e filogenéticos.

Palavra chave: Donaciforme. Landmarks. Outliers. Sernambi. Taxonomia.

ABSTRACT

The genus *Donax*, comprising approximately 80 species of mollusks in the superfamily Tellinoidea, inhabits various sandy beach environments, excluding polar regions. Recently, malacology has focused on achieving taxonomically valid morphological understanding, employing geometric morphometrics. In this study, geometric morphometric techniques were applied to six species of *Donax* from the Western Atlantic. Through the use of markers and measurements such as landmarks and semilandmarks, morphological variations in shells were described. Comparative analyses revealed differences among species, particularly in the posterior aperture of the shell and the position of the umbo of *Donax hanleyanus*, distinguishing this species from others. Principal Component Analyses demonstrated morphological variations along different axes, while Canonical Variate Analysis confirmed the distinction of *D. hanleyanus* and, to a lesser extent, *Donax gemmula*. Cross-validation supported the precise identification of *D. hanleyanus* and *D. gemmula*, with lower accuracy for other species. Size analyses indicated variations in size classes among species. In summary, geometric morphometrics highlighted significant morphological variations among *Donax* species, underscoring its importance in understanding taxonomic relationships within this group of bivalves.

Keyword: Donaciform. Landmarks. Outliers. Sernambi. Taxonomy.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
1.1	Objetivo Geral	8
1.2	Objetivos Específicos	8
2	MATERIAIS E MÉTODOS	8
2.1	Levantamento das Espécies	8
2.2	Análise Morfométrica	9
2.3	Análise dos Dados	10
3	RESULTADOS	11
3.1	Análise de Componentes Principais	11
3.2	Análise de Varáveis Canônicas	12
3.3	Validação Cruzada por Função Discriminante	12
3.4	Disparidade Morfológica	13
3.5	Regressão de Tamanho e dos Mínimos Quadrados Parciais	14
3.6	Chave de Identificação	16
4	DISCUSSÃO	17
5	CONCLUSÃO	19
	REFERÊNCIAS	20
	ANEXO	24

1. INTRODUÇÃO

Os telinóideos (Ordem Tellinoidea) diferem marcadamente de outros bivalves por serem um dos grupos de infaunadores marinhos mais profundos no substrato. Esse hábito está correlacionado a características como o desenvolvimento da extensão do sifão acoplado a um longo músculo retrator e, secundariamente, a um músculo cruciforme exclusivo (PREZANT, 1998; LAUDIEN ET AL., 2003). Dentro dos telinóideos, a família Donacidae se destaca por apresentar espécies adaptadas a habitar zonas entremarés dominadas pela instabilidade do substrato arenoso, determinada pela ação das ondas - especialmente as do gênero *Donax* (DE LA HUZ et al., 2002). Esse comportamento é caracterizado por um deslocamento ativo momentâneo dos organismos, saindo do substrato, sendo levados junto com as ondas e depois se enterrando rapidamente na zona supralitoral (ANSELL & TRUEMAN, 1973; ANSELL, 1983; PASSOS e DOMANESCHI, 2004). Por serem estritamente filtradores, os donacídeos têm grande importância para a cadeia alimentar, sendo fonte de alimento para aves, peixes, crustáceos e também para consumo humano em diversas sociedades (CARSTENSEN et al., 2009).

O gênero *Donax* Linnaeus, 1758 (*latu sensu*, seguindo Moncada et al., 2022), apresenta cerca de 80 espécies distribuídas em quase todos os ambientes de praia arenosa, exceto em águas polares (ANSELL, 1983; HUBER, 2015). Existem 8 espécies de *Donax* l.s. no Atlântico Ocidental, com três espécies exclusivas da costa norte-americana (ADAMKEWICZ & HARASEWYCH, 1996): *Donax fossor* Say, 1822, *D. variabilis* Say, 1822 e *D. texasianus* Philippi, 1847; duas espécies distribuídas desde o Caribe até a costa nordeste do Brasil (WADE, 1967; RIOS, 2009): *D. denticulatus* Linnaeus, 1758 e *D. striatus* Linnaeus, 1767; e duas espécies exclusivas da costa da América do Sul (GIL & TOMÉ, 2001; RIOS, 2009): *D. hanleyanus* Philippi, 1847, variando da costa leste brasileira até a Argentina, e *D. gemmula* Morrison, 1971, presente na costa do nordeste brasileiro até o Uruguai. Morrison (1971) também aponta que a espécie *D. vellicatus* Reeve, 1855 é exclusiva da localidade tipo no Rio Grande do Norte, porém, com referências posteriores menos confiáveis em outras regiões (BARROSO et al., 2013).

O reconhecimento histórico de espécies em *Donax* quase que necessariamente envolve caracteres conquiliológicos, uma situação comum a todos os moluscos (SIGWART & SUTTON, 2007; PONDER, 2008). Parte da definição das espécies de *Donax* está relacionada a termos muitas vezes subjetivos, vagos ou imprecisos, geralmente associados à forma do contorno da concha (WADE, 1967) ou ainda termos mais subjetivos na descrição, como "triangular", "donacíforme" ou "arredondado" (por exemplo, Stanley, (1970); Ansell, (1981); Webb, (1986); Morton, (2016). No entanto, caracteres objetivos também são utilizados, como o formato das crenulações marginais, os dentes da charneira, a transparência e a distribuição dos padrões de cor da concha. Mesmo assim, fica evidente que a subjetividade nessas interpretações tem o potencial de induzir a erros de identificação.

Assim, uma das tarefas da malacologia nas últimas décadas tem sido compreender se existem características relacionadas à forma que possam ser expressas como caracteres taxonomicamente válidos. Recentemente, abordagens utilizando morfometria geométrica baseada em pontos homólogos (marcos anatômicos ou landmarks, como ficaram conhecidos - Rohlf & Marcus, (1993); Reis, (1999)

tornaram-se uma ferramenta eficiente na quantificação de características baseadas em forma e contorno, bem como na validade taxonômica desses caracteres em um grande número de grupos de bivalves (por exemplo, COLLINS et al., 2013; FERNANDEZ-PEREZ et al., 2016; MONEVA ET AL., 2014; MARINHO & ARRUDA, 2021; MARQUES et al., 2022). Recentemente, essas ferramentas também começaram a ser aplicadas às espécies de *Donax* (SIGNORELLI & PRINTRAKOON, 2020; PRINTRAKOON et al., 2022).

1.1 Objetivos Geral

Neste trabalho, utilizamos técnicas de morfometria geométrica baseadas em marcos anatômicos (landmarks) e curvas (semilandmarks), bem como a delimitação de caracteres conchiliológicos discretos em seis espécies de *Donax* do Atlântico Ocidental, abrangendo desde a Flórida até a Argentina, com o objetivo de determinar:

1.2 Objetivos Específicos

- 1) Se existem diferenças morfológicas entre as espécies e ao longo das regiões;
- 2) Quais diferenças estão relacionadas a essas espécies e como poderiam ser utilizadas como características diagnósticas específicas;
- 3) Quantificar diferenças gerais utilizando o conceito de disparidade morfológica;
- 4) Comparar se dados discretos e contínuos (ou seja, morfométricos) podem ser utilizados como identificadores taxonômicos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Levantamentos das Espécies

Utilizamos, para este trabalho, espécimes das coleções biológicas do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZSP) e da Academia de Ciências Naturais da Filadélfia (ANSP). Seleccionamos seis espécies de *Donax* que ocorrem desde a Flórida até a Argentina (Figura 1, A-R): *Donax variabilis*, *D. texasianus*, *D. striatus*, *D. denticulatus*, *D. hanleyanus* e *D. gemmula*. Na ausência de holótipos ou séries-tipo, utilizamos espécimes da localidade-tipo.

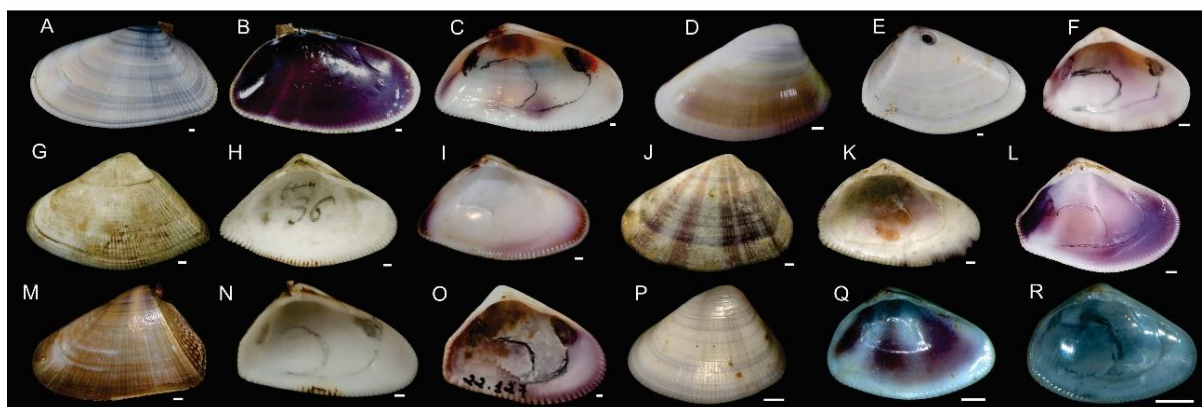


Figura 1. Exemplo de espécimes utilizadas aqui. A-C: *Donax variabilis*; D-F: *D. texasianus*; G-I: *D. striatus*; J-L: *D. denticulatus*; M-O: *D. hanleyanus*; P-R: *D. gemmula*

Analizamos um total de 441 exemplares de procedência registrada de todo o Atlântico Ocidental. A distribuição por espécie foi a seguinte: 207 indivíduos de *D. hanleyanus*; *D. gemmula*, com 74 indivíduos; *D. variabilis*, representada por 49 indivíduos; *D. texasianus*, com 9 indivíduos; *D. striatus*, com 41 indivíduos; e, por fim, *D. denticulatus*, totalizando 66 indivíduos.

2.2 Análise Morfométrica

Para a morfometria geométrica, foram selecionadas as maiores valvas que não apresentavam injúrias em suas margens, evitando assim efeitos alométricos e vieses de análise. As imagens foram capturadas a partir da superfície interna das valvas, com apoio sob lupa estereomicroscópica. Como padrão, a orientação das valvas esquerdas foi utilizada de modo que as valvas direitas fossem espelhadas. As marcações e medições foram realizadas no software TPS Dig. Os landmarks foram escolhidos com base no fácil reconhecimento entre esses pontos em diversos grupos de bivalves (como exemplo, o umbo) ou em regiões relacionadas a características anatômicas internas (como a saída dos sifões). Os semilandmarks foram escolhidos com base em pontos equidistribuídos entre os landmarks, aproximando-se do contorno geral da concha. Dessa forma, foram selecionados 10 landmarks (LM) no contorno e nas cicatrizes paliais e adutoras, e 27 semilandmarks igualmente espaçados ao longo da margem da concha, sem deslizamento (*sliding*, Tabela 1; Figura 2). Foram consideradas as seguintes variáveis (classificadores) iniciais: (A) espécie; (B) regiões (estados, províncias e países); (C) valva esquerda e direita. Como não foram observadas diferenças entre regiões nem entre valvas esquerdas e direitas, considerou-se apenas a variável espécie.

Tabela 1. Landmarks e suas respectivas descrições por pontos.

LANDMARKS	HOMOLOGIA
1	Umbo da concha (Acima dos dentes cardinais)
2	Ponto mais anterior da margem lateral
3	Ponto médio entre os pontos 2 e 4 na margem lateral inferior anterior
4	Ponto mais ventral da margem

5	Margem lateral posterior inferior (equivalente à porção ventral da abertura sifonal)
6	Margem lateral posterior (equivalente à porção dorsal da abertura sifonal)
7	Ponto de contato da cicatriz do músculo adutor posterior e cicatriz do seio palial posterior
8	Extremidade anterior do seio palial
9	Ponto de contato da cicatriz do músculo adutor anterior e da Cicatriz da linha palial anterior
10	Extremidade posterior da linha palial (aproximadamente acima das cicatrizes do músculo cruciforme)

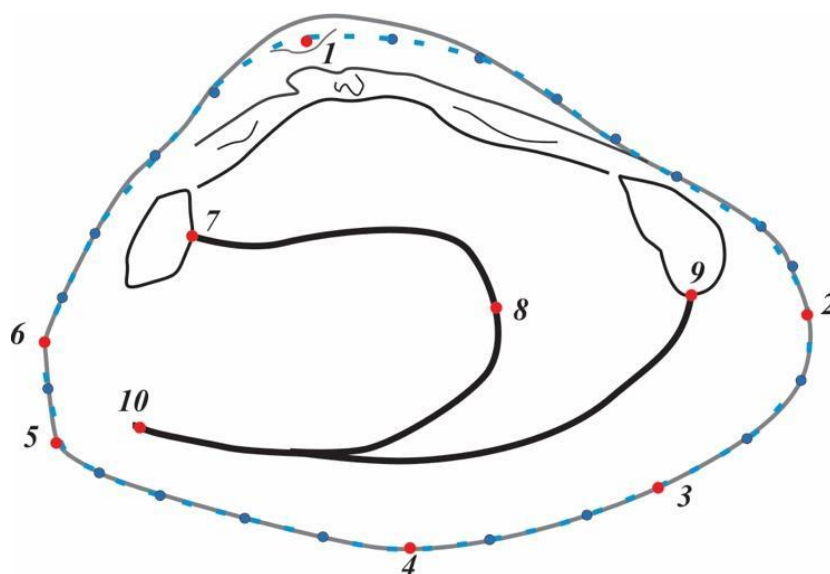


Figura 2. Pontos homólogos (*landmarks*) em vermelho distribuídos sobre a valva em seguida na margem da concha as curvas (*semilandmarks*) representado por pontos em azul escuro compondo o contorno na margem da concha.

2.3 Análise dos Dados

Para a obtenção dos dados, foram realizadas análises comparativas utilizando apenas os 10 landmarks no MorphoJ e posterior análise com marcos e semilandmarks no ambiente R Studio. A sequência de análise foi a seguinte: (A) alinhamento de landmarks e semilandmarks pela Análise Generalizada de Procrustes, resultando em uma matriz de covariância; (B) retirada de outliers; (C) Análise de Componentes Principais (PCA); (D) Análise de Variação Canônica (CVA); (E) Classificação e teste de diferenças entre variáveis utilizando função discriminante; (F) disparidade morfológica entre espécies; (G) testar diferenças de modularidade e se partes de marcos anatômicos formam complexos morfológicos via regressão de quadrados mínimos parciais (PLS). As análises realizadas no ambiente R Studio utilizaram os pacotes Geomorph para as análises A, B, C, D e G; já para E e F, foram utilizados os pacotes Geomorph e Morpho em conjunto.

Para a realização de uma chave taxonômica, amostramos caracteres conquiliológicos objetivamente diferentes, que não apresentam sobreposição, utilizando uma matriz de dados taxon-caracteres no programa Mesquite, o que resultou na produção de uma árvore filogenética inicial simples

e dicotômica, posteriormente visualizada no programa Winclada. Foram considerados como caracteres discretos aqueles que possuem reconhecimento objetivo quanto à forma (por exemplo, reto/concavo) e tamanho, sem sobreposição em sua métrica, considerando ausência ou presença total. Estes caracteres foram levados em consideração somente se os estados ocorrerem em todos os indivíduos dentro da mesma espécie.

3. RESULTADOS

3.1 Análise de Componentes Principais

O primeiro componente principal separa relativamente bem *D. hanleyanus* das demais espécies, que se apresentam sobrepostas no morfoespaço (Figura 3). A sobreposição é total nos demais componentes principais. Os componentes principais PC1, PC2 e PC3 explicam 56,89% de toda a variação. O eixo de variação morfológica foi representado como um morfoespaço com os três primeiros componentes principais (Figura 3 A). A forma média (Figura 3 B) parece ser mais próxima de *D. gemmula*. O PC1 (30.53%) demonstrou uma forte correlação com o tamanho da região da margem posterior (LM 5,6) e em relação à abertura dos sífoes e à posição do umbo (LM 1). Na espécie *D. hanleyanus*, observou-se uma abertura posterior maior (LM 5,6) e um umbo (LM 1) posicionado mais posteriormente do que nas outras espécies analisadas. O alongamento da concha está contido tanto no PC2 (16.33%) quanto no PC3 (10.03%) (Figura 3 C).

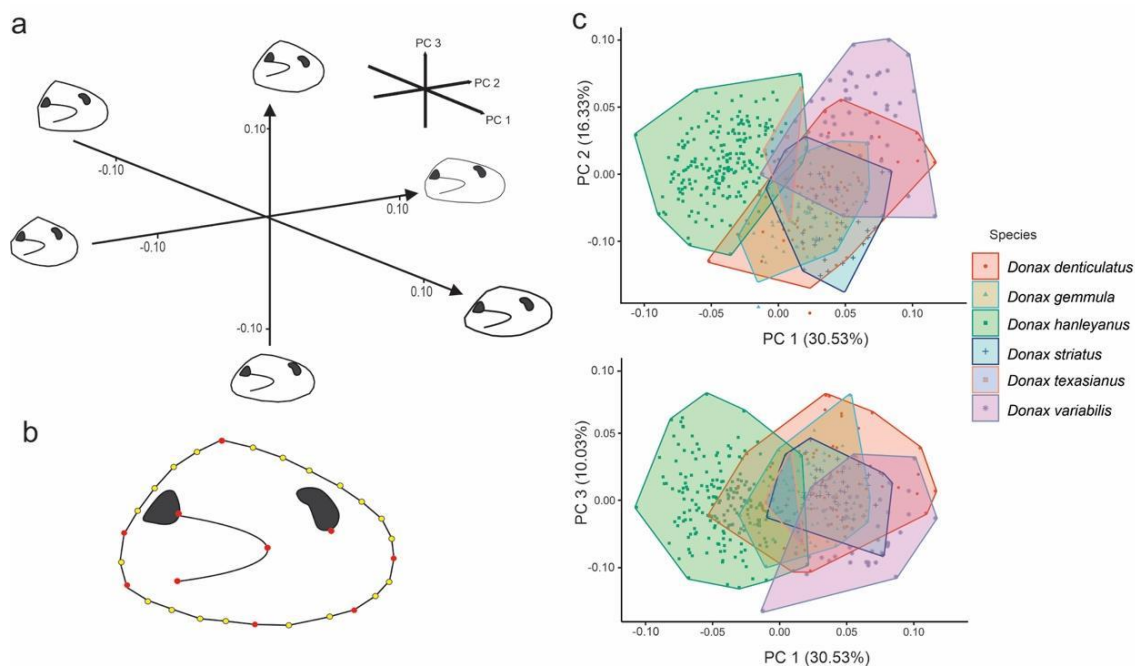


Figura 3. Morfoespaço das espécies de *Donax*, dado pela relação dos principais componentes principais: a) Representação dos eixos de variação das formas morfológicas obtidos por meio da análise de componentes principais PC1, PC2 e PC3; b) Configuração da forma média com os landmarks (Pontos vermelhos) e

semilandmarks (Pontos em amarelo); c) Distribuição dos três primeiros componentes principais com as quantidades relativas de variância explicada de cada componente entre parênteses.

3.2 Análise de Variáveis Canônica

A análise canônica apresentou cinco variáveis, sendo que os três primeiros eixos canônicos respondem por cerca de 93% de toda a variação (CV1, CV2 e CV3, Figura 4). A distribuição das variáveis canônicas revelou que a espécie *D. hanleyanus* exibe uma distinta separação em comparação com as demais espécies, explicada principalmente pela primeira variável canônica (CV1, 57.76%), assim como pelo PC1, relacionado à parte posterior e ao posicionamento do umbo. O CV2 (22.76%) mostra uma tendência à distinção de *D. gemmula* dos demais donacídeos, embora apresente uma pequena sobreposição com *D. striatus*. O CV3 (12.75%) distingue as formas mais "triangulares" das formas mais quadradas – dado pelo alongamento das regiões ventrais (LM 5,3,2) e do umbo (LM 1) – como demonstrado pelas formas menos alongadas em *D. striatus* e mais alongadas em *D. variabilis*. No entanto, a sobreposição é muito alta entre todas as espécies.

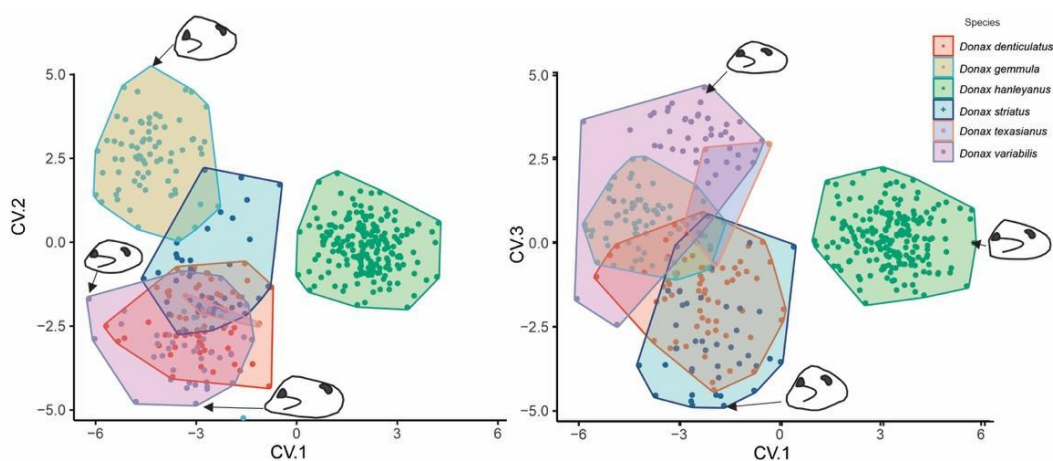


Figura 4. Variação dos três principais eixos de variância canônica das espécies de *Donax* (CV.1, CV.2 e CV.3), ilustrando as formas extremas baseadas em espécimes analisados.

3.3 Validação Cruzada por Função Discriminante

A validação cruzada classificou corretamente a espécie *D. hanleyanus* como diferente das demais, apresentando um total de 100% em sua classificação (Tabela 2). A espécie *D. gemmula* apresenta 95,94% de classificação correta. Já as espécies *D. denticulatus*, *D. striatus* e *D. variabilis* apresentaram uma porcentagem de classificação inferior a 95% (Tabela 2). A distância de Mahalanobis

mostrou que a espécie *D. hanleyanus* apresenta a maior distância entre todas as espécies, enquanto *D. striatus* e *D. denticulatus* apresentam a maior proximidade (Figura 5).

Tabela 2. Classificação - Validação cruzada por função discriminante das espécies: Na diagonal (% em negrito) temos o valor de classificação entre as espécies amostradas; Na região diagonal superior, as distâncias Euclidianas; Já na diagonal inferior, as distâncias de Mahalanobis.

VALIDAÇÃO CRUZADA POR FUNÇÃO DISCRIMINANTE E DISTÂNCIA ENTRE OS CENTRÓIDES						
Espécies	<i>D. denticulatus</i>	<i>D. gemmula</i>	<i>D. hanleyanus</i>	<i>D. striatus</i>	<i>D. texasianus</i>	<i>D. variabilis</i>
<i>D. denticulatus</i>	84.84%	0.04961742	0.08460958	0.04051262	0.05783365	0.07536630
<i>D. gemmula</i>	6.333868	95.94%	0.08166443	0.05885276	0.07561510	0.08914979
<i>D. hanleyanus</i>	6.488001	7.886711	100%	0.09673503	0.06528833	0.10816510
<i>D. striatus</i>	4.237890	6.115545	6.556857	80.48%	0.08257626	0.09403142
<i>D. texasianus</i>	6.038002	7.783581	7.762594	7.514892	25%	0.07363417
<i>D. variabilis</i>	5.073473	7.056997	7.370025	6.436632	6.107221	91.83%

3.4 Disparidade Morfológica

A análise da disparidade morfológica (Tabela 3), por meio da variação de Procrustes (-1/log de variação), revelou que há uma menor disparidade relativa em *D. texasianus*, seguida por *D. hanleyanus* e *D. gemmula*. A maior disparidade é encontrada em *D. variabilis*, seguida por *D. striatus* e *D. denticulatus*. No entanto, esses dados de *D. texasianus* devem ser considerados com cautela devido à menor amostragem desta espécie.

Tabela 3. Disparidade morfológica através de Procrustes sobre -1 logaritmo da variância estudada.

ESPÉCIES	VARIÂNCIA DE PROCRUSTES
<i>D. denticulatus</i>	0,47950751
<i>D. gemmula</i>	0,45429882
<i>D. hanleyanus</i>	0,45396217
<i>D. striatus</i>	0,48090235
<i>D. texasianus</i>	0,44979137
<i>D. variabilis</i>	0,50241834

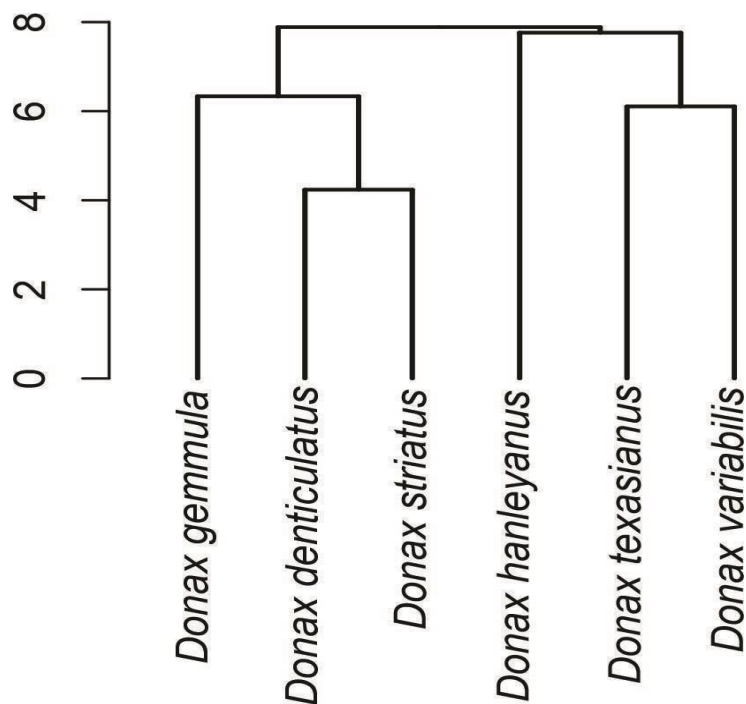


Figura 5. Dendrograma mostrando as distâncias de Mahalanobis considerando as espécies como grupo.

3.5 Regressão de Tamanho e dos Mínimos Quadrados Parciais

Para o tamanho dos indivíduos estudados, foi conduzida uma análise de regressão sobre os escores das variáveis dos organismos em relação ao logaritmo do tamanho do centroide, resultando na definição de três classes de forma determinadas pelo tamanho do centroide, o qual está relacionado ao tamanho das conchas (Figura 6). A espécie *D. gemmula* apresenta os menores espécimes, enquanto *D. striatus* e *D. variabilis* apresentam espécimes em grupos medianos e menores. Já as espécies *D. texasianus* e *D. denticulatus* apresentam espécimes medianos, e *D. hanleyanus*, por sua vez, está presente em todas as classes de tamanho, sendo a única espécie com as "maiores" conchas.

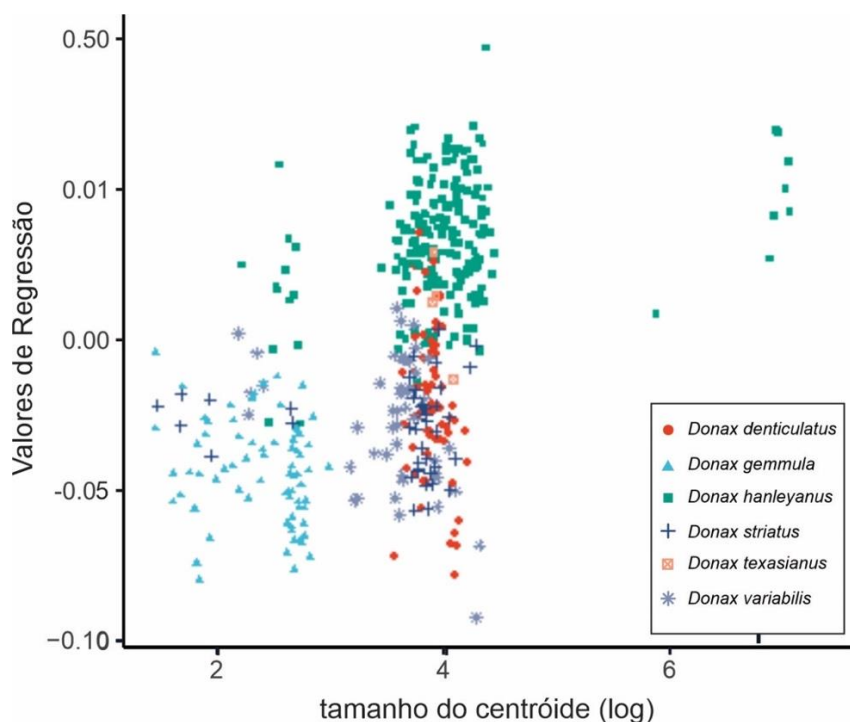


Figura 6. Dispersão dos valores de regressão (representando a variação da forma) pelo log do tamanho (tamanho do centróide) entre as espécies de *Donax*.

Embora não tenhamos encontrado evidências sólidas de modularidade entre as espécies analisadas, realizamos testes entre conjuntos de landmarks que apresentavam maior covariação conjuntamente, por meio de análise de regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS). O objetivo aqui é testar se o seio palial é um módulo que varia independentemente do restante da concha. O conjunto mais correlato é o conjunto que inclui o contorno da margem total, as marcas musculares (músculos adutores) e o seio palial ($rv = 0,293$), em comparação com apenas o seio palial e o restante ($rv = 0,209$), o que demonstra que o seio palial apresenta uma leve independência em relação à concha, mas com menor poder de separação taxonômica do que a forma da concha (representada pelo bloco "margem da concha") (Figura 7 A, B).

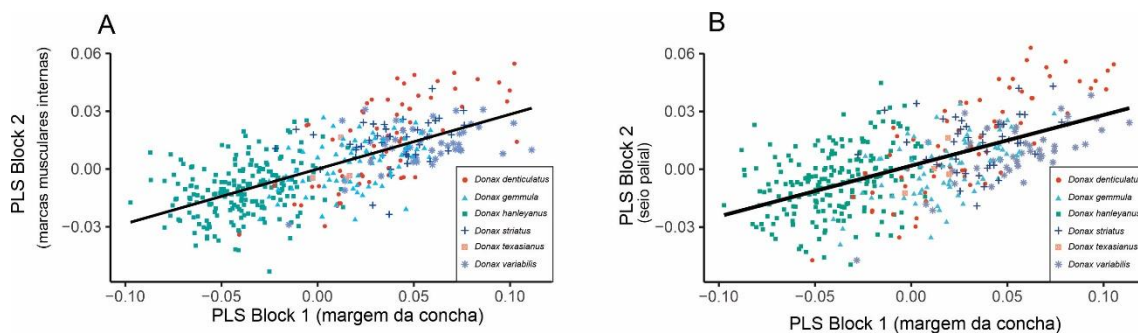


Figura 7. Comparação entre blocos de mínimos quadrados parciais (PLS Block) em duas configurações: A) entre maracas musculares (incluindo seio palial) e o contorno geral da concha e B) somente o seio palial e contorno da concha.

3.6 Chave de Identificação

Foram identificados 5 caracteres discretos específicos dos táxons aqui presentes, distribuídos em três grupos: a) ornamentação da superfície externa da concha (com dois caracteres: nódulos na superfície posterior e linhas de crescimento); b) forma geral (presença/ausência de quilha); c) charneira (posição relativa da ninfa dividida em dois caracteres: em relação ao dente cardinal e em relação à dentição lateral posterior). A chave dicotômica encontrada está abaixo:

3.6.1 Chave de identificação

- 1.a – Superfície posterior nodular (Figura 8 M) _____ *D. hanleyanus*
- 1.b – Superfície posterior não nodular _____ 2
- 2.a – Superfície não quilhada (Figura 8 P) _____ *D. gemmula*
- 2.b – Superfície quilhada com angulação (Figura 8 M) _____ 3
- 3.a – Ninfa dorsal ao dente cardinal (Figura 8 A) _____ 4
- 3.b – Ninfa por posteriormente ao dente cardinal (Figura 8 B-C) _____ 5
- 4.a – Linhas de crescimento visíveis, pontuada (Figura 9 A) _____ *D. denticulatus*
- 4.b – Linhas de crescimento não perceptíveis (Figura 9 B) _____ *D. striatus*
- 5.a – Ninfa levemente sobreposta ao dente posterior (Figura 8 B) _____ *D. variabilis*
- 5.b – Ninfa separada do dente posterior (Figura 8 C) _____ *D. texasianus*



Figura 8. Margem da dentição da charneira nas espécies *D. hanleyanus* (A), *D. variabilis* (B) e *D. texasianus* (C). representa o dente cardinal bífido (c), ligamento externo (l), ninfa (ny) e dente lateral posterior (p) respectivamente. Escala = 1 mm.

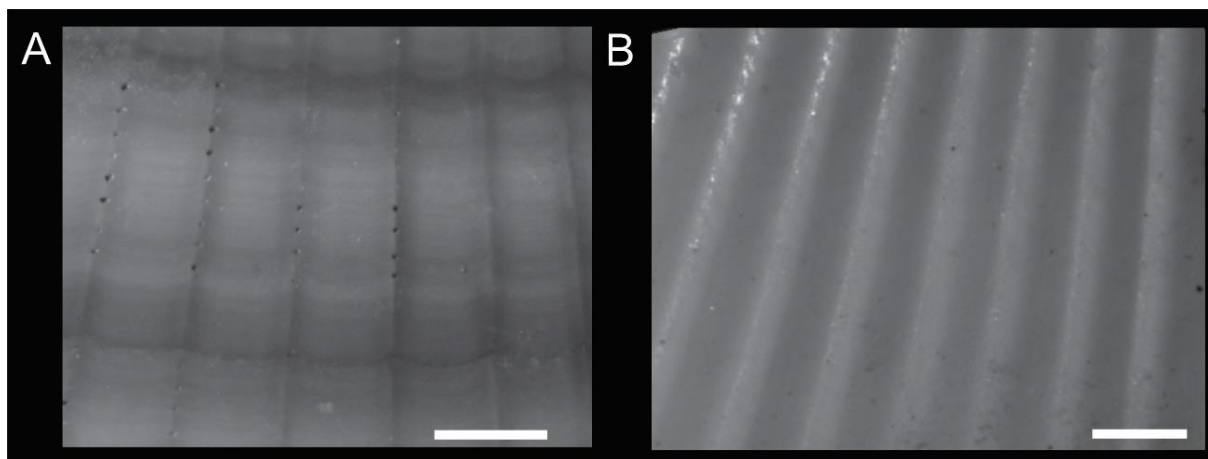


Figura 9. Região externa da concha composta por costelas onde A representa costelas com linhas de crescimento visível com pontuações em *D. denticulatus* e B costelas sem linhas de crescimento visíveis em *D. striatus*. Escala = 0.4 mm.

4. DISCUSSÃO

A busca por caracteres universais e reconhecíveis tem sido um dos principais objetivos das ciências taxonômicas. Durante os anos 80 e 90, a busca por discretização de caracteres contínuos era um dos principais objetivos na taxonomia clássica e na sistemática filogenética - haja visto que caracteres discretos eram preferenciais em matrizes de caracteres - ou se caracteres eram contínuos, a discussão era como discretizar, tornando- um caráter objetivo como diagnósticos de clados e grupos taxonômicos (SEBERG, 1984; BAUM, 1988; THIELE, 1993; WIENS, 2004). A partir do início deste século, os dados morfométricos baseados em landmarks, devido ao avanço de algoritmos – bem como sua popularização – passaram a ser mais utilizados como descritores ou diagnósticos na sistemática (veja, por exemplo, MITTEROECKER & GUNZ, 2009), bem como na sistemática filogenética (CATALANO et al., 2010). Um dos pontos é que, de fato, existem diferenças conchiliológicas discretas e contínuas para todas as espécies aqui vistas. No entanto, há ressalvas a serem consideradas. Por exemplo, embora todas as espécies apresentem características discretas, deve-se considerar o número reduzido de diferenças encontradas (5 caracteres em 6 espécies), que pode tornar o reconhecimento e caracteres diagnósticos mais complexo com adição de novos taxons. Algumas características tradicionalmente diagnósticas também se mostraram falhas. Por exemplo, a forma posterior "obtusa" referente a *D. striatus* comum em várias descrições desde o século XIX (veja TURTON, 1802) é caracterizada pelo tamanho da abertura palial. No entanto, a análise morfométrica aqui demonstrou que a margem palial apresenta variação comum a todas as espécies, com baixa caracterização diagnóstica para *D. striatus*. Por outro lado, a punctuação ao longo da superfície dorsal como diagnóstica de *D. denticulatus*, já apontada por Wade (1969), mostrou-se válida.

Os dados contínuos, por outro lado, evidenciaram uma complexidade maior no diagnóstico destas espécies. A análise dos dados morfométricos, embora haja alguma sobreposição, apresenta a distinção de *D. hanleyanus* das demais espécies do Atlântico Ocidental. As demais espécies exibem sobreposição no morfoespaço, formando um grande agrupamento, e dentro desse agrupamento,

destacam-se os conjuntos *D. striatus* e *D. denticulatus*, bem como *D. texasianus* e *D. variabilis*. Embora *D. gemmula* tenha dificuldade em se separar desse agrupamento, se destaca das demais por possuir um tamanho menor de fato.

A complexidade na diferenciação morfológica do gênero *Donax* aqui observada tem sido um constante desafio na morfometria comparativa convencional com outros grupos de bivalves, onde em grande parte a sobreposição é comum (e.g. MORAIS et al., 2014; PRINTRAKOON et al., 2022; MARQUES et al., 2022). Alguns pontos podem justificar esta dificuldade na separação destas espécies usando apenas a forma. Sabe-se que entre os bivalves infaunais há uma forte associação entre o tipo de substrato ocupado e a forma e ornamentação dos bivalves (STANLEY, 1971; VERMEIJ, 1973; NOLAN, 1991; TRUSSELL, 2000; BAYNE, 2004; SOUSA et al., 2007; INOUE et al., 2009). Embora seja reconhecido que formas epifaunais apresentem uma grande plasticidade fenotípica entre os bivalves (por exemplo, HUNTLEY et al., 2018), recentemente se reconhece que infaunais também apresentam alta plasticidade fenotípica (por exemplo, COPE & LINSE, 2006; HARPER et al., 2012; REED et al., 2013; GHOZZI et al., 2022). Embora seja difícil distinguir quais são as variáveis preponderantes nesta plasticidade, alguns dados apontam o conjunto substrato-temperatura-região.

Por exemplo, alguns estudos indicam que o conjunto região-sedimento parece ter um efeito maior na forma, por compartilhar habitats e requisitos físicos mais semelhantes (por exemplo, REED et al., 2013; WU et al., 2022). Já em escalas maiores, somente a temperatura parece ter um efeito no tamanho geral (por exemplo, BERKE et al., 2013). Outros estudos apontam que o tamanho parece estar mais associado a questões filogenéticas e de desenvolvimento do que à produtividade primária local (SAULSBURY et al., 2019). Cabe lembrar que nos donacídeos, a exposição temporária fora do sedimento é uma dimensão que deve ser considerada. Por exemplo, Soares et al. (1998) encontraram variações morfológicas na forma de *Donax serra* relacionadas ao regime dinâmico praiar. As espécies aqui analisadas foram encontradas distribuídas ao longo do Atlântico Ocidental, onde diversas condições ambientais como aporte sedimentar, temperatura, profundidade e salinidade variam, o que explica os valores de disparidade. Como exemplo, *D. hanleyanus* ocorre na costa leste-sul brasileira, dominada por correntes mais quentes e um maior aporte sedimentar, até a costa argentina, dominada por correntes mais frias e menor aporte sedimentar (HERRMANN et al., 2009).

Em segundo lugar, é importante levar em conta a questão das relações filogenéticas entre os donacídeos aqui presentes. Os dados genéticos demonstram que há proximidade entre as espécies que formam o agrupamento principal aqui detalhado. Utilizando marcadores de RAPD (ADAMKEWICZ & HARASEWYCH, 1996), apontavam *D. striatus* e *D. denticulatus* como próximas filogeneticamente, corroborando nossos dados morfométricos. Moncada et al. (2022) também aponta *D. hanleyanus* como a mais distante filogeneticamente dos demais *Donax* do Atlântico Ocidental, tendo como grupo irmão *D. californicus* Conrad, 1837, do Pacífico Oriental, o que explicaria a forte distinção morfométrica aqui encontrada. Evidentemente, a questão filogenética dos donacídeos ainda é uma questão em aberto. Para isso, novas abordagens genéticas sobre os telinoídeos têm sido uma grande estratégia para obtermos relações filogenéticas e, através de outras ampliações amostrais e completas, poderemos tornar possível as soluções para resolver tais questões em sistemática destes indivíduos (BOORE, 1999; CARSTENSEN et al., 2009; FERNÁNDEZ-PÉREZ et al., 2017).

Além de dados moleculares, outros dados podem ser levados em conta, como os dados anatômicos de partes moles e ultraestrutura. Por exemplo, Introini et al. (2013) destacaram notáveis disparidades nos espermatozoides de *D. hanleyanus* e *D. gemmula*, especialmente nas características relacionadas ao acrossomo e ao padrão de condensação da cromatina. O espermatozoide de *D. hanleyanus* revelou um núcleo com cromatina granular em formato de corda, envolto por uma vesícula acrossomal longa e cônica que se estendia para além da fossa nuclear anterior. Em contraste, o espermatozoide de *D. gemmula* exibiu cromatina compacta, com seu acrossomo parcialmente inserido na fossa nuclear anterior, apresentando uma ponta em forma de bolha.

Wade (1968) sugere que *D. striatus* apresenta ancestralidade comum com *D. denticulatus* devido à distribuição simpátrica. O mesmo autor também aponta que o ceco póstero-dorsal de *D. striatus* resultou em um processo lento de desaparecimento em *D. denticulatus*. Dessa forma, a preferência pelas localidades e suas condições específicas estão fortemente relacionadas aos fatores abióticos e às limitações do ambiente. Essas relações influenciam diretamente a morfologia e os comportamentos dos donacídeos. Por exemplo, a energia das ondas, a composição e o tipo dos sedimentos, a tolerância a temperaturas extremas e a exposição ao ar são fatores que podem explicar a separação de cada nicho ecológico e os comportamentos migratórios em regiões entre marés (ANSELL, 1981; MANATRINON et al., 2012).

5. CONCLUSÃO

As análises morfológicas com dados contínuos e as demais análises discriminantes aqui apresentadas mostraram-se úteis na separação e identificação de *Donax hanleyanus* das demais espécies, bem como revelaram maior variação em classes de tamanho em comparação com as demais espécies, o que contribui para sua distinção, corroborando os resultados dos autovalores dos scores. Ao mesmo tempo, *Donax gemmula* mostrou uma tendência de separação das outras espécies, com os valores de classificação próximos aos de *D. hanleyanus*. Já outras espécies apresentaram diferenças dentro do próprio grupo, como *D. variabilis*, que demonstrou alta variação morfológica em sua concha, enquanto as análises de distância de Mahalanobis sugerem a formação de grupos próximos entre *D. denticulatus* e *D. striatus*, com *D. gemmula* como irmão deste grupo. Quanto às possíveis variações morfológicas independentes observadas neste trabalho, vale também destacar que as marcas musculares juntamente com o seio palial apresentam certa independência em relação à forma da concha, embora sua capacidade de separação taxonômica seja inferior à forma da concha.

No entanto, a importância da investigação de caracteres discretos mostrou-se útil na utilização conjunta com dados contínuos. Dessa forma, para estudos futuros em identificação taxonômica em bivalves, defendemos a utilização do conjunto de dados contínuos e discretos. Essa abordagem sistemática contribui não apenas para a precisão taxonômica, mas também para a compreensão mais profunda da biodiversidade marinha, auxiliando na preservação e no manejo adequado de bivalves. Também destacamos a necessidade do uso dessas ferramentas para a melhoria da capacidade de identificação de espécies de *Donax*, proporcionando benefícios significativos para a pesquisa científica e a conservação dos ecossistemas marinhos no Atlântico Ocidental.

REFERENCIA

- ADAMKEWICZ, S. L., AND HARASEWYCH, M. G. Systematics and biogeography of the genus *Donax* (Bivalvia: Donacidae) in eastern North America. **American Malacological Bulletin**, v. 13, p. 97–103, 1996.
- ANSELL, A. D. functional morphology and feeding of *Donax serra* roöding and *Donax sordidus* hanley (bivalvia: donacidae). **Journal of Molluscan Studies**, v. 47, p. 59–72, 1981.
- ANSELL, A. D. The Biology of the Genus *Donax*. In: McLachlan A, Erasmus T (Eds), *Sandy Beaches as Ecosystems*. Springer Netherlands, Dordrecht, p. 607–635, 1983.
- ANSELL, A. D., TRUEMAN, E. R. The energy cost of migration of the bivalve *Donax* on tropical sandy beaches. **Marine & Freshwater Behaviour & Phy**, v. 2, n. 1–4, p. 21–32, 1973.
- BARROSO, C. X., RABAY, S. G., PASSOS, F. D., MATTHEWS-CASCON, H. An extended geographical distribution of *Donax gemmula* Morrison, 1971 (Bivalvia: Donacidae): new record from the Brazilian Northeastern coast. **Check List**, v. 9, p. 1087–1090, 2013.
- BAUM, B. R. A simple procedure for establishing discrete characters from measurement data, applicable to cladistics. **Taxon**, v. 37, p. 63–70, 1988.
- BAYNE, B. L. Phenotypic flexibility and physiological tradeoffs in the feeding and growth of marine bivalve molluscs. **Integrative and Comparative Biology**, v. 44, n. 6, p. 425–432, 2004.
- BERKE, S. K., JABLONSKI, D., KRUG, A. Z., ROY, K., TOMASOVYCH, A. Beyond Bergmann's rule: size–latitude relationships in marine Bivalvia world-wide. **Global Ecology and Biogeography**, v. 22, p. 173–183, 2013.
- BOORE, J. L. Animal mitochondrial genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 27, p. 1767–1780, 1999.
- CARSTENSEN, D., LAUDIEN, J., LEESE, F., ARNTZ, W., HELD, C. 2009. Genetic variability, shell and sperm morphology suggest that the surf clams *Donax marincovichi* and *Donax obesulus* are one species. **Journal of Molluscan Studies**, v. 75, p. 381–390, 2009.
- CATALANO, S. A., GOLOBOFF, P. A., & GIANNINI, N. P. Phylogenetic morphometrics In: the use of landmark data in a phylogenetic framework. **Cladistics**, v. 26, n. 5, p. 539–549, 2010.
- COLLINS, K. S., CRAMPTON, J. S., HANNAH, M. 2013. Identification and independence: morphometrics of Cenozoic New Zealand *Spissatella* and *Eucrassatella* (Bivalvia, Crassatellidae). **Paleobiology**, v. 39, n. 4, p. 525–537, 2013.
- COPE, T., LINSE, K. Morphological differences in *Lissarca notorcadensis* Melvill and Standen, 1907 from the Scotia, Weddell and Ross Seas. Deep Sea Research Part II: **Topical Studies in Oceanography**, v. 53, n. 8-10, p. 903–911, 2006.
- DE LA HUZ, R., LASTRA, M., & LÓPEZ, J. The influence of sediment grain size on burrowing, growth and metabolism of *Donax trunculus* (Bivalvia: Donacidae). **Journal of Sea Research**, v. 47, n. 2, p. 85–95, 2002.
- FERNÁNDEZ-PÉREZ, J., FROUFE, E., NANTÓN, A., GASPAR, M. B., MÉNDEZ, J. Genetic diversity and population genetic analysis of *Donax vittatus* (Mollusca: Bivalvia) and phylogeny of the genus with mitochondrial and nuclear markers. Estuarine, **Coastal and Shelf Science**, v. 197, p. 126–135, 2017.
- GHOZZI, K., DHIAB, R. B., CHALLOUF, R., & BRADAI, M. N. Morphometric Variation among Four Local *Ruditapes decussatus* Populations in Monastir Bay (Eastern Coast, Tunisia). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, p. virtual Código <e22210235>, 2022.

GIL, G.M., TOMÉ, J.W. Descrição do ciclo reprodutivo de *Donax hanleyanus* (Bivalvia, Donacidae) no sul do Brasil. *Iheringia. Série Zoológica*, v. 94, n. 3, p. 271–276, 2004.

HARPER, E. M., CLARK, M. S., HOFFMAN, J. I., PHILIPP, E. E., PECK, L. S., & MORLEY, S. A. Iceberg scour and shell damage in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*, **PLoS One** v. 7, n. 9, p. virtual Código <e46341>, 2012.

HERRMANN, M., CARSTENSEN, D., FISCHER, S., LAUDIEN, J., PENCHASZADEH, P. E., ARNTZ, W. E. Population structure, growth, and production of the wedge clam *Donax hanleyanus* (Bivalvia: Donacidae) from Northern Argentinean beaches. **Journal of Shellfish Research**, v. 28, n. 3, p. 511–526, 2009.

HUBER M. Compendium of Bivalves 2. A Full-Color Guide to the Remaining Seven Families. A Systematic Listing of 8'500 Bivalve Species and 10'500 Synonyms, *ConchBooks*, Hackenheim, 2015.

HUNTLEY, J. W., SCHIFFBAUER, J. D., AVILA, T. D., BROCE, J. S. Ecophenotypy, temporal and spatial fidelity, functional morphology, and physiological trade-offs among intertidal bivalves. **Paleobiology**, v. 44, n. 3, p. 530–545, 2018.

INOUE, K., MCQUEEN, A. L., HARRIS J. L., BERG, D. J. Molecular phylogenetics and morphological variation reveal recent speciation in freshwater mussels of the genera *Arcidens* and *Arkansia* (Bivalvia: Unionidae), **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 112, p. 535–545, 2014.

INTROINI, G.O., PASSOS, F. D., RECCO-PIMENTEL, S. M. Comparative study of sperm ultrastructure of *Donax hanleyanus* and *Donax gemmula* (Bivalvia: Donacidae). **Acta Zoologica (Stockholm)**, v. 94, p. 261–266, 2013.

LAUDIEN, J., BREY, T., ARNTZ, W. E. Population structure, growth and production of the surf clam *Donax serra* (Bivalvia, Donacidae) on two Namibian sandy beaches. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 58, p. 105–115, 2003.

MANATRINON, S., THONGLOR, O. U., BOONYAPAKDEE, A. Genetic and morphological variation in three populations of *Donax* spp. in the gulf of Thailand. **Genomics and Genetics**, v. 5, p. 79–88, 2012.

MARINHO, T. A., ARRUDA, E. P. Shell-specific differentiation: how geometric morphometrics can add to knowledge of Macominae species (Tellinidae, Bivalvia). **Marine Biodiversity**, v. 51, p. 40, 2021.

MARQUES, R. C., DA SILVA, A. M., SIMONE, L. R. L. Cladistic analysis of the transisthmian genus *Eurytellina* (Bivalvia: Tellinoidea) based on morphological and morphometric data. **Organisms Diversity & Evolution**, v. 22, p. 857–891, 2022.

MITTEROECKER, P., GUNZ, P. Advances in Geometric Morphometrics. **Evolutionary Biology**, v. 36, p. 235–247, 2009.

MONCADA, E., LORD, A., SIMONE, L. R. L., ADJEI-BOATENG, D., BOUCHET, P., STRONG, E. E., BIELER, R., GIRIBET, G. Marine surf to freshwater: a molecular phylogeny of Donacidae (Bivalvia: Heterodonta). Wilson N (Ed.). **Invertebrate Systematics**, v. 36, p. 984–1001, 2022.

MONEVA, C. S. O., BAQUIANO, P. M. L., JR, J. O. B., BORLAZA, K. M. E., BURIAS, D. M. E., FLORES, K. A., FUENTES, R. E., PANCHO, A. G. E., SANCHEZ, R. R. G. Comparative morphological descriptions of interior shell patterns of the Venerid bivalves: *Meretrix lyrata*, *Mercenaria mercenaria* and *Venerupis philippinarum* using Landmark-based Geometric Morphometric Analysis, **Bioflux**, v. 7, p. 386–395, 2014.

MORAIS, P., RUFINO, M. M., REIS, J., DIAS, E., SOUSA, R. Assessing the morphological variability of *Unio delphinus* Spengler, 1783 (Bivalvia: Unionidae) using geometric morphometry. **Journal of Molluscan Studies**, v. 80, p. 17–23, 2014.

MORRISON, J. P. E. Western Atlantic *Donax*. Proceedings of the Biological Society of Washington, v. 83, p. 545–568, 1971.

MORTON, B. The biology and functional morphology of the high-energy beach dwelling *Paphies elongata* (Bivalvia: Mactroidea: Mesodesmatidae). Convergence with the surf clams (*Donax*: Tellinoidea: Donacidae). **Journal of Natural History**, v. 50, p. 2515–2545, 2016.

NOLAN, C. P. Size, shape and shell morphology in the Antarctic limpet *Nacella concinna* at Signy Island, South Orkney Islands. **Journal of Molluscan Studies**, v. 57, n. 2, p. 225–238, 1991.

PASSOS, F. D., DOMANESCHI, O. Biologia e anatomia funcional de *Donax gemmula* Morrison (Bivalvia, Donacidae) do litoral de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, p. 1017–1032, 2004.

PONDER, W. L., LINDBERG, D. R. R. Phylogeny and evolution of the mollusca. **Univ of California Press**, p. 469, 2008.

PREZANT, R. S. Mollusca: the southern synthesis. In: Subclass Paleoheterodonta, Introduction. P.L. Beesley et al, p. 289–294. 1998.

PRINTRAKOON, C., UNAJAK, S., SIGNORELLI, J. H. Identification and distribution of wedge clams (Donacidae: Bivalvia) in thailand by geometric morphometric and molecular analysis. **Zoological Studies**, v. 61, p. 82, 2022.

REED, A. J., MORRIS, J. P., LINSE, K., THATJE, S. Plasticity in shell morphology and growth among deep-sea protobranch bivalves of the genus *Yoldiella* (Yoldiidae) from contrasting Southern Ocean regions. Deep Sea Research Part I: **Oceanographic Research Papers**, v. 81, p. 14–24, 2013.

REIS, S. F. M., RABELLO, L. Princípios de morfometria geométrica, p. 189–189, 1999.

RIOS, E. C. Family donacidae flaming 1828. in: RIOS, E. C. sheashells of brazil, 2009.

ROHLF, J. F., MARCUS, L. F. A revolution morphometrics. **Trends in ecology & evolution**, v. 8, p. 129–132, 1993.

SAULSBURY, J., MOSS, D. K., IVANY, L. C., KOWALEWSKI, M., LINDBERG, D. R., GILLOOLY, J. F., HEIM, N. A., MCCLAIN, C. R., PAYNE, J. L., ROOPNARINE, P. D., SCHÖNE, B. R., GOODWIN, D., FINNEGAN, S. Evaluating the influences of temperature, primary production, and evolutionary history on bivalve growth rates. **Paleobiology**, p. 45, p. 405–420, 2019.

SOARES, A. G., CALLAHAN, R. K., & RUYCK, A. D. Microevolution and phenotypic plasticity in *Donax serra* Röding (Bivalvia: Donacidae) on high energy sandy beaches. **Journal of Molluscan Studies**, v. 64, n. 4, p. 407–421, 1998.

SEBERG, O. Taxonomy and phylogeny of the genus *Acalypha* (Euphorbiaceae) in the Galápagos Archipelago. **Nordic Journal of Botany**, v. 4, p. 159–190, 1984.

SIGNORELLI, J. H., PRINTRAKOON, C. The family Donacidae (Bivalvia: Tellinoidea) in Thai waters. **Molluscan Research**, v. 40, p. 8–35, 2020.

SIGWART, J. D., SUTTON, M. D. Deep molluscan phylogeny: synthesis of palaeontological and neontological data. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, p. 2413–2419, 2007.

SOUSA, R., FREIRE, R., RUFINO, M., MÉNDEZ, J., GASPAR, M., ANTUNES C., GUILHERMINO, L. Genetic and shell morphological variability of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in two Portuguese estuaries. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 74, p. 166–174, 2007.

STANLEY, S. M. Relation of shell form to life habits of the Bivalvia (Mollusca). **The Geological Society of America**, Boulder, Colo, p. 296, 1970.

THIELE, K. The holy grail of the perfect character: the cladistic treatment of morphometric data. **Cladistics**, v. 9, p. 275–304, 1993.

TRUSSELL, G. C. Phenotypic clines, plasticity, and morphological trade-offs in an intertidal snail. **Evolution**, v. 54, n. 1, p. 151–166, 2000.

TURTON, W. A general system of nature through the three grand kingdoms of animals, vegetables, and minerals; systematically divided into their several classes, orders, genera, species, and varieties with their habitations, manners, economy, structures, and peculiarities. Translated from Gmelin's Last Edition of the Celebrated Systema Naturae [1783-1793] by Sir Charles Linné: Amended and Enlarged by the Improvements and Discoveries of Later Naturalists and Societies, 2: Lackington, London, UK, 1802.

VERMEIJ, G. J. Morphological patterns in high-intertidal gastropods: adaptive strategies and their limitations. **Marine Biology**, v. 20, p. 319–346, 1973.

WADE, B. A. On the taxonomy, morphology, and ecology of the beach clam, *Donax striatus* Linné. **Bulletin of Marine Science**, v. 17, n. 3, p. 723–740, 1967.

WADE, B. A. Studies on the biology of the West Indian beach clam, *Donax denticulatus* Linne. 3. Functional morphology. **Bulletin of Marine Science**, v. 19, n. 2, p. 306–322, 1969.

WEBB, C. M. Post-larval development of the Tellinacean bivalves *Abra alba*, *Tellina fabula* and *Donax vittatus* (mollusca: bivalvia), with reference to the late larva. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 66, p. 749–762, 1986.

WIENS, J. J. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. **Systematic biology**, v. 53, p. 653–661, 2004.

WU, R., LIU, X., GUO, L., ZHOU, C., OUYANG, S., WU, X. DNA barcoding, multilocus phylogeny, and morphometry reveal phenotypic plasticity in the Chinese freshwater mussel *Lamprotula caveata* (Bivalvia: Unionidae). **Ecology and Evolution**, v. 12, n. 7, p. Código virtual <e9035>, 2022.

ANEXO

ARTIGO SUBMETIDO NA REVISTA MALACOLOGIA JORNAL

shortened version of the main title:

GEOMETRIC MORPHOMETRICS FOR IDENTIFYING *Donax* SPECIES IN THE WESTERN ATLANTIC

Title:

MORPHOMETRIC VARIATIONS OF *Donax* Linnaeus, 1758 (BIVALVIA: DONACIDAE) FROM WESTERN ATLANTIC: IS POSSIBLE TO RECOGNIZE THE SPECIES USING USING GEOMETRIC MORPHOMETRY?

LIMA, Davi José Araújo¹ & MARQUES, Rodrigo Cesar²

Federal University of Jequitinhonha and Mucuri Valleys (UFVJM), Diamantina, Minas Gerais, Brazil.

Email: davijoseh89@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7959-9508>¹

Email: marquesrc@yahoo.com.br; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4977-5814>²

Abstract

The genus *Donax*, comprising approximately 80 species of mollusks in the superfamily Tellinoidea, inhabits various sandy beach environments, excluding polar regions. Recently, malacology has focused on employing geometric morphometrics in search for diagnostic reliable features. In this study, we use discrete conchological and continuous characters with geometric morphometric techniques on six species of *Donax* from the Western Atlantic. We also use. The principal component and canonical variance analyses revealed *Donax hanleyanus*, separated from others Western Atlantic species – whereas *D. variabilis*, *D. gemmula*, *D. texasianus*, *D. striatus* and *D. denticulatus* are overlapped. The regression analysis with centroids shows the size as feature in some species - *Donax gemmula* as the smaller and *D. hanleyanus* as the larger specimens. Cross-validation supported the precise identification of *D. hanleyanus* and *D. gemmula*, with lower accuracy for other species. Although few discrete characters were recognized, they were sufficient to be used as a diagnosis in each species. The difficulty in recognizing a clear pattern of morphometric differentiation in *Donax* can be attributed to environmental and phylogenetic factors.

1 INTRODUCTION

The tellinoids (Order Tellinoidea) are markedly different from other bivalves because they are the deepest marine burrowers of soft sediments among infaunal clams, associated with the development of siphon extension coupled to a long retractor muscle and secondarily to an exclusive cruciform muscle (Prezant, 1998; Laudien et al., 2003). Among the tellinoids, the family Donacidae differs by presenting species adapted to inhabit intertidal zones dominated by instability of the sandy substrate determined by wave action - especially those of the genus *Donax* (De La Huz et al., 2002). This behavior is characterized by a momentarily dislodging of the clams from the substrate and floating with the waves and then quickly burying themselves in the supralittoral zone (Trueman, 1971; Ansell, 1983; Passos & Domaneschi, 2004). Because they are strictly filter feeders, donacids are of great importance for the food chain, both for birds, fish, crustaceans and for human consumption in various societies (Carstense et. al, 2009).

The genus *Donax* (the surf clams) presents circa 80 species distributed throughout almost all sandy beach environments (latu sensu following Moncada et al., 2023), except in polar waters (Ansell, 1983; Huber, 2015). There are 8 species of *Donax* l.s. in the Western Atlantic, with three species exclusive to the Northern American coast (Adamkewicz & Harasewych, 1996): *Donax fossor* Say, 1822, *D. variabilis* Say, 1822 and *D. texasianus* Philippi, 1847; two species ranging from Caribbean to Northeastern coast of Brazil (Wade, 1967; RIOS, 2009): *D. denticulatus* Linnaeus, 1758, and *D. striatus* Linnaeus, 1767; and two species exclusive to South America coast (Gil & Tomé, 2001; Rios, 2009): *D. hanleyanus* Philippi, 1847 ranging from Eastern Brazilian Coast to Argentina and *D. gemmula* Morrison, 1971, ranging from Northeastern Brazilian Coast to Uruguay. Morrison (1971) also points out that the species *D. vellicatus* Reeve, 1855 are exclusive to the type locality in Rio Grande do Norte, however, with later dubious references to other regions (Barroso et al., 2013). The historical recognition of species in *Donax* almost necessarily involves conchological characters, a common situation for all molluscs (Sigwart & Sutton, 2007; Ponder & Lindberg, 2008). Part of the definition of *Donax* species is related to often subjective, vague or imprecise terms generally related to the shell's outline (Wade, 1967) – or even more subjective such as “triangular”,

“donaciform” or “rounded” generally referring to parts of the shell’s contour (e.g. Stanley, 1970; Ansell, 1981; Webb, 1986; Morton, 2016). Secondly, the descriptions also consider more objective characters such as the shape of the marginal crenulations, hinge teeth, transparency and color pattern distribution of the shell. Even so, is evident the subjectivity in these interpretations has the potential to induce errors in identification.

Thus, one of the tasks within malacology in recent decades is to understand whether there are characteristics related to shape that can be expressed as taxonomically valid characters. Recently, approaches using geometric morphometrics based on homologous points (landmarks - Rohlf and Marcus 1993; Monteiro and Reis, 1999) have become an efficient tool in quantifying characteristics based on shape and outline, as well as the taxonomic validity of these characters in plethora of bivalves groups (eg: Collins et al., 2013; Moneva et al., 2014; Perez et al., 2016; Marinho et al., 2021; Marques et al., 2022), including the *Donax* species (Signorelli & Printrakoon, 2020; Printrakoon et al., 2022).

In this paper, we use techniques of geometric morphometry based on landmarks and curves (semilandmarks) as well as discrete shell characters in six species of *Donax* of Western Atlantic ranging from Florida to Argentina aiming to determine: 1) whether there are morphological differences between species and along the regions; 2) what differences are related to those species and how could be used as specific diagnostic characteristic; 3) quantify general differences using the concept of morphological disparity; 4) if there are discrete characters that could be used as diagnostic character.

2 METHODS

Specimens from the biological collections of the Museum of Zoology of the University of São Paulo (MZSP), Natural History *Museum* of Rotterdam (NMR) and the Academy of Natural Sciences of Philadelphia (ANSP) were reviewed and selected, corresponding to 6 species occurring from Florida to Argentina (Fig. 1): *Donax variabilis* (n=49), *D. texasianus* (n= 9), *D. striatus* (n=41), *D. denticulatus* (n=66) and *D. hanleyanus* (n=207). In the absence of holotypes or type series, we used specimens from the type locality. We used the largest undamaged valves, thus avoiding allometric effects and analysis biases. The images carried out from the inner

surface of the valves with a support under a stereomicroscopic magnifying glass. As a standard, the orientation of the left valves was used in such a way that the right valves were mirrored. Markings and measurements were carried out in ImageJ and TPS Dig. In this way, 10 landmarks were chosen in the outline and in the pallial and adductor scars and 26 semilandmarks equally spaced along the margin of the shell, with no sliding (Table 1; Figure 2). The following variables (classifiers) were used: a) species; b) regions (states and countries); c) left and right valve.

Comparative analyzes were carried out using only the 10 landmarks (LM analysis) in MorphoJ and subsequent analysis with landmarks and semilandmarks (Full analysis) using the Morpho and Geomorph packages in the R environment (RTeam). The analysis sequence was: a) alignment of landmarks and semilandmarks by Generalized Procrustes Analysis, resulting in a covariance matrix; b) elimination of outliers and size effect; c) Principal Component Analysis (PCA); d) Canonical Variation Analysis (CVA); e) Classification and testing of difference between variables using discriminant function; d) Morphological disparity between species.

We sampled the discrete characters using a taxon-character data matrix in the Mesquite software, which led to the generation of an initial, straightforward, and dichotomous phylogenetic tree. This tree was subsequently visualized using the Winclada software. Discrete characters were defined as those with objectively recognizable shape (e.g., straight or concave) and size, without overlapping measurements. These characters were included only if their states were consistent across all individuals within the same species.

3 RESULTS

The first three main components (PC1, PC2 and PC3) account for 56.89% of the total variation. Notably, PC1 (30.53%) distinctly show a separation of the species *D. hanleyanus* from the others, while some degree of overlap is observed among the remaining species (see Figure 3a-c). PC1 demonstrates a strong correlation with the of the posterior margin region length, particularly in relation to the siphonal aperture, which is wider in *D. hanleyanus* and narrower in the other species. Additionally, it correlates with the umbo position (LM 1), which tends to be central across all species except in *D. hanleyanus*, where it is more posteriorly positioned. PC2 (16.33%) and PC3 (10.03%) appear to be linked to general shell morphology, including shape

(rounded/triangular) and elongation (see Fig. 3a). Hence, a less elongated shell corresponds to a more rounded shape within the morphospace (Fig. 3a).

The canonical analysis presented five variables, and the first three canonical axes explained approximately 93% of the total variation (CV1, CV2; and CV3, Fig. 4). The distribution of canonical variables revealed that the species *D. hanleyanus* exhibits a distinct separation compared to the other species, primarily explained by the first canonical variable (CV1, 57.76%). Similar to PC1, CV1 is related to the posterior margin length and positioning of the umbo. The CV2 (22.76%) demonstrates a tendency to differentiate *D. gemmula* from other donacids, although it shows a slight overlap with *D. striatus*. CV3 (12.75%) distinguishes the more "triangular" shape – characterized by the elongation of the ventral regions and the umbo – as evidenced by the less elongated shape in *D. striatus* and the more elongated ones in *D. variabilis* – despite presenting a significant overlap.

The cross-validated classification correctly validated the species *D. hanleyanus* as different from the others, achieving a total classification rate of 100% (Table 02). The species *D. gemmula* showed a classification rate of 95.94%, while the species *D. denticulatus*, *D. striatus*, and *D. variabilis* exhibited lower classification percentages. Is notable that *D. texasianus* presents low classification accuracy rates (Table 02). The Euclidean and Mahalanobis distances revealed that the species *D. hanleyanus* exhibited the greatest distance from all other species, whereas *D. striatus* and *D. denticulatus* showed the highest proximity (Fig. 5).

The analysis of morphological disparity (Table 3), utilizing Procrustes variation (-1/log variation), indicated that *D. texasianus* exhibits the smallest disparity, followed by *D. hanleyanus* and *D. gemmula*. The greatest disparity is observed in *D. variabilis*, followed by *D. striatus* and *D. denticulatus*. However, it's important caution when interpreting the data for *D. texasianus* due to the smaller sample size of this species.

The analysis of the regression scores in relation to the logarithm of the centroid size led to the categorization of three classes that may be related to the shell size (Fig. 6). The species *D. gemmula* is associated with the smallest specimens, while *D. striatus* and *D. variabilis* are related to medium and smaller sizes. The species *D. texasianus* and *D. denticulatus* present medium-sized specimens, whereas *D. hanleyanus* is found all across all size classes.

The RV values for modularity were found to be statistically non-significant ($\alpha > 0.05$) for the pallial sinus and muscle scars versus shell outline

configuration. Consequently, we conducted tests between sets of landmarks using partial least squares (PLS) regression analysis. The most correlated set was the one comprising the outline, muscle scars (including pallial sinus), and the pallial sinus ($r_v = 0.293$), in comparison to just the pallial sinus (without the adductor scars) and the shell outline ($r_v = 0.209$). This indicates that the pallial sinus exhibits a minor degree of independence from the shell, albeit with less taxonomic discriminatory power than the shell shape (represented by the "shell outline" block in Fig 7 A, B).

Discrete characters and taxonomic key:

Five discrete characters specific to the taxa present here were identified, distributed in three groups: a) ornamentation of the outer surface of the shell (with two characters: nodules on the posterior surface and growth lines); b) general shape (presence/absence of keel); c) hinge (relative position of the nymph divided into two characters: in relation to the cardinal tooth and in relation to the posterior lateral dentition). The dichotomous key found is below:

1.a – Nodular posterior surface (Fig. 1M) _____ *D. hanleyanus*

1.b – Non-nodular posterior surface _____ 2

2.a – Non-keeled surface (Fig. 1 P) _____ *D. gemmula*

2.b – Keeled surface with an angle (Fig. 1 M) _____ 3

3.a – Nymph dorsal to the cardinal tooth (Fig. 8 A) _____ 4

3.b – Nymph posterior to the cardinal tooth (Fig. 8 B-C) _____ 5

4.a – Visible growth lines, punctuated (Fig. 9 A) _____ *D. denticulatus*

4.b – Imperceptible growth lines (Fig. 9 B) _____ *D. striatus*

5.a – Nymph slightly overlapping the posterior tooth (Fig. 8 B) _____ *D. variabilis*

5.b – Nymph separated from the posterior tooth (Fig. 8 C) _____ *D. texasianus*

DISCUSSION

The pursuit of universal and identifiable characters has long been a central objective in taxonomic sciences. In the 1980s and 1990s, the consideration of discretizing continuous characters was a viable approach in phylogenetic organization. Preference was given to discrete characters in character matrices, leading to their prominence as diagnostic features for taxonomic clades (Seberg, 1984; Baum, 1988; Thiele, 1993; Wiens, 2004). Since the turn of the century, morphometric data based on landmarks has gained increased traction due to advancements in algorithms and their widespread adoption. This has led to their more frequent use as descriptors or diagnostics in systematics (e.g., Mitteroecker & Gunz, 2009) and phylogenetic systematics (Catalano et al., 2010).

The discrete and continuous (morphometric) here presented show differences among the species, but with some limitations. Although all species exhibited discrete characters, there are just 5 characters in 6 species. This limited number of characters may decrease the number of diagnostic characters. Additionally, certain traditionally diagnostic characteristics were found to be flawed. For example, the "obtuse" posterior shape attributed to *D. striatus* since Linnaean description (see Turton, 1802) is defined by the size of the pallial opening – here shown to be undifferentiated between all species except *D. hanleyanus* on the other hand, the punctuations along the dorsal surface), proved to be a valid diagnostic feature of *D. denticulatus* as previously indicated by Wade (1968).

The utilization of curves and landmarks in this study yielded a robust differentiation between *D. hanleyanus* from other Western Atlantic species - whereas the differentiation within the latter is not clear. This question has been observed in other bivalve families (Morais et al., 2014; Printrakoon et al., 2022; Marques et al., 2022). Several factors may explain this phenomenon related to the phenotypical plasticity and phylogenetic constraints. The phenotypical plasticity is explained has been observed in shape and surface ornamentation and are associated to the life mode and substrate occupation (Stanley, 1971; Vermeij, 1973; Nolan, 1991; Trussell, 2000; Bayne, 2004; Sousa et al., 2007; Inoue et al., 2009; Reed et al., 2013; Wu et al., 2022), temperature. Although it is recognized that epifaunal forms exhibit considerable phenotypic plasticity among bivalves (e.g., Huntley et al., 2018), the infaunal species also display high phenotypic plasticity (e.g., Cope & Linse, 2006; Harper et al., 2012; Reed et al., 2013; Ghazzi et al., 2022). On the larger scales temperature seems to have an effect on overall size (e.g., Berke et al., 2013). The

temporary exposure outside of sediment as in most of the Donacidae species may also role an influence on the shell morphology (Ansell, 1981; Manatrion et al., 2012). The species analyzed here ranges along the Western Atlantic with different environmental conditions such as sediment type, beach dynamic, temperature, depth, and salinity. Soares et al. (1998) found morphological variations in the shape of *D. serra* related to beach dynamic regimes. *D. hanleyanus* occurs from the southeastern Brazilian coast, dominated by warmer currents and higher continental sediment input, to the Argentine coast, dominated by cooler currents and lower sediment input (Herrmann et al., 2009).

On other hand, the size may be more associated with phylogenetic and developmental factors (Saulsbury et al., 2019). As example, the *D. striatus-denticulatus* affinity was first recognized by Wade (1968) based on soft parts anatomy. Adamkewicz & Harasewych, (1996) using RAPD markers indicated *D. striatus* and *D. denticulatus* as phylogenetically close. Subsequently Moncada et al. (2022) with a larger taxonomic sampling shows that *D. striatus* are phylogenetically closer to *D. variabilis*, and the clade (*D. striatus* + *D. variabilis*) is the sister group of *D. denticulatus*. Moncada et al. (2022) also suggest that *D. hanleyanus* is the most phylogenetically distant from the other *Donax* species in the Western Atlantic, with *D. californicus* Conrad, 1837 from the Eastern Pacific as sister group, which may explain the strong morphometric distinction found here.

The morphometric analysis presented here illustrates that differentiation in *Donax* from the Western Atlantic is influenced by both environmental and phylogenetic factors. Despite the limitations of the morphometric and discrete data analysis in this study, we advocate for the inclusion of a comprehensive range of data in taxonomic studies, whether within a phylogenetic framework or with taxonomic review objectives, to enhance species distinction. Therefore, we also strongly support the utilization of continuous-discrete data sets in taxonomy, along with geometric morphometry tools. In addition to molecular and conchological data, we highlight the potential of incorporating other data to enhance the identification of *Donax* species. For instance, soft parts anatomy related to digestive and muscular systems (e.g., Wade, 1968; Passos & Domaneschi, 2004) and reproductive ultrastructure (e.g., Introíni et al., 2013) offer potential diagnostic features in donacids as well as in other bivalve's groups.

ACKNOWLEDGMENT

Sincere gratitude to the Museum of Zoology of the University of São Paulo (MZSP), the National Museum of Rotterdam and the Academy of Natural Sciences of Philadelphia (ANSP) for their invaluable support to the research presented in this article. Their contributions to the advancement of scientific knowledge and to the preservation of biodiversity and taxonomy are of great value.

LITERATURE CITED

- ADAMKEWICZ, S. L., AND HARASEWYCH, M. G. 1996. Systematics and biogeography of the genus *Donax* (Bivalvia: Donacidae) in eastern North America. *American Malacological Bulletin*, 13: 97–103.
- ANSELL, A. D. 1981. functional morphology and feeding of *Donax serra* roöding and *Donax sordidus* hanley (bivalvia: donacidae). *Journal of Molluscan Studies*, 47: 59–72.
- ANSELL, A. D. 1983. The Biology of the Genus *Donax*. In: McLachlan A, Erasmus T (Eds), *Sandy Beaches as Ecosystems*. Springer Netherlands, Dordrecht, 607–635.
- ANSELL, A. D., TRUEMAN, E. R. 1973. The energy cost of migration of the bivalve *Donax* on tropical sandy beaches. *Marine & Freshwater Behaviour & Phy*, 2 (1-4): 21–32.
- BARROSO, C. X., RABAY, S. G., PASSOS, F. D., MATTHEWS-CASCON, H. 2013. An extended geographical distribution of *Donax gemmula* Morrison, 1971 (Bivalvia: Donacidae): new record from the Brazilian Northeastern coast. *Check List*, 9: 1087–1090.
- BAUM, B. R. 1988 A simple procedure for establishing discrete characters from measurement data, applicable to cladistics. *Taxon*, 37: 63–70.
- BAYNE, B. L. 2004. Phenotypic flexibility and physiological tradeoffs in the feeding and growth of marine bivalve molluscs. *Integrative and Comparative Biology*, 44 (6): 425–432.
- BERKE, S. K., JABLONSKI, D., KRUG, A. Z., ROY, K., TOMASOVYCH, A. 2013. Beyond Bergmann's rule: size–latitude relationships in marine Bivalvia world-wide. *Global Ecology and Biogeography*, 22: 173–183.
- BOORE, J. L. 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*, 27: 1767–1780.
- CARSTENSEN, D., LAUDIEN, J., LEESE, F., ARNTZ, W., HELD, C. 2009. Genetic variability, shell and sperm morphology suggest that the surf clams *Donax*

marincovich and *Donax obesulus* are one species. *Journal of Molluscan Studies*, 75: 381–390.

CATALANO, S. A., GOLOBOFF, P. A., & GIANNINI, N. P. 2010. Phylogenetic morphometrics *In*: the use of landmark data in a phylogenetic framework. *Cladistics*, 26(5), 539–549.

COLLINS, K. S., CRAMPTON, J. S., HANNAH, M. 2013. Identification and independence: morphometrics of Cenozoic New Zealand *Spissatella* and *Eucrassatella* (Bivalvia, Crassatellidae). *Paleobiology*, 39 (4): 525–537.

COPE, T., LINSE, K. 2006. Morphological differences in *Lissarca notorcadensis* Melvill and Standen, 1907 from the Scotia, Weddell and Ross Seas. Deep Sea Research Part II: *Topical Studies in Oceanography*, 53 (8–10): 903–911.

DE LA HUZ, R., LASTRA, M., & LÓPEZ, J. 2002. The influence of sediment grain size on burrowing, growth and metabolism of *Donax trunculus* (Bivalvia: Donacidae). *Journal of Sea Research*, 47 (2): 85–95.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, J., FROUFE, E., NANTÓN, A., GASPAR, M. B., MÉNDEZ, J. 2017. Genetic diversity and population genetic analysis of *Donax vittatus* (Mollusca: Bivalvia) and phylogeny of the genus with mitochondrial and nuclear markers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 197: 126–135.

GHOZZI, K., DHIAB, R. B., CHALLOUF, R., & BRADAI, M. N. 2022. Morphometric Variation among Four Local *Ruditapes decussatus* Populations in Monastir Bay (Eastern Coast, Tunisia). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65: e22210235.

GIL, G.M., TOMÉ, J.W., 2004. Descrição do ciclo reprodutivo de *Donax hanleyanus* (Bivalvia, Donacidae) no sul do Brasil. *Iheringia. Série Zoológica*, 94 (3): 271–276.

HARPER, E. M., CLARK, M. S., HOFFMAN, J. I., PHILIPP, E. E., PECK, L. S., & MORLEY, S. A. 2012. Iceberg scour and shell damage in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*, *PLoS One* 7 (9): e46341.

HERRMANN, M., CARSTENSEN, D., FISCHER, S., LAUDIEN, J., PENCHASZADEH, P. E., ARNTZ, W. E. 2009. Population structure, growth, and production of the wedge clam *Donax hanleyanus* (Bivalvia: Donacidae) from Northern Argentinean beaches. *Journal of Shellfish Research*, 28 (3): 511–526.

HUBER M. 2015. Compendium of Bivalves 2. A Full-Color Guide to the Remaining Seven Families. A Systematic Listing of 8'500 Bivalve Species and 10'500 Synonyms, *ConchBooks*, Hackenheim.

HUNTLEY, J. W., SCHIFFBAUER, J. D., AVILA, T. D., BROCE, J. S. 2018. Ecophenotypy, temporal and spatial fidelity, functional morphology, and physiological trade-offs among intertidal bivalves. *Paleobiology*, 44 (3): 530–545.

INOUE, K., MCQUEEN, A. L., HARRIS J. L., BERG, D. J. 2014. Molecular phylogenetics and morphological variation reveal recent speciation in freshwater mussels of the genera *Arcidens* and *Arkansia* (Bivalvia: Unionidae), *Biological Journal of the Linnean Society*, 112: 535–545.

INTROINI, G.O., PASSOS, F. D., RECCO-PIMENTEL, S. M. 2013. Comparative study of sperm ultrastructure of *Donax hanleyanus* and *Donax gemmula* (Bivalvia: Donacidae). *Acta Zoologica (Stockholm)*, 94: 261–266.

LAUDIEN, J., BREY, T., ARNTZ, W. E. 2003. Population structure, growth and production of the surf clam *Donax serra* (Bivalvia, Donacidae) on two Namibian sandy beaches. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 58: 105–115.

MANATRINON, S., THONGLOR, O. U., BOONYAPAKDEE, A. 2012. Genetic and morphological variation in three populations of *Donax* spp. in the gulf of Thailand. *Genomics and Genetics*, 5: 79–88.

MARINHO, T. A., ARRUDA, E. P. 2021. Shell-specific differentiation: how geometric morphometrics can add to knowledge of Macominae species (Tellinidae, Bivalvia). *Marine Biodiversity*, 51: 40.

MARQUES, R. C., DA SILVA, A. M., SIMONE, L. R. L. 2022. Cladistic analysis of the transisthmian genus *Eurytellina* (Bivalvia: Tellinoidea) based on morphological and morphometric data. *Organisms Diversity & Evolution*, 22: 857–891.

MITTEROECKER, P., GUNZ, P. 2009. Advances in Geometric Morphometrics. *Evolutionary Biology*, 36: 235–247.

MONCADA, E., LORD, A., SIMONE, L. R. L., ADJEI-BOATENG, D., BOUCHET, P., STRONG, E. E., BIELER, R., GIRIBET, G. 2022. Marine surf to freshwater: a molecular phylogeny of Donacidae (Bivalvia: Heterodonta). *Wilson N (Ed.)*. *Invertebrate Systematics*, 36: 984–1001.

MONEVA, C. S. O., BAQUIANO, P. M. L., JR, J. O. B., BORLAZA, K. M. E., BURIAS, D. M. E., FLORES, K. A., FUENTES, R. E., PANCHO, A. G. E., SANCHEZ, R. R. G. 2014. Comparative morphological descriptions of interior shell patterns of the Venerid bivalves: *Meretrix lyrata*, *Mercenaria mercenaria* and *Venerupis philippinarum* using Landmark-based Geometric Morphometric Analysis, *Bioflux*, 7: 386–395.

MORAIS, P., RUFINO, M. M., REIS, J., DIAS, E., SOUSA, R. 2014. Assessing the morphological variability of *Unio delphinus* Spengler, 1783 (Bivalvia: Unionidae) using geometric morphometry. *Journal of Molluscan Studies*, 80: 17–23.

MORRISON, J. P. E. 1971. Proceedings of the Biological Society of Washington. *Western Atlantic Donax*, 83: 545–568.

MORTON, B. 2016. The biology and functional morphology of the high-energy beach dwelling *Paphies elongata* (Bivalvia: Mactroidea: Mesodesmatidae). *Convergence*

with the surf clams (Donax: Tellinoidea: Donacidae). *Journal of Natural History*, 50: 2515–2545.

NOLAN, C. P. 1991. Size, shape and shell morphology in the Antarctic limpet *Nacella concinna* at Signy Island, South Orkney Islands. *Journal of Molluscan Studies*, 57 (2): 225–238.

PASSOS, F. D., DOMANESCHI, O. 2004. Biologia e anatomia funcional de *Donax gemmula* Morrison (Bivalvia, Donacidae) do litoral de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21: 1017–1032.

PONDER, W. L., LINDBERG, D. R. R. 2008. Phylogeny and evolution of the mollusca. *Univ of California Press*, 469.

PREZANT, R. S. 1998. Mollusca: the southern synthesis. *In*: Subclass Paleoheterodonta, Introduction. P.L. Beesley et al, 289–294.

PRINTRAKOON, C., UNAJAK, S., SIGNORELLI, J. H. 2022. Identification and distribution of wedge clams (Donacidae: Bivalvia) in thailand by geometric morphometric and molecular analysis. *Zoological Studies*, 61: 82.

REED, A. J., MORRIS, J. P., LINSE, K., THATJE, S. 2013. Plasticity in shell morphology and growth among deep-sea protobranch bivalves of the genus *Yoldiella* (Yoldiidae) from contrasting Southern Ocean regions. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 81: 14–24.

REIS, S. F. M., RABELLO, L. 1999. Princípios de morfometria geométrica, 189–189.

RIOS, E. C. 2009. Family donacidae flaming 1828. *in*: sheashells of brazil. rufino mm, gaspar mb, pereira am, vasconcelos p (2006) use of shape to distinguish *chamelea gallina* and *chamelea striatula* (bivalvia: veneridae): linear and geometric morphometric methods. *journal of morphology*, 267: 1433–1440.

ROHLF, J. F., MARCUS, L. F. 1993. A revolution morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution*, 8: 129–132.

SAULSBURY, J., MOSS, D. K., IVANY, L. C., KOWALEWSKI, M., LINDBERG, D. R., GILLOOLY, J. F., HEIM, N. A., MCCLAIN, C. R., PAYNE, J. L., ROOPNARINE, P. D., SCHÖNE, B. R., GOODWIN, D., FINNEGAN, S. 2019. Evaluating the influences of temperature, primary production, and evolutionary history on bivalve growth rates. *Paleobiology*, 45: 405–420.

SOARES, A. G., CALLAHAN, R. K., & RUYCK, A. D. 1998. Microevolution and phenotypic plasticity in *Donax serra* Röding (Bivalvia: Donacidae) on high energy sandy beaches. *Journal of Molluscan Studies*, 64 (4): 407–421.

SEBERG, O. 1984. Taxonomy and phylogeny of the genus *Acalypha* (Euphorbiaceae) in the Galápagos Archipelago. *Nordic Journal of Botany*, 4: 159–190.

SIGNORELLI, J. H., PRINTRAKOON, C. 2020. The family Donacidae (Bivalvia: Tellinoidea) in Thai waters. *Molluscan Research*, 40: 8–35.

SIGWART, J. D., SUTTON, M. D. 2007. Deep molluscan phylogeny: synthesis of palaeontological and neontological data. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274: 2413–2419.

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.

STANLEY, S. M. 1970. Relation of shell form to life habits of the Bivalvia (Mollusca). *The Geological Society of America, Boulder, Colo*, 296.

THIELE, K. 1993. The holy grail of the perfect character: the cladistic treatment of morphometric data. *Cladistics*, 9: 275–304.

TRUSSELL, G. C. 2000. Phenotypic clines, plasticity, and morphological trade-offs in an intertidal snail. *Evolution*, 54 (1): 151–166.

TURTON, W. 1802. A general system of nature through the three grand kingdoms of animals, vegetables, and minerals; systematically divided into their several classes, orders, genera, species, and varieties with their habitations, manners, economy, structures, and peculiarities. Translated from Gmelin's Last Edition of the Celebrated Systema Naturae [1783-1793] by Sir Charles Linné: Amended and Enlarged by the Improvements and Discoveries of Later Naturalists and Societies, 2: Lackington, London, UK.

VERMEIJ, G. J. 1973. Morphological patterns in high-intertidal gastropods: adaptive strategies and their limitations. *Marine Biology*, 20: 319–346.

WADE, B. A. 1967. On the taxonomy, morphology, and ecology of the beach clam, *Donax striatus* Linné. *Bulletin of Marine Science*, 17 (3): 723–740.

WADE, B. A. 1969. Studies on the biology of the West Indian beach clam, *Donax denticulatus* Linne. 3. Functional morphology. *Bulletin of Marine Science*, 19 (2): 306–322.

WEBB, C. M. 1986. Post-larval development of the Tellinacean bivalves *Abra alba*, *Tellina fabula* and *Donax vittatus* (mollusca: bivalvia), with reference to the late larva. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 66: 749–762.

WIENS, J. J. 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Systematic biology*, 53: 653–661.

WU, R., LIU, X., GUO, L., ZHOU, C., OUYANG, S., WU, X. 2022. DNA barcoding, multilocus phylogeny, and morphometry reveal phenotypic plasticity in the Chinese freshwater mussel *Lamprotula caveata* (Bivalvia: Unionidae). *Ecology and Evolution*, 12 (7): e9035.

FIGURES

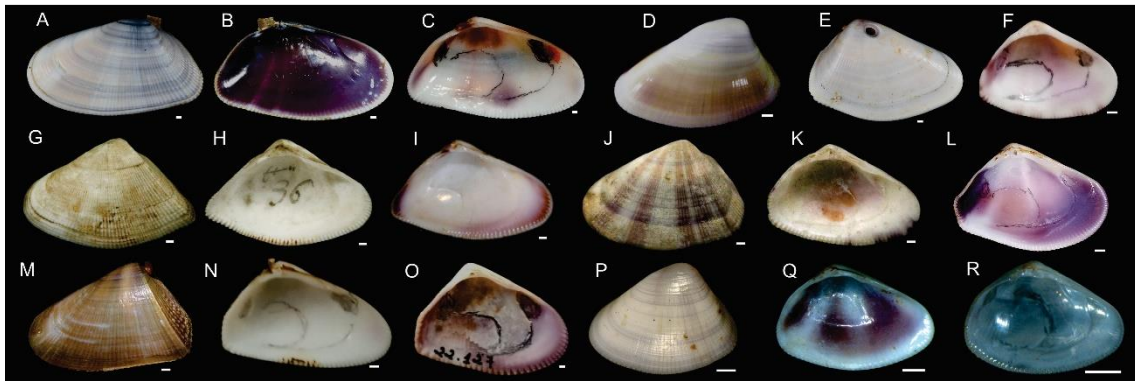


FIG. 1. Species in the presente study: A-C: *Donax variabilis*; D-F: *D. texasianus*; G-I: *D. striatus*; J-L: *D. denticulatus*; M-O: *D. hanleyanus*; P-R: *D. gemmula*.

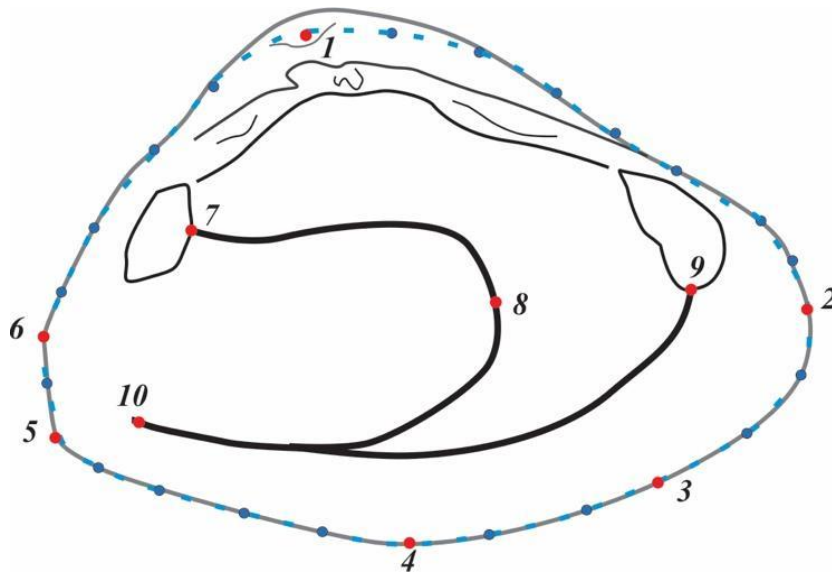


FIG. 2. Landmarks (red circles) and semilandmarks (blue circles). The blue dotted line represents the shape obtained after generalized Procrustes superimposition analysis.

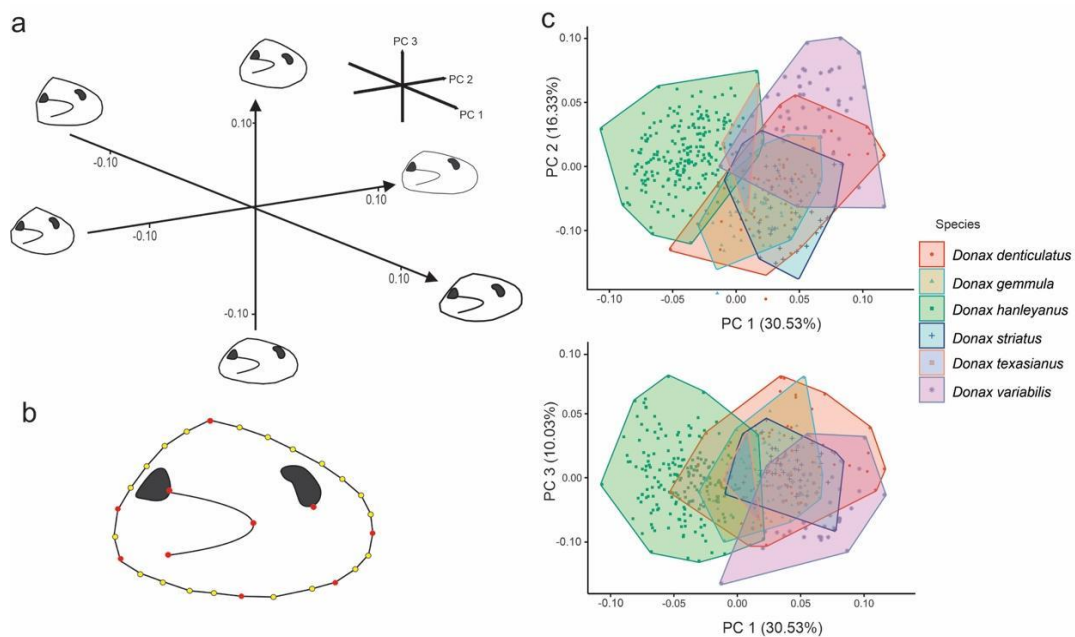


Fig 3: Graphical representation of the morphospaces based on PCA: a) Representation of variation of the first three principal components (PC1, PC2 and PC3); b) mean shape (landmarks = red points; semilandmarks = yellow points); c) PCA scatter plot of PC1 x PC2 and PC1 x PC3 (the percentage of the total variance in parenthesis).

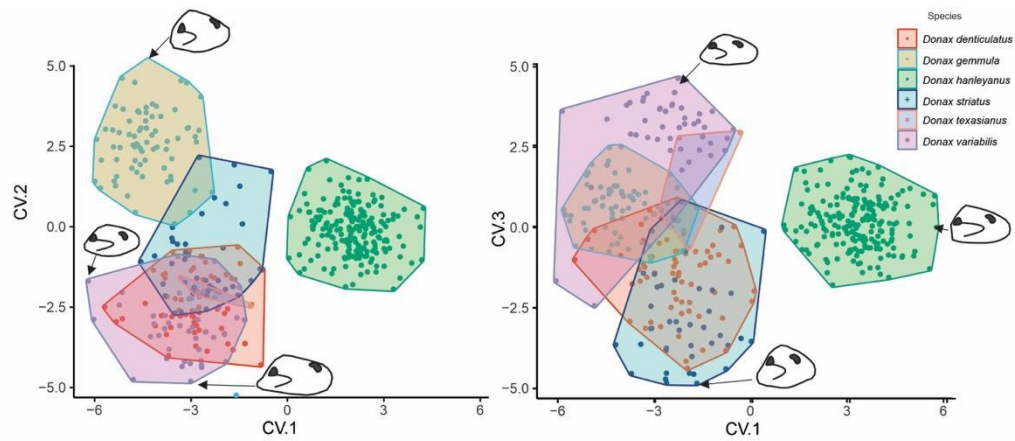


FIG. 4. CVA scatter plot of the shape variation (CV.1, CV.2 e CV.3). The shape draws represents the extreme values.

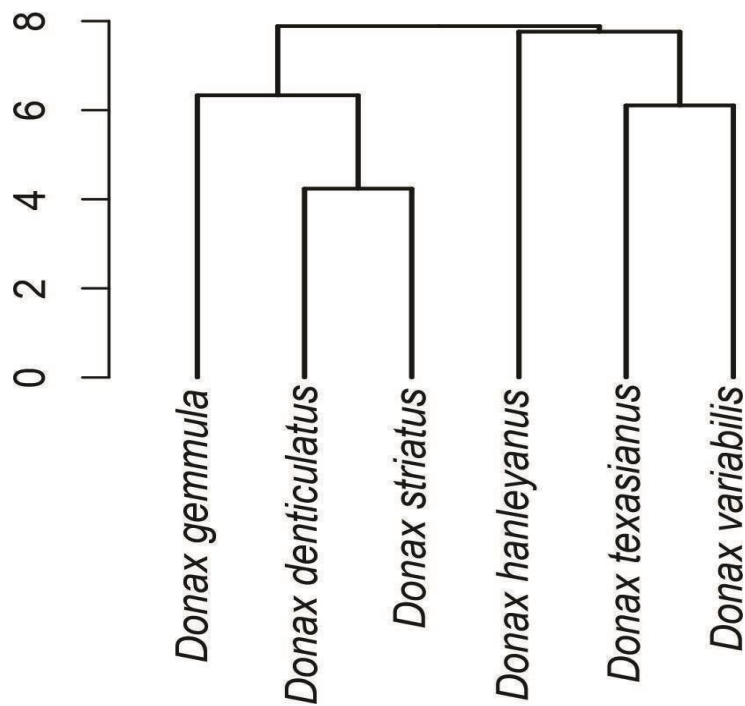


Fig. 5. Cluster analysis showing morphological distance based on Mahalanobis distance. (See Table 2 for the values)

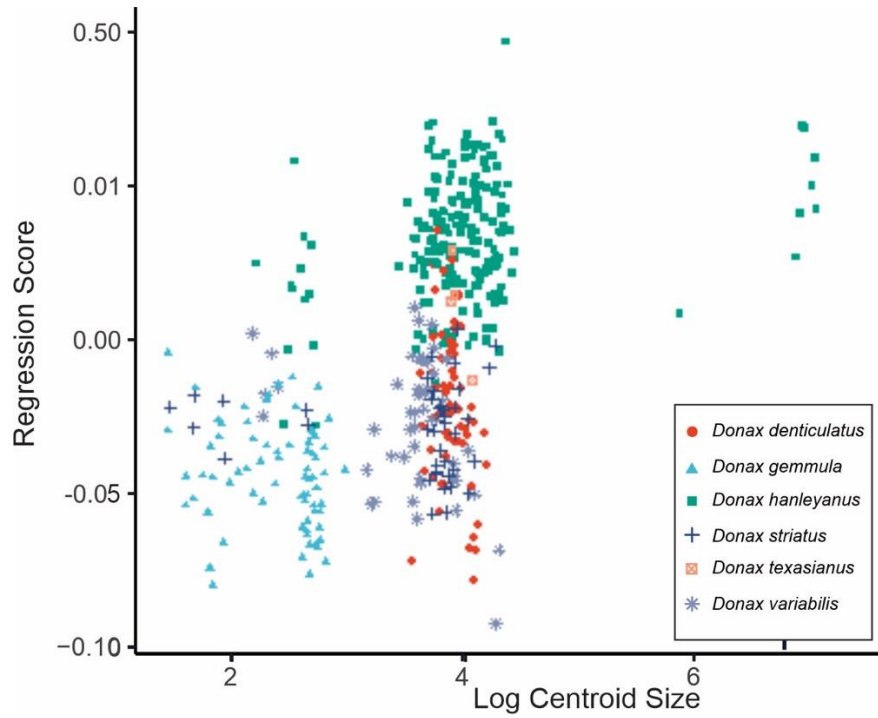


Fig. 6. Relationship between the regression score, representing the shape variation and the centroid size among the *Donax* species.

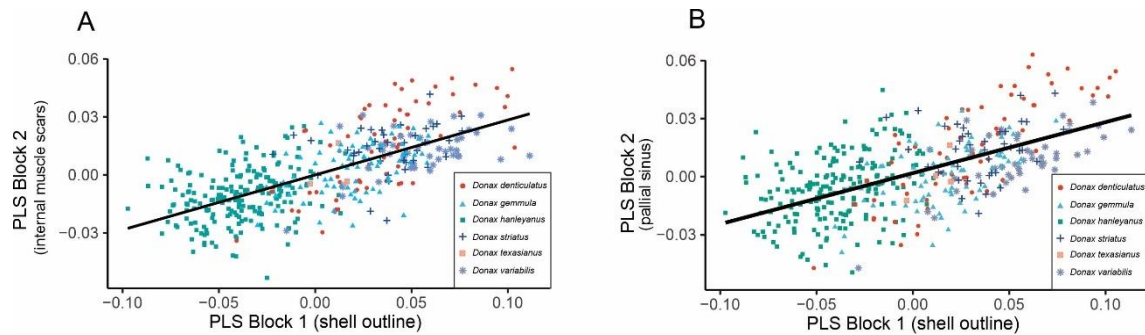


Fig. 7. Comparison between partial least squares blocks (PLS Block) in two configurations: A) between muscle scars (including pallial sinus) and the shell outline; B) only the pallial sinus and the shell outline.

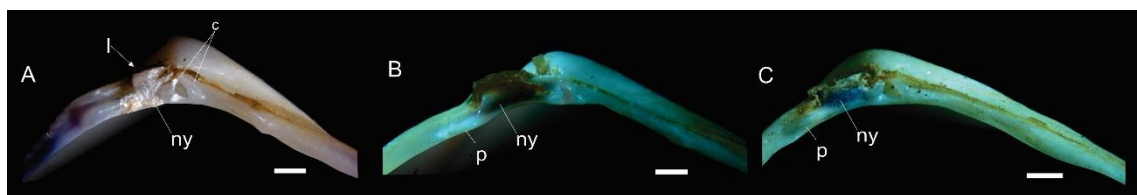


Fig. 8. Hinge teeth of three *Donax* species: *D. hanleyanus* (A), *D. variabilis* (B) and *D. texasianus* (C). **c**= bifid cardinal teeth; **l** = external ligament, **ny** = nymph, **p** = posterior lateral tooth. Scale bar = 1 mm.

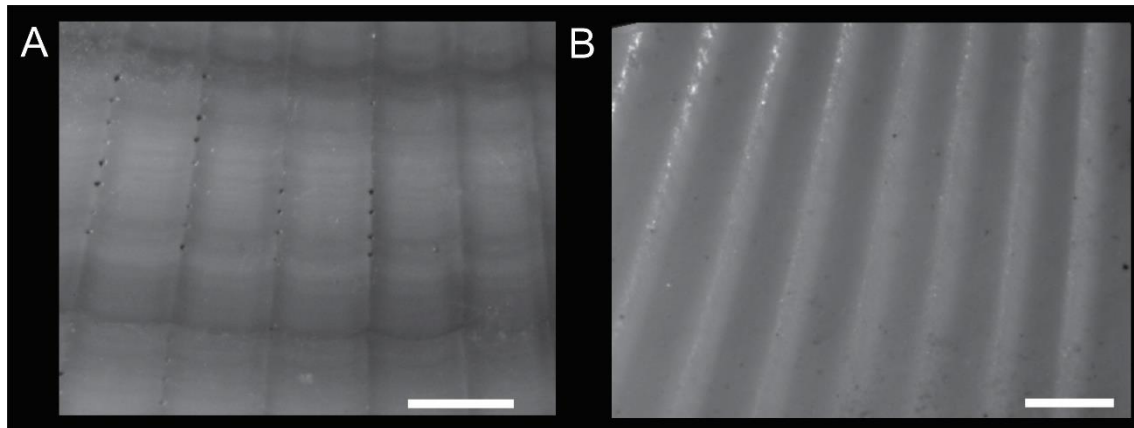


Fig. 9. Detail of external surface showing the ribs in *D. denticulatus* (A) and *D. striatus*; growth lines and punctuations only in *D. denticulatus*. Scale bar = 0.4 mm

TABLES

Table 1. Descriptions of the landmark's points.

Landmarks	Homology
1	<i>Umbo (above cardinal teeth comissure)</i>
2	<i>anteriormost point of margin</i>
3	<i>midpoint between landmarks 2 and 4</i>
4	<i>ventralmost ooint of margin</i>
5	<i>inferior portion (vertex) of siphonal aperture</i>
6	<i>superior portion (vertex) of siphonal aperture</i>
7	<i>contact point of adductor posterior muscle and pallial sinus scar</i>
8	<i>anteriormost point of pallial sinus</i>
9	<i>contact point of adductor anterior muscle and pallial line scar</i>
10	<i>pallial line posterior end (above cruciform muscle scar)</i>

Table 2. Cross-validation analysis of shape in the species. Diagonal, bold numbers: % of correctly classified. cl Numbers above diagonal: Euclidean distances. Below diagonal: Mahalanobis distance.

Species	<i>D. denticulatus</i>	<i>D. gemmula</i>	<i>D. hanleyanus</i>	<i>D. striatus</i>	<i>D. texasianus</i>	<i>D. variabilis</i>
---------	------------------------	-------------------	----------------------	--------------------	----------------------	----------------------

<i>D. denticulatus</i>	84.84%	0.04961742	0.08460958	0.04051262	0.05783365	0.07536630
<i>D. gemmula</i>	6.333868	95.94%	0.08166443	0.05885276	0.07561510	0.08914979
<i>D. hanleyanus</i>	6.488001	7.886711	100%	0.09673503	0.06528833	0.10816510
<i>D. striatus</i>	4.237890	6.115545	6.556857	80.48%	0.08257626	0.09403142
<i>D. texasianus</i>	6.038002	7.783581	7.762594	7.514892	25%	0.07363417
<i>D. variabilis</i>	5.073473	7.056997	7.370025	6.436632	6.107221	91.83%

Table 3. Morphological disparity with Procrustes variance (-1/log Variance)

species	Procrustes variance
<i>D. denticulatus</i>	0,47950751
<i>D. gemmula</i>	0,45429882
<i>D. hanleyanus</i>	0,45396217
<i>D. striatus</i>	0,48090235
<i>D. texasianus</i>	0,44979137
<i>D. variabilis</i>	0,50241834