

**JUDITE ARTUR NHANOMBE**

**ESTUDO DA MORFOLOGIA DAS VALVAS DOS *CYPRIDEIS*  
*REMANEI* COMO INDICADOR DAS ALTERAÇÕES  
PALEOAMBIENTAIS NO LAGO NYALONZWELE (INHAMBANE,  
MOÇAMBIQUE)**



**2024**

**JUDITE ARTUR NHANOMBE**

**ESTUDO DA MORFOLOGIA DAS VALVAS DOS *CYPRIDEIS*  
*REMANEI* COMO INDICADOR DAS ALTERAÇÕES  
PALEOAMBIENTAIS NO LAGO NYALONZWELE (INHAMBANE,  
MOÇAMBIQUE)**

**Mestrado em Arqueologia**

**Trabalho efectuado sob a orientação de:**

Doutora Maria João Fernandes Martins

Doutor Ricardo Miguel Godinho



**UA**lg **FCHS**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE  
FACULDADE DE CIÊNCIAS HUMANAS E SOCIAIS

2024

**ESTUDO DA MORFOLOGIA DAS VALVAS DOS *CYPRIDEIS*  
*REMANEI* COMO INDICADOR DAS ALTERAÇÕES  
PALEOAMBIENTAIS NO LAGO NYALONZWELE (INHAMBANE,  
MOÇAMBIQUE)**

**DECLARAÇÃO**

*Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito.*

*Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados  
no texto e constam da listagem de referências incluída.*

*Copyright© Judite Artur Nhanombe.*

*A Universidade do Algarve reserva para si o direito, em conformidade com o disposto no Código do Direito de Autor e dos Direitos Conexos, de arquivar, reproduzir e publicar a obra, independentemente do meio utilizado, bem como de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição para fins meramente educacionais ou de investigação e não comerciais, conquanto seja dado o devido crédito ao autor e editor respectivos.*

*O trabalho foi escrito usando o acordo ortográfico não ratificado*

*Aos meus irmãos e meus pais*

## AGRADECIMENTOS

Esse trabalho representa a conclusão de uma jornada desafiadora e gratificante, que só foi possível graças ao apoio de diversas pessoas e instituições. Gostaria de expressar meu profundo agradecimento aos supervisores, mentores, familiares, amigos e colegas, cujas contribuições foram essências para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal. A dedicação e o conhecimento partilhado por todos eles tiveram um papel fundamental na realização dessa pesquisa. Assim, dedico os próximos parágrafos a aqueles que estiveram ao meu lado e que apoiaram ao longo desta jornada.

Gostaria de demonstrar os meus agradecimentos à Fundação para Ciência e Tecnologia (FCT), no âmbito do projecto UIDP/04211/2020 IHC, concedido pelo ICArEHB - *Interdisciplinary Center for Archaeology and the Evolution of Human Behaviour*, que financiou a minha bolsa de mestrado. Do mesmo modo, agradeço ao *DISPERSALS Project* da *European Research Council* (ERC), coordenado pelo Prof. Nuno Bicho, pelo apoio no desenvolvimento de habilidades e conhecimento no trabalho do campo em Moçambique durante o meu percurso académico.

Gostaria de estender os meus profundos agradecimentos aos meus supervisores Maria João Fernandes Martins e Ricardo Miguel Godinho, pela dedicação incansável e o conhecimento valioso que transmitiram para mim ao longo desse percurso que vou levar a vida toda. Meu muito obrigado, sem vocês não teria chegado até aqui.

À professora Ana Gomes, que sempre esteve apta para me ajudar em quaisquer inquietações que eu tivesse e aumentar meu conhecimento na área de investigação; esse conhecimento será útil para a minha carreira.

Agradeço a Miriam Zelditch, da Universidade de Michigan, que mesmo sem me conhecer demonstrou prontidão imediata para me ajudar com algumas questões sobre morfometria geométrica. Thank you.

Igualmente, vão os meus agradecimentos à professora Célia Goncalves e a Catarina Marques, que desde o princípio, demonstraram total disponibilidade para resolver questões administrativas académicas.

À Sarah Foley e à Elena Skosey-Lalonde, pela ajuda na aquisição de referências bibliográficas e artigos para a elaboração deste trabalho. Os mesmos agradecimentos para

o Simon Connor pelo esclarecimento de algumas questões preponderantes para o êxito da pesquisa.

Agradeço a Lili e a Patrícia Simão por me ajudar a resolver os enigmas do *Rstudio*, quando estava no trabalho do campo. Sem vocês o meu trabalho teria sido mais difícil.

À Leonor Filipe, Nompumelelo Maringa e ao Chafim Braga pelo suporte e pela disponibilidade sempre que necessitei para debater questões pontuais da pesquisa.

Ao Milton Chirindza, e ao Miguel Ricardo, pelos momentos vividos e pela troca de experiências durante o meu último ano. Igualmente, meus agradecimentos vão a todos os colegas de mestrado em arqueologia (2022-2023) pelo suporte e pelas experiências académicas trocadas, dentro e fora da sala de aula.

A todos os membros do ICAREHB e do ICARBALL United, vão os meus agradecimentos pela troca de experiências e dos momentos divertidos durante o percurso.

Os meus profundos a Stéla Da Graça Gujamo, que sempre esteve presente desde Maputo, me apoiando e encorajando até termino do nosso mestrado. Você impactou e deixou marcas inesquecíveis no minha vida. Meus agradecimentos não caberiam nesse documento. Serei incansavelmente grata a você. Kxanimabo!

E por fim, a toda a minha família e a Adivon Orlando (irmão que Deus me presenteou) que sempre estiveram do meu lado, me apoiando e me dando força incansavelmente todos os dias. Mesmo estando distantes fisicamente, vocês sempre tiveram por perto espiritualmente. Meu muito obrigado! Igualmente, os meus agradecimentos não caberiam neste documento. Vocês foram o pilar para a conquista deste grau. Kxanimambo!

Merci,

Obrigada,

Thank you,

Kxanimabo!

## RESUMO

Neste trabalho, foram estudadas oito amostras, totalizando 327 indivíduos de *Cyprideis remanei*, recolhidas em 2019 no lago Nyalonzwele, Inhambane, de modo a compreender as alterações morfológicas da valva esquerda dos ostracodos adultos dessa espécie.

Foram colectadas imagens fotográficas de indivíduos das oito amostras selecionadas com microscópio binocular e o Software *Toupview*. A aquisição de dados morfológicos dos pontos anatómicos (Landmarks) no modelo 2D, foram obtidos com os programas TpsDig. Os marcos anatómicos (Landmarks, LMs) foram definidos em quatro regiões das valvas (parte anterior, antero-dorsal, posterior e ventral das valvas) e distribuídos em 4 LMs, às quais acrescem 44 semi-marcos anatómicos deslizantes (sliding semilandmarks, sLMs) distribuídos equidistantemente. A consistência, confiabilidade e precisão das marcações, foi assegurada com o teste de erro intra-observador. A identificação dos *outliers* e do sexo das valvas, bem como a eficiência do método aplicado, seguiu o método do Hunt *et al.*, (2017). Para a análise dos dados, utilizou-se o *Generalised Procrustes Analysis* (GPA) para a sobreposição das configurações das coordenadas, ajustando o tamanho e removendo os efeitos de localização e orientação das valvas dos *C. remanei*.

A Análises de Componentes Principais (PCA), foi usada para reduzir a dimensionalidade e a variação morfológica e análise das variáveis ambientais (diatomáceas e sedimentos). A Regressão Multivariada, correlacionou os dados ambientais com os morfológicos. Testes não paramétricos, como de *kruskal-wallis*, seguidos por testes *post-hoc* Wilcoxon rank sum exact test, foram usados para confirmar diferenças no tamanho mediano das valvas entre amostras.

Os resultados morfológicos das valvas de machos e fêmeas de *C. remanei* do lago Nyalonzwele, revelam ocupação de morfo espaços distintos entre os sexos. Análises realizadas nas fêmeas revelam variações significativas na geometria e tamanho, vinculadas às oscilações ambientais ocorridas entre 7.100-1.800 anos BP, alternando entre períodos húmidos e áridos. As mudanças climáticas, como o aumento da precipitação com a transição para um clima mais húmido, também influenciaram o comportamento humano e a ocupação da região, com registos de migração e assentamento de caçadores-recolectores e agricultores a partir de 5.050 BP. As alterações nas valvas reflectem essas flutuações, com evidências de alterações na geometria e tamanho da valvas correlacionadas com alterações da salinidade em períodos instáveis.

**Palavras-chave:** *Cyprideis remanei*, *Paleoambientes*, *Holocénico*, *Morfometria geométrica*

## ABSTRACT

In this study, eight samples, totalling 327 individuals of *Cyprideis remanei*, were analysed. These were collected in 2019 from Lake Nyalonzwele, Inhambane, Mozambique to understand the morphological changes in the left valve of adult ostracods of this species.

Photographic images of individuals from the eight selected samples were captured using a binocular microscope and Toupview software. The acquisition of morphological data from anatomical points (Landmarks, LM) in the 2D model was carried out using the TpsDig program. Anatomical data collection was defined in four regions of the valves (anterior, antero-dorsal, posterior, and ventral parts) and captured using 4 anatomical LMs to extract LM configurations, with an additional 44 sliding semilandmarks (sLMs) equidistantly placed.

For data analysis, Generalised Procrustes Analysis (GPA) was employed to superimpose the coordinates configurations, removing the effects of size, location and orientation of the *C. remanei* valves LM coordinates. The consistency, reliability, and precision of the markings were ensured through an intra-observer error test. The identification of outliers and the sex of the valves, as well as the effectiveness of the applied method, followed the approach of Hunt et al. (2017).

Principal Component Analysis (PCA) was used to reduce dimensionality and assess morphological variation and environmental variables (diatoms and sediments). Multivariate regression correlated the environmental data with the morphological findings. Non-parametric tests, such as Kruskal-Wallis followed by post-hoc Wilcoxon rank sum exact tests, were used for comparisons of the median size between samples.

The morphological results of male and female valves of *C. remanei* from Lake Nyalonzwele revealed occupation of distinct morphospaces between the sexes, influenced by adaptive factors associated with unstable or transitional environments. Analyses performed on the female's subset indicated significant variations in valve shape and size, linked to environmental fluctuations between 7,100-1,800 years BP, alternating between humid and arid periods.

Climate changes, such as increased rainfall with the transition to a more humid climate, also influenced human behaviour and occupation of the region, with records of migration and settlement of hunter-gatherers and farmers from around 5,050 BP. Changes in the valves morphology reflect these fluctuations, with evidence of higher salinity fluctuations affecting shape and size in unstable periods.

**Keywords:** *Cyprideis remanei*, *Palaeoenvironments*, *Holocene*, *Geometric morphometrics*

# ÍNDICE

DECLARAÇÃO.....	iii
AGRADECIMENTOS .....	vi
RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	x
SIGLAS .....	xvii
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Estrutura do trabalho .....	2
1.2. Holocénico.....	4
1.2.1. Alterações paleoambientais durante o Holocénico e o seu impacto nas populações Humanas na África Austral.....	5
1.3. Ostracodos e o género Cyprideis.....	8
1.3.1. Ostracodos como modelo de estudo num contexto de reconstrução paleoambiental no Holocénico .....	10
1.4. Morfometria Geométrica .....	11
1.4.1. Morfometria aplicada em ostracodos como método para paleoreconstrução ambiental.....	13
1.5. Enquadramento geográfico: Lago Nyalonzelwe, Inhambane.....	14
1.6. Objectivos.....	16
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
2.1.1. Recolha das amostras dos ostracodos, diatomáceas e tamanho do grão sedimentos.....	17
2.1.2. Lavagem das amostras dos ostracodos, diatomáceas e dos sedimentos .	18
2.1.3. Triagem e identificação das amostras dos ostracodos e das diatomáceas	19
2.1.4. Critérios da selecção das amostras .....	20
2.2. Digitalização e aquisição de dados morfológicos.....	21
2.2.1. Fotografias .....	21

2.2.2.	Aquisição de dados morfométricos .....	22
2.3.	Análise morfológica .....	25
2.4.	Erro intra-observador.....	26
2.5.	Identificação de outliers e dos sexos com base no método de Hunt et al. (2017) 27	
3.	RESULTADOS.....	28
3.1.	Erro intra-observador.....	28
3.2.	Teste de sensibilidade do método para a identificação sexual em <i>Cyprideis remanei</i> .....	28
3.4.	Análises das variáveis ambientais: análise do tamanho de grão e diatomáceas 37	
4.	DISCUSSÃO.....	39
4.1.	Variações morfológicas em machos e fêmeas de <i>Cyprideis remanei</i> .....	40
4.1.1.	Variações morfológicas em fêmeas de <i>Cyprideis remanei</i> .....	40
4.2.	Impacto das variáveis ambientais na morfologia da valva dos <i>C. remanei</i> ....	41
4.3.	As populações Humanos e as mudanças ambientais .....	42
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	45
	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	47
	ANEXO .....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Localização geográfica de Moçambique (A); Localização geográfica do Lago Nyalonzelwe e geologia da planície costeira da região sudeste de Moçambique (B); Fotografia aérea do lago Nyalonzelwe (C) (Fonte: Gomes et al., 2023).....	15
<b>Figura 2:</b> Representação da extracção dos sentimentos no nível mais profundo do lago, com uma jangada e um Piston Livingstone (fotografia InMoz 2019) .....	18
<b>Figura 3:</b> Lupa binocular, utilizada para a identificação, triagem das amostras e fixação das valvas dos ostracodes nos slides (A) (Fonte: Maria João Martins, 2024); Slide com as valvas dos ostracodes fixadas utilizando pincel, água e cola UHU (B); Quarteador utilizado na divisão aleatória da amostra em alíquotas estatísticas iguais (C) (Fonte: Barata, 2021). .....	20
<b>Figura 4:</b> Microscópio binocular Nikoni-SMZ 800N (A); Camara XM Full HD (B); Iluminação (C); slide com as valvas de ostracodes (D); manipulação do microscópio e da luz para obtenção das fotografias (E) (Fonte: Patrícia Simão, 2024).....	22
<b>Figura 5:</b> Representação da digitalização dos semilandmarks em quatro segmentos: primeiro segmento com 12 sLMs; segundo segmento com 14 sLMs; terceiro segmento com 14 sLMs; quarto segmento com 12 sLMs. ....	23
<b>Figura 6:</b> Representação do ficheiro sliders com os LMs e sLM que serão deslizados no Geomorph.....	24
<b>Figura 7:</b> Número total de indivíduos por sexo de acordo com as amostras.....	29
<b>Figura 8:</b> Análise de PCA. Representa a morfologia da valva dos ostracodes agrupados de acordo com o sexo e com a identificação dos dois indivíduos (1 macho e 1 fêmea, amostra 1-5_30-32) agrupados de maneira anormal com base no método de Hunt et al., (2017) (seta vermelha) (A). Representa a morfologia da valva dos <i>C. remanei</i> agrupados por amostra (machos e fêmeas) (B).....	30
<b>Figura 9:</b> Representa o <i>boxplot</i> da variabilidade do tamanho (avaliada através do tamanho do centroide) das oito amostras analisadas. <i>Boxplot</i> com o conjunto de dados completo (A) com diferenças estatisticamente diferentes identificadas na Tabela 3.1; <i>boxplot</i> representa o dimorfismo sexual dos indivíduos (B).....	33
<b>Figura 10:</b> Representa a morfologia da valva dos <i>Cyprideis remanei</i> (fêmeas). No gráfico (A) as amostras estão separadas por amostra e estes são apresentados independentemente; no gráfico (B) as amostras representadas conjuntamente e, conseqüentemente	

sobrepostas. As grelhas de transformação em (B) representam as diferenças geométricas associadas a cada um dos PCs (magnificadas por 2 para facilidade de visualização).... 35

**Figura 11:**Representa o boxplot do tamanho das valvas dos *C. remanei* em fêmeas (avaliada através do tamanho do centroide). ..... 36

**Figura 12:** Representa os PCA ambientais das diatomáceas e tamanho do grão do sedimento..... 38

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Representa a disparidade morfológica por amostra e dentro de cada amostra de acordo com o sexo; A negrito azul salientamos as amostras com maior disparidade e a negrito vermelho as amostras com menor disparidade morfológica. ....	31
<b>Tabela 2:</b> Representa comparação entre pares usando o Wilcoxon rank-sum exact test entre tamanho das valvas por amostra. Triângulo superior da matriz valores de W; triângulo inferior valores de p. Os p-valor são ajustados por Bonferroni e destacados a negrito quando são significativos. ....	32
<b>Tabela 3:</b> Representa comparação entre pares do tamanho das valvas das fêmeas por amostra. Triângulo superior da matriz valores de W usando Wilcoxon rank-sum exact test. Triângulo superior da matriz valores de W; Triângulo inferior valores de p-value. Os p-valor, são ajustados por Bonferroni e destacados a negrito quando são significativos. .	36
<b>Tabela 4:</b> Datação calibrada das amostras usando o programa online OxCal ( <a href="https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal.html">https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal.html</a> ). ....	61
<b>Tabela 5:</b> Representa espécimes na fase A-1 e valvas degradadas, que foram identificados como outliers. ....	62

**SIGLAS:**

**AHP** -African Humid Period/Período Húmido Africano

**BP** - Before Present/Antes do Presente

**LM** – Landmarks/Marcos Anatômicos

**sLMs** - semi-landmarks/ semi-marcos anatómicos

**GM** - Morfometria geométrica

**PCA** - Análise de Componentes Principiais

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os microfósseis têm sido ferramentas cruciais na reconstrução de ambientes antigos e padrões de vida, pois, preservam informações relativa às condições ambientais do meio onde viveram. Dentro dos diversos grupos de microfósseis explorados em estudos de paleoreconstrução ambiental, temos os ostracodos, pequenos crustáceos capazes de colonizar ambientes aquáticos diversificados, como águas doces, marinhas, salobras e semi-terrestres (Athersuch *et al.*, 1989; Holmes, 2001; Piovesan, 2008). Estes crustáceos têm sido pouco estudados na região da África Austral (Mozambique, África do Sul, Namíbia, Angola, Lesoto, Botswana, Madagáscar, Malawi, Essuatíni, Zâmbia, Zimbabwe e Ilhas Maurícias), no entanto, existem alguns trabalhos para compreender a sua distribuição espacial em relação a variáveis climáticas, ambientais e ecológica (por exemplo, Dingles & Honigstein, 1994; Scott *et al.*, 1995; Holmes & Chivas, 2002; Namiotko *et al.*, 2005).

A paleoreconstrução tem sido utilizada para responder a diversas problemáticas, desde questões relacionadas com a evolução geológica, climática e ambiental até questões ligadas à dieta e evolução de espécies, incluindo o *Homo sapiens* (Meneses, 1999; Granja, 2014; Leiss, 2018). Contudo, nas últimas décadas, o interesse pelo impacto das mudanças ambientais na evolução humana cresceu, especialmente em relação ao impacto de factores ambientais no desenvolvimento das sociedades humanas (p. ex. padrões de assentamento e disponibilidade dos recursos alimentares; Bradley, 2014; Wood, 2019).

A região sul de Moçambique possui grande potencial para o estudo das alterações climáticas, ambientais e da presença do Homem Anatomicamente Moderno (HAM), com registos de ocupação desde o Plistocénico até ao Holocénico (Meneses, 1999; Nora *et al.*, 2020). A região costeira de Inhambane, em particular, é constituída por lagos e dunas, onde os diversos cursos de água que drenam do interior são desviados, formando lagos e lagoas ao longo da costa (MICOA, 2012). Essas características fazem com que os ambientes lagunares sejam menos afectados pelas correntes marítimas, favorecendo a preservação de registos sedimentares e indicadores (p. ex., ostracodos, diatomáceas, foraminíferos, pólen) que auxiliam na reconstituição das mudanças paleoambientais e da evolução humana na região de Inhambane (Oliveira *et al.* 2009; Holmgren *et al.*, 2012; Norström *et al.*, 2012 e 2017; Siteo *et al.*, 2017).

Nesta tese, desenvolve-se uma metodologia para estudar a variação da morfologia (tamanho e geometria) de uma espécie de ostracodo em relação às alterações ambientais ocorridas no Holocénico médio e final. Especificamente, foram analisadas valvas de indivíduos de *Cyprideis remanei* e sua aplicação como indicadores de períodos de estresse ecológico, os quais podem ser correlacionados com os registos da ocupação humana. Para esse efeito, a variação morfológica dos ostracodos foram quantificadas por meio da Morfometria Geométrica e a sua co-variação correlacionada com variáveis ambientais disponíveis. A Morfometria Geométrica (MG) é um método de análise que permite realizar a quantificação, análise e interpretação das estruturas biológicas (Bookstein, 1991; Kranioti & Michalodimitrakis, 2009; Zelditch *et al.*, 2012; Mitteroecker *et al.*, 2013), possibilitando assim, avaliar mudanças morfológicas dos ostracodos e a sua relação com indicadores ambientais.

Diante desse contexto, coloca-se a seguinte questão: *De que modo a morfologia da valva pode servir como um indicador das alterações paleoambientais durante o Holocénico médio e final?*

### **1.1. Estrutura do trabalho**

O **capítulo corrente** integra o estado da arte e está subdividido em cinco subcapítulos. O primeiro é referente ao Holocénico e as alterações paleoambientais e o seu impacto sobre a população Humana na África Austral. O segundo é atinente aos ostracodos, o género *Cyprideis* e a sua aplicação na reconstrução paleoambiental durante o Holocénico. O terceiro subcapítulo faz a contextualização da técnica de MG e sua integração em estudos de ostracodos como um método de paleoreconstrução ambiental. O quarto subcapítulo apresenta o enquadramento geográfico de Moçambique, com foco na província de Inhambane e no lago Nyalonzwele, além da caracterização climática e geológica da região. Por fim, o quinto subcapítulo descreve os objectivos do presente estudo.

No **segundo capítulo**, aborda-se os métodos e materiais utilizados no trabalho de campo e laboratorial (i.e., recolha, lavagem e identificação das espécies de ostracodos). O trabalho laboratorial que integra o trabalho feito por mim, inclui a aquisição e digitalização dos ostracodos, os métodos utilizados na análise morfológica, na identificação dos *outliers* e dos sexos, a análise estatística para identificar diferenças na

forma e tamanho das valvas entre as amostras, bem como sua correlação com variáveis ambientais disponíveis.

O **terceiro capítulo** apresenta os resultados do trabalho, integrando as análises da geometria e tamanho dos ostracodos, realizadas em machos e fêmeas, a análise dos dados referentes ao subconjunto das fêmeas, e a análise dos parâmetros ambientais e como estes se relacionam com alterações da forma das valvas das fêmeas.

O **quarto capítulo** refere-se à discussão, subdividida em três partes: A primeira parte faz a contextualização geral do trabalho; a segunda parte discute os resultados da análise em machos e fêmeas e posteriormente, do subconjunto dos dados referentes às fêmeas; a terceira parte, debruça sobre as análises ambientais correlacionadas com a variação da forma e tamanho das valvas nas fêmeas, seguida de dois exemplos práticos de aplicação do método para identificar períodos de alteração ou estresse ambientais, além de discutir a influência dessas alterações nas populações Humanas locais.

O **quinto capítulo** versa sobre as considerações finais do trabalho, limitações e pesquisas futuras.

## 1.2. Holocénico

O Holocénico iniciou há cerca de 11.700 anos BP, estando subdividido em três épocas com base no “*Global Boundary Stratotype Section and Point (GSSP)*”: **Greenlandiano** (Holocénico inicial: 11.700 anos BP-8.200 anos BP), **Northgrippiano** (Holocénico médio: 8.200 anos BP-4.200 anos BP), e o **Meghalayano** (Holocénico final: 4.200 anos BP até ao período contemporâneo) (Cohen *et al.*, 2013; Walker *et al.*, 2019). Este período é marcado pela subida do nível do mar e mudança do padrão da vegetação, sendo essa época identificada como o período quente contemporâneo (Rapp & Hill, 1998). O período é igualmente caracterizado por oscilação climática (p. ex. ciclos de clima árido e húmido) que causaram alterações dos ambientes e da paisagem (i.e., alteração da flora e fauna de um determinado local) (Mangerud *et al.*, 1974; Bond *et al.*, 2001; Walker *et al.*, 2019).

No máximo climático do Holocénico, o clima global tornou-se mais quente (11.700-5.500 anos BP; Walker *et al.*, 2009). No continente africano, o *African Humid Period* (AHP; 14.000 – 4.000 anos BP), que cobre parte do Holocénico, foi caracterizado pelo aumento geral da precipitação, resultando na expansão dos rios e lagos (DeMenocal *et al.*, 2001). A diminuição da temperatura no Neoglacial, com a redução da insolação no Hemisfério Norte (4.000 – 5.000 anos BP), antecipou o fim do AHP, provocando alterações nos padrões de chuva e na sua intensidade, caracterizadas por variações regionais e temporais (DeMenocal *et al.*, 2001). Nas zonas de latitudes altas (regiões polares), o período foi marcado pelo arrefecimento e formação do gelo (Mangerud *et al.*, 1974; Giosan *et al.*, 2018). Nas latitudes médias (trópico de câncer) e baixas (equador e trópico do capricórnio) o período foi caracterizado por condições mais áridas e redução da chuva (condições mais secas) (Booth *et al.*, 2005; Wanner *et al.*, 2015; Weiss, 2016). Esse evento afectou os ecossistemas dos recursos hídricos (Bond *et al.*, 2001; Goldstein *et al.*, 2022).

No entanto, os biomas estabelecidos nos últimos 6.000 anos BP no sul do continente africano mantiveram-se até os dias de hoje (Kusimba, 2003), com as flutuações nos padrões de precipitação exercendo o maior impacto sobre o nível de produtividade de cada região e, conseqüentemente, nos padrões de assentamento das populações humanas (Mitchell, 2013).

Apesar de haver poucos estudos na província de Inhambane que cubram o período em estudo, os modelos isostáticos realizados por Norström e co-autores (Norström *et al.*, 2012) na baía de Massaca, região de Vilankulos (6.600 anos BP – período contemporâneo)

indicam que o nível do mar atingiu seu do seu máximo por volta do Holocénico médio (6.300 anos BP), seguido de um declínio contínuo durante o Holocénico tardio (4.700-1.000 anos BP). Holmgren e co-autores (Holmgren *et al.*, 2012) verificaram que o lago Nhauhache, em Vilankulos, secou várias vezes por curtos períodos durante os últimos 2.300 anos BP, sugerindo variações nos níveis de precipitação. Os multi-indicadores recolhidos no lago Nyalonzwele (região de Inhambane) apontam para um período histórico de instabilidade climática e ambiental entre 7.100-1.800 anos BP (Nora *et al.*, 2020; Martins *et al.*, 2021).

### **1.2.1. Alterações paleoambientais durante o Holocénico e o seu impacto nas populações Humanas na África Austral**

Durante o Holocénico inicial, o continente africano foi marcado por alterações climáticas e ambientais. Em resposta a essas constantes mudanças paleoambientais, o modo de vida das comunidades caçadoras-recolectoras passou por mudanças significativas (Adamowicz, 1987; Sadr, 2013).

O AHP (Período Húmido Africano) trouxe aumento da precipitação para todo o continente, com a expansão dos rios e sistema de lagos (DeMenocal *et al.*, 2001), como por exemplo, na região oriental do continente africano (a região inclui Burundi, Comores, Djibouti, Eritreia, Etiópia, Quênia, Madagáscar, Malawi, Maurícias, Moçambique, Ruanda, Seicheles, Somália, Sudão do Sul, Tanzânia, Uganda e Zâmbia; Kusimba, 2003). A presença do clima húmido na África do Sul entre 6.800 - 3.600 anos BP favoreceu a maior ocorrência de florestas, bem como a propagação de mangais, pântanos e possivelmente, florestas ribeirinhas (Neumann *et al.*, 2011).

Essas mudanças ambientais afectaram a disposição dos assentamentos, a dieta alimentar e o estilo de fabrico de ferramentas líticas dos diferentes grupos de caçadores-recolectores, com variações regionais de acordo o bioma e recursos disponíveis. Por exemplo, os caçadores-recolectores que habitavam próximo a lagos e rios desenvolveram uma economia e tecnologia (instrumentos líticos) associada à pesca (Goldstein *et al.*, 2022). Nas margens do lago Turkana a pesca era suplementada pela caça de animais de grande porte (Kusimba, 2003). Já os grupos do interior (região mais árida como nas savana e regiões de montanha) focavam-se principalmente na caça (o tamanho dos

animais terrestres variava de acordo com o bioma específico) e na colecta de frutos silvestres, vegetais e tubérculos. A tecnologia lítica estava mais adaptada a esses hábitos alimentares (Mitchell, 2013).

Com o fim do AHP (4.000 BP; Goldstein *et al.*, 2022), as alterações nos padrões de precipitação afectaram a disponibilidade dos recursos (Mitchell, 2013). Como consequência, o modo de vida das comunidades caçadoras-recolectoras na região sul do continente sofreram novas mudanças significativas, com variações geográficas e temporais dependendo do início e da intensificação dessas mudanças. Nas margens do lago Victória, por exemplo, o consumo de peixe continuou a ser uma importante fonte de proteínas, tal como a recollecção de moluscos (Kusimba, 2013). No entanto, os caçadores-recolectores em regiões de lagos de menores dimensões provavelmente dependiam das estações anuais para a prática de determinadas actividades: durante as estações secas eles produziam microlíticos (p. ex., lanças e setas) para caça de diversos animais; no período mais húmido, a sua dieta alimentar era mais dependente da pesca e da recollecção de moluscos (Adamowicz, 1987; Kusimba, 2003).

Na fronteira entre a Zâmbia e Moçambique especificamente em Nampula (norte de Moçambique), houve um registo da entrada dos caçadores-recolectores San através dos rios Lúrio e Ligonha (possivelmente vindo da Zâmbia) durante o Holocénico médio e final (5.050-3.050 BP) (Adamowicz, 1988; Robinson & Rowan, 2017). San é um termo usado para designar grupos diversos de caçadores-recolectores, família linguística Ju mas incluindo outros como grupos pastores que vivem na África Austral e que partilham uma ligação histórica e linguística (Smith, 2014; Hitchcock, 2014). Actualmente, a região da África Austral contém grupos de caçadores-coletores, como os Tuu e Ju (Mitchell, 2013), que podem ser atribuídos a duas famílias linguísticas associadas a caçadores-recolectores: Tuu e Kx'a, respectivamente (Fehn *et al.*, 2022), cujas semelhanças genéticas e arqueológicas apontam para um alargado contacto entre grupos recolectores africanos desde a costa Este até à costa Oeste do continente (Fehn *et al.*, 2022).

A alteração de padrões de pluviosidade e temperatura com o fim do AHP podem ter influenciado a dispersão de grupos de pastores e agricultores das regiões de origem para a África Austral e Este 5.000 - 2.000 anos BP. A pastorícia e agricultura surgiram na África do Norte (Saara e Sahel) e África central (rio Nilo) por volta de 7.800 - 6.000 anos BP (Mazoyer & Roudart, 2008; Smith, 2014). Por volta de 5.000 anos BP, o fim do período húmido no Saara levou à migração destes pastores (Smith, 2014). A presença de animais

domésticos no nordeste do Quênia, por volta de 3.000 - 2.800 anos BP, confirma a movimentação de grupos de pastores para o sul do continente africano (Marshall *et al.*, 1984; Barthelme, 1985). Quais os grupos de pastores/região de origem responsáveis pela introdução da prática da pastorícia na África Austral é ainda um tópico em aberto (Smith, 2014). Uma terceira família linguística - Khoe-Kwadi – inclui grupos de regiões, culturas e economias distintas, nomeadamente caçadores-colectores e pastores (Fehn *et al.*, 2022). Uma hipótese é que a entrada de animais domésticos (ovelhas) no sul do continente ocorreu com a migração dos Khoe de regiões mais a norte (Smith, 2014). Posteriormente, grupos de agricultores (pertencentes a uma quarta família linguística – Bantu; ver mais à frente) chegam à região trazendo plantas e bovinos domesticados (Fehn *et al.*, 2022). Outros investigadores acreditam que foi a migração dos grupos de agricultores e criadores de gado Bantu que introduziu a prática e espécies domésticas na África Austral (Wright, 2023).

É por volta dos 3.000 anos BP que se registam os primeiros grupos agricultores na região Este de África. Ao contrário da pastorícia cujas espécies domesticadas são externas ao continente africano (Smith, 2014), várias plantas foram domesticadas no continente africano, como o sorgo (Sahel; Wright, 2023) ou o tefe (Ethiopia; Germer, 1985). No entanto, a expansão da agricultura e bovinos para a África Austral é em geral atribuída à migração dos Bantu (Smith, 2013; Fehn *et al.*, 2022).

Os Bantu começaram a migrar c. 5.000 anos BP da sua região de origem, região esta que corresponde actualmente ao sudeste da Nigéria e ao oeste dos Camarões (Patin *et al.*, 2014; Fehn *et al.*, 2022). Estes povos expandiram-se posteriormente para a África Oriental, Central e Austral, difundindo as línguas e práticas agrícolas Bantu. A rota seguida durante a expansão ainda é discutível (Semo *et al.*, 2019; Fortes-Lima *et al.*, 2024), mas novos dados apontam para Moçambique como um importante ponto de passagem da expansão do povo Bantu dos grandes lagos para a África do Sul (Semo *et al.*, 2019). Actualmente, são o grupo mais numeroso na África Austral e pertencem à quarta família linguística – Bantu (Fehn *et al.*, 2022).

O processo de expansão dos falantes da língua Bantu foi relativamente rápido, como indicado pela baixa introgressão genética com caçadores-recolectores locais, de acordo com dados genómicos recentes (Fortes-Lima *et al.*, 2024). As sociedades falantes de língua Bantu estabeleceram-se na área que é actualmente Moçambique cerca de 1.550 BP (400 AD) (Macmillan, 2020). A introgressão genética é assim posterior aos primeiros

grupos Bantu a passar na região (1.200 BP; Semo *et al.*, 2019), e quando os grupos falantes de língua Bantu já tinham chegado à África do Sul.

No sul de Moçambique os Bantu podem ter surgido do norte do rio Zambeze, através de movimentos populacionais que seguiam as correntes hídricas e começaram a se espalhar gradualmente nas bacias fluviais costeiras (Sinclair 1991). Por exemplo, em Chibuenene, Inhambane, evidencia-se a presença das comunidades agricultoras já estabelecidas por volta de 1.350 - 1.550 anos BP com a tradição Gokomere/Ziwa e Matola que estão associadas aos grupos do norte da Tanzânia (Kawle) e no Quênia através da cerâmica triangular incisa que esses grupos usavam para armazenar e confeccionar os seus alimentos (Badenhorst *et al.*, 2014).

Desta forma, o Holocénico final foi predominado por grupos de agricultores e pastores e de caçadores-recolectores, que viviam da caça selvagem, e coexistindo e/ou adaptando práticas de cultivo/pastorícia de acordo com o registo arqueológico com identificação de gado doméstico, como por exemplo à c. 1.600-800 anos BP no sul da Tanzânia-Makwe e lago Malawi (Robinson e Rowan, 2017; Chritz *et al.*, 2015). Em Moçambique, nas províncias de Niassa, Cabo Delgado, Inhambane há registos arqueológicos de trocas comerciais por volta de 1.500 BP entre populações de agricultores Bantu e os caçadores-recolectores San, de acordo com os utensílios de cerâmica encontradas na estação de Riane (Adamowicz, 1987; Sadr, 2013) e os vestígios de missangas e cerâmica vidrada (Ekblom, 2008 e 2014). No entanto, muitos grupos de caçadores-recolectores tiveram de abandonar as regiões mais produtivas ocupadas actualmente pelos Bantu e descendentes (Smith, 2014).

### **1.3.Ostracodos e o género Cyprideis**

Os ostracodos pertencem à classe Ostracoda e são crustáceos bivalves que datam desde o Ordoviciano, com uma carapaça composta por duas valvas articuladas dorsalmente (Holmes & Chivas, 2002). Os ostracodos são capazes de ocupar e colonizar uma grande diversidade de ambientes de água doce, marinhos, intersticiais e semi-terrestres (p. ex., solos de pântanos e folhagem húmida), podendo atingir cerca de 0,5 – 2 mm de comprimento na fase adulta. Esses crustáceos apresentam o maior registo fóssil de todos os artrópodes, tendo os bentónicos (pequenos crustáceos que vivem no fundo de

ambientes aquáticos) o maior número de espécies e com um bom registo fóssil devido à sua maior facilidade de se calcificar (Holmes, 2001; Horne *et al.*, 2002; Piovesan, 2008).

Para atingirem a fase adulta, os ostracodos sofrem oito mudas desde a eclosão do ovo até chegar à fase adulta. A primeira até a última fase do juvenil (ou instar) é designado por “A-8” a “A-1” respectivamente, e a fase adulta é designado por “A”. Durante o crescimento do ostracodo não só ocorre a transformação da muda da valva, mas também o nível da complexidade e a calcificação da valva aumenta, simultaneamente com as modificações no complemento dos apêndices (partes moles) (Holmes, 2001). Na fase de transição de juvenis A-1 para adultos, é por vezes difícil fazer a sua identificação ou distinção por causa da semelhança com a valva adulta, correndo o risco de confundir os ostracodos juvenis dos adultos.

A distribuição espacial e ecológica dos ostracodos está relacionada com factores químicos, físicos e biológicos (p. ex., salinidade, temperatura, granulometria de substratos, profundidade da água e disponibilidade alimentar; Holmes, 2001; Worzna *et al.*, 2022; Mazzini *et al.*, 2022). Por via destes, os ostracodos são qualificados como excelentes indicadores biológicos para a reconstituição de paleoambientes (Horne *et al.*, 2002; Piovesan, 2008).

Por exemplo, Frenzel *et al.*, (2012), observou uma relação entre a salinidade e a ornamentação da valva na formação dos nódulos nos *Cyprideis torosa*. No entanto, essas características não são consideradas uniformes por Harten (2000), pois, o nível de pH e CO<sub>2</sub> dissolvido controla a ornamentação da valva. Por outro lado, Frenzel (1991) e Barba (2010) observaram percentagens mais elevadas de valvas noduladas nas populações sujeitas a uma salinidade mais baixa, mas não foi detectada qualquer correlação linear. Alcorlo *et al.*, (1999), concentraram-se na compreensão da diversidade genética da população de indivíduos adultos de *Heterocypris barba* geneticamente idênticos (espécie com reprodução assexuada) em condições controladas. Os autores consideram que a temperatura, fotoperíodo e condutividade afectam o desenvolvimento intra-clonal e partenogénico dos ostracodos. Estes trabalhos são exemplos da ligação do desenvolvimento das valvas em ostracodos com as condições aquáticas prevalentes onde estes habitam, provando o amplo potencial do uso do grupo em paleoreconstrução ambiental.

A espécie *Cyprideis remanei* em estudo tem uma distribuição restrita à África Austral, nomeadamente, África do Sul, Namíbia (Wouters, 2003) e actualmente identificada em

Moçambique (Martins *et al.*, 2021). No entanto, o género *Cyprideis* é notável pela sua ampla distribuição geográfica, abrangendo a Ásia, África e Europa (Sandberg & Plusquellec, 1974; Dingle & Honigstein, 1994; Wouters, 2003). O género destaca-se pela sua alta tolerância a variações de temperatura, salinidade e a diferentes condições de oxigénio e substrato. A espécie-tipo do género, *C. torosa*, tem sido extensivamente estudada em campos, como a geoarqueologia, paleoecologia e biogeografia, contribuindo significativamente para o conhecimento nestas áreas (Frenzel & Boomer, 2005; Frenzel *et al.*, 2012; Cabral *et al.*, 2017; Mazzini *et al.*, 2022; Wrozna *et al.*, 2022).

### **1.3.1. Ostracodos como modelo de estudo num contexto de reconstrução paleoambiental no Holocénico**

O estudo dos ostracodos teve início no século XIX, porém inicialmente, esses estudos estavam concentrados somente nos estudos taxonómicos dos fósseis, não abordando a reconstituição dos paleoambientes. As primeiras pesquisas estratigráficas surgiram cerca de 50 anos mais tarde (Hartmann, 1966). Durante as décadas de 60 e 70 do século passado, começaram a emergir os primeiros estudos voltados para a reconstituição dos ambientes antigos (Griffiths & Holmes, 2000). Dolorme apresentou o primeiro modelo interpretativo em 1971 e desenvolveu a teoria da fauna em 1989 para quantificar as mudanças físicas, químicas e climáticas ao longo do tempo, através de conjunto de ostracodos fósseis obtidos em arquivos de sedimentos, trazendo uma revolução na precisão do estudo dos paleoambientes e na avaliação do paleoclima (Askin & Jacobson, 2003; Viehberg & Joanes, 2012).

Por exemplo, Wrozna *et al.*, (2022) realizaram estudo do tamanho, variabilidade, taxonomia e implicações ecológicas dos *C. torosa* no Holocénico. Através desse estudo foi possível constatarem que o tamanho das carapaças do ostracodo depende de factores ambientais, assim como biológicos. Outro exemplo, nas valvas de *C. salebrosa* nota-se uma tendência de crescimento rápido em temperaturas baixas em relação a época do Verão (Meyer *et al.*, 2016; Schweitzer & Lohmann, 1990). Essas características também são verificadas em *Loxoconcha matagordensis* por Cronin *et al.* (2005). Ao contrário das espécies anteriormente citadas, indivíduos da espécie *Mytilocypris henricae* tendem a crescer mais rapidamente em condições mais quentes (Martens, 1985).

Os assentamentos das sociedades pré-históricas e as suas actividades produtivas foram maioritariamente estabelecidas em áreas sob a influência de águas continentais e marinhas, áreas muito influenciadas por condições ambientais e climáticas (Boomer & Eisenhauer, 2002; Marriner *et al.*, 2010). Desta forma, e de acordo com Mazzini *et al.* (2022), os ostracodos marinhos e marginais marinhos, tornam-se um excelente indicador para as análises paleoclimáticas, paleoambientais e antrópicas de uma determinada região devido a sua alta capacidade de colonizar rapidamente novos ambientes e sobreviver em ampla gama de salinidade, tornando-se uma ferramenta versátil para a compreensão da interacção do homem e o ambiente em período geológico específico.

Actualmente, o uso de ostracodos em paleoreconstrução ambiental inclui várias metodologias. Para além do estudo do conjunto de espécies, como indicador do tipo de ambiente, há trabalhos de morfometria (p. ex., indicado acima em relação à variação do tamanho da valva em *C. salebrosa* e correlação com a temperatura) ou o uso de regressão em isótopos para reconstruir a salinidade ou temperatura (Pint *et al.*, 2015; Horne *et al.*, 2002a; Frenzel *et al.*, 2012; Wrozna *et al.*, 2022).

Na presente tese, foca-se no uso de morfometria geométrica em *C. remanei* para a análise da mudança da sua forma e tamanho em conformidade com o ambiente.

#### **1.4.Morfometria Geométrica**

A análise morfométrica é um método aplicado no estudo da variação da forma de determinado organismo ou estrutura biológica, que vem sendo usado desde o final do século XIX, através das pesquisas realizadas por Galton (1822-1911), Weldon (1860-1906) e Person (1857-1936), que tinham o intuito de analisar a morfologia dos organismos através de medidas lineares (distâncias, ângulos, áreas e volumes). No entanto, esse método era de uso limitado, pois, os dados que o método fornecia não eram precisos e por esse facto, gerava resultados ambíguos (Monteiro & Reis, 1999).

Para ultrapassar as limitações da morfometria convencional, foram desenvolvidas outras técnicas de análise morfométrica. Entre essas destaca-se a Morfometria Geométrica (MG), que utiliza um conjunto de métodos para a aquisição, processamentos e análises de variáveis da forma, que retém todas as informações geométricas contidas nos

indivíduos, usando um conjunto de dados/coordenadas (2D=X e Y ou 3D=X, Y, Z) de marcos anatómicos de um determinado espécime (Slice, 2005; Zelditch *et al.*, 2012). Com base nos trabalhos levados a cabo por Goodall (1983) e Bookstein (1984) foi possível estabelecer uma análise estatística para o estudo da forma num espaço multivariado e foi proposto um novo método geométrico para estudar diferenças da forma em configurações de marcos anatómicos (Landmarks ou LM) (Marcus *et al.*, 1996). No entanto, a maior visibilidade dos métodos de morfometria geométrica ocorreu nos anos de 1990, quando Rohlf desenvolveu uma série de programas de análise geométrica para microcomputadores (Monteiro & Reis, 1999; Zelditch *et al.*, 2004; Mitteroecker & Gunz, 2009).

A MG representa os métodos que aderem rigorosamente a aquisição e análise exaustiva da variação da forma dos organismos (Slice, 2005) considerando a **posição relativa** das estruturas. Os dados utilizados vão além do uso das medidas lineares, permitindo-nos quantificar, descrever e comparar a forma dos organismos biológicos, incluindo a posição relativa das diferentes estruturas estudadas, através das coordenadas cartesianas dos marcos anatómicos (LM) seleccionados. A co-variação da morfologia com outras variáveis de interesse pode ser analisada para examinar o que explica as diferenças morfológicas observadas (Godinho & Gonçalves, 2020).

Os LM utilizados na morfometria geométrica referem-se a pontos anatomicamente homólogos (“equivalentes”), definidos em uma estrutura que permite identificar as variações da forma entre as mesmas estruturas em diferentes objectos em estudo, através da posição e orientação da estrutura no espaço. Para além dos LM convencionais, há os semilandmarks (sLM), usados para representar ou mostrar regiões que não podem ser amostradas com LMs convencionais (i.e., a superfície de um osso craniano, em que não há quaisquer marcos anatómicos que possam ser identificados discretamente) sendo a sua posição determinada pela posição dos LM adjacentes e pela forma da estrutura de interesse (Rohlf, 2015; Mitteroecker & Gunz, 2009).

Para aquisição das coordenadas desses pontos anatómicos podem ser usados diversos programas, como por exemplo, o conjunto de programas TPS (p. ex., *Thin Plate Splines Digitalization* (TpsDig)) para obtenção de coordenadas X e Y (Zelditch *et al.*, 2012; Rohlf, 2015).

A aquisição dos LM e sLM é um dos aspectos preponderantes para a análise da forma. Consequentemente, essa fase deve ser realizada tendo em consideração o objectivo de estudo, de modo a cobrir adequadamente a morfologia do organismo, mas prevenir que haja pontos de referência com uma variância excessiva (Zelditch *et al.*, 2004; Zelditch *et al.*, 2012).

#### **1.4.1. Morfometria aplicada em ostracodos como método para paleoreconstrução ambiental**

No início do século XX, D'Arcy W. Thompson, em 1917, dá um destaque no uso da morfometria tradicional na sua obra intitulada “*On Growth and Form*”, criando um método para analisar as mudanças morfológicas dos ostracodos e preservar as informações da forma de um determinado espécime como um todo (i.e., uma técnica gráfica que analisa mudanças na forma biológica como distorções de sistemas de coordenadas cartesianas (Baltanas & Danielopol 2011). Desde então, vários trabalhos surgem conciliando o estudo dos ostracodos e a morfometria. Por exemplo, Roberts *et al.* (2002), em seu trabalho revelam a mudança e déficit no desenvolvimento morfológico em *Limnocythere inopitada*, provocado pelos factores ambientais, como a salinidade, durante o Holocénico final no nordeste da Nigéria. Para tal, realizou a medições das valvas nos ostracodos, usando o método morfométrico tradicional para verificar a variação morfológica existente.

No entanto, Kesling (1951) entre outros autores, perceberam que a morfometria tradicional apresenta diversas limitações. As variáveis utilizadas representam uma percentagem inferior da informação sobre a forma e apresentam dificuldades em lidar com tamanho e forma como características morfológicas distintas, embora sejam relacionadas (Baltanas & Danielopol, 2011). Diante disso, a morfometria geométrica começou a ser aplicada em ostracodos. Por exemplo, Frenzel e Boomer (2005) focaram-se na análise da aplicação em ostracodes de águas salobras para reconstrução paleoambiental no Quaternário inicial e para estudos ambientais em ambientes actuais.

Ligos e Gliozzi (2012) realizaram estudos em *Cyprideis* do Neogeno, utilizando abordagens da morfometria geométrica, baseados na metodologia proposta por Baltanas *et al.*, (2006). Com o objectivo de analisar e comparar os contornos das valvas de diferentes populações de *Cyprideis*, visando identificar possíveis sinónimos e variações

morfológicas entre as espécies. Eles concluíam que a morfometria geométrica é eficaz para distinguir espécies entre populações, fornecendo uma base sólida para revisões taxonómicas futuras. Por outro lado, Ruiz *et al.*, (2013), utilizam técnicas de morfometria geométrica para analisar variações morfológicas em ostracodos, incluindo espécies do género *Cyprideis*. Esses autores discutiram como essas variações podem estar associadas a mudanças ambientais induzidas por actividades humanas.

Mais recentemente, Gliozzi *et al.*, (2017) investigaram a origem mediterrânea neogénica de *C. torosa*, analisando populações vivas e recentes de *C. torosa* em diferentes ambientes de salinidade para definir sua variabilidade morfológica. Além disso, examinaram várias espécies neogénicas para identificar possíveis ancestrais dessa espécie.

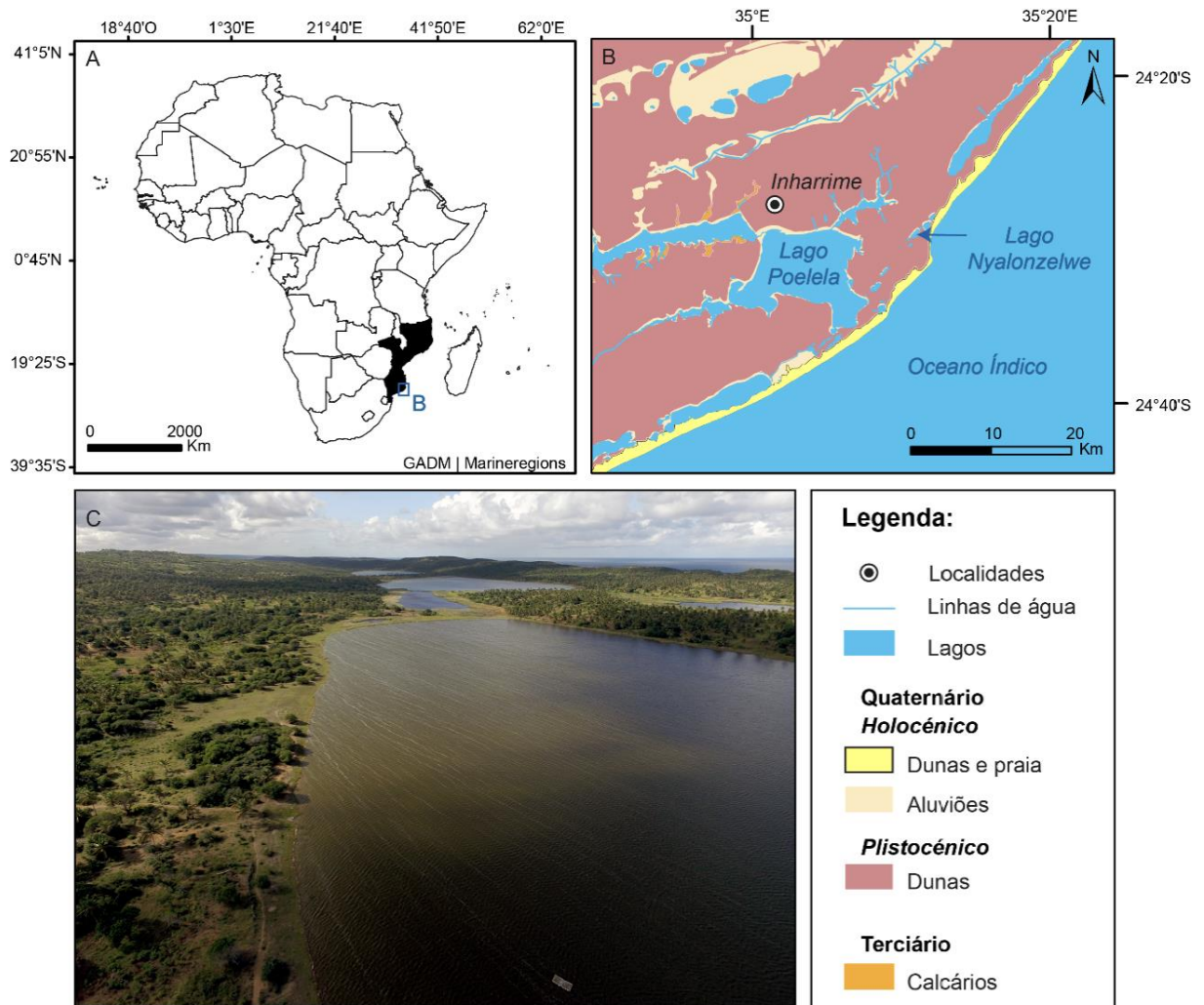
### **1.5. Enquadramento geográfico: Lago Nyalonzelwe, Inhambane**

A província de Inhambane localiza-se na região sul de Moçambique. A região costeira, encontra-se a oeste da província, com 9 km da linha da costa do oceano Índico e cobre os distritos de Jangamo, Morrumbene, Massinga e Inharrime.

O lago Nyalonzelwe encontra-se localizado no distrito de Inharrime, cerca de 94 km a sul de Inhambane e a 1,7 km a linha recta da costa (latitude de 24°29'56.34"S e longitude de 35°11'11.39"E; Figura 1).

A província de Inhambane apresenta um clima tropical, influenciado pela sua localização na zona dos alísios do sudeste, pela corrente marítima Moçambique-Agulha e pelas diferentes altitudes e, a forma como as parcelas estão expostas (Muchangos, 1999). Verifica-se que ao longo da costa é caracterizado por um clima tropical húmido e no interior apresenta um clima tropical seco (Muchangos, 1999).

De acordo com a classificação de Köppen e Geiger o clima da região como "Aw" (clima de Savana tropical com estação seca; Muchangos, 1999). No que diz respeito a geologia, a região costeira de Inhambane apresenta é essencialmente composta por dunas (Figura 1-B; Carta Geológica, 2004-2005).



**Figura 1:** Localização geográfica de Moçambique (A); Localização geográfica do Lago Nyalonzelwe e geologia da planície costeira da região sudeste de Moçambique (B); Fotografia aérea do lago Nyalonzelwe (C) (Fonte: Gomes *et al.*, 2023).

## 1.6.Objectivos

Compreender a variância morfológica das valvas de ostracodes adultos de *Cyprideis remanei* e a sua relação com as variações ambientais, através da morfometria geométrica. Os dados utilizados correspondem a oito amostras recolhidas ao longo de uma sondagem provenientes do lago Nyalonzwele que datam do Holocénico médio ao final. Para esse efeito foram traçados os seguintes objectivos secundários:

- Adquirir imagens fotográficas das valvas dos ostracodes com o microscópio Nikoni-Alpha B series, digitalização e definição dos LMs e sLMs no contorno da valva do ostracodo, utilizando os softwares *TpsDig* e *TpsUtil*.
- Realizar Análise de Componentes Principais (PCA) como meio de avaliar diferenças de forma entre os sexos, confirmando se a metodologia aplicada nesse trabalho separa correctamente os sexos, comparando-a com outros métodos já publicados e aplicados em *Cyprideis*.
- Analisar estatística para a identificação das variâncias (disparidade morfológica) dos ostracodos, e diferenças entre as amostras e sexos.
- Avaliar tamanho (*centroid size*), disparidade morfológica, e de PCA para compreender as mudanças no tamanho e geometria das valvas do mesmo sexo (fêmeas) ao longo do tempo. Esse objectivo vai permitir identificar se houve momentos com alterações significativas na forma e tamanho em valvas de *C. remanei* durante o período de ~7.100 - ~1.800 anos BP (e que corresponde ao período que enquadra as amostras analisadas).
- Analisar a regressão para compreender se os parâmetros ambientais disponíveis explicam a variação da forma (PC1 e PC2) das valvas nas diferentes amostras.
- Discutir dois exemplos práticos da aplicação do método desenvolvido no presente trabalho em contexto arqueológico: ligação de períodos de stress ecológico, i.e., momento em que a morfológicas das valvas é distinta, a períodos de interesse a estudar em populações humanas.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente capítulo é composto por duas partes, nas quais a primeira parte não teve a participação do autor da presente tese, nomeadamente, o trabalho do campo, recolha das amostras, lavagem das amostras, triagem e identificação da espécie e contagem dos ostracodos presentes nas amostras. A segunda parte foi realizada por mim, e corresponde à aquisição, digitalização, análise morfológica e análise de dados de valvas adultos da espécie salobra *Cyprideis remaneis*.

### **2.1. Trabalho do campo**

O trabalho do campo é o resultado do projecto InMoz (PTDC/HAR-ARQ/28148/2017), realizado em Maio de 2019. O projecto teve como intuito realizar pesquisas na região costeira de Inhambane com vista a estudar as alterações ambientais durante o Quaternário. O objectivo é compreender o impacto do desenvolvimento ecológico e as alterações climáticas e a evolução humana juntamente com os padrões de assentamento ao longo da região costeira. Um dos sítios pesquisados foi o lago Nyalonzwele (Gomes *et al.*, 2019), local de estudo da presente tese.

#### **2.1.1. Recolha das amostras dos ostracodos, diatomáceas e tamanho do grão sedimentos**

A sondagem analisada corresponde ao core designado por Nyalonzwele Core um (Nya-C1). As amostras exploradas na minha tese, correspondem aproximadamente à secção datada entre 7.100 - 1.800 anos BP, com a calibração das datações realizada usando o programa online OxCal (<https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal.html>) (Tabela 4 - anexo datação calibrada). Para a extracção das amostras, foi usado um Piston Livingstone, colocado numa jangada temporariamente fixa na secção mais profunda do lago (2.6 m medida com o Sonar portátil Vexilar LPS-1) (Figura 2; Gomes *et al.*, 2019).

Posteriormente, a sondagem foi descrita e cortada em intervalos de 2 cm. A análise dos ostracodos, granulometria, diatomáceas foram realizados a cada 10 cm do core do lago. As amostras para a análise de ostracodos foram de imediato preservadas em álcool de aproximadamente 70% (Martins *et al.*, 2021).



**Figura 2:** Representação da extracção dos sedimentos no nível mais profundo do lago, com uma jangada e um Piston Livingstone (fotografia InMoz 2019).

### **2.1.2. Lavagem das amostras dos ostracodos, diatomáceas e dos sedimentos**

Na lavagem das amostras dos ostracodos, após tratamento com peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) de 30% para a remoção da matéria orgânica (ca. 48h), o sedimento foi peneirado usando malhas de 250, 125 e 63  $\mu m$ . De seguida, as amostras foram colocadas a secar a uma temperatura de 50°C, por um período aproximado de 48h.

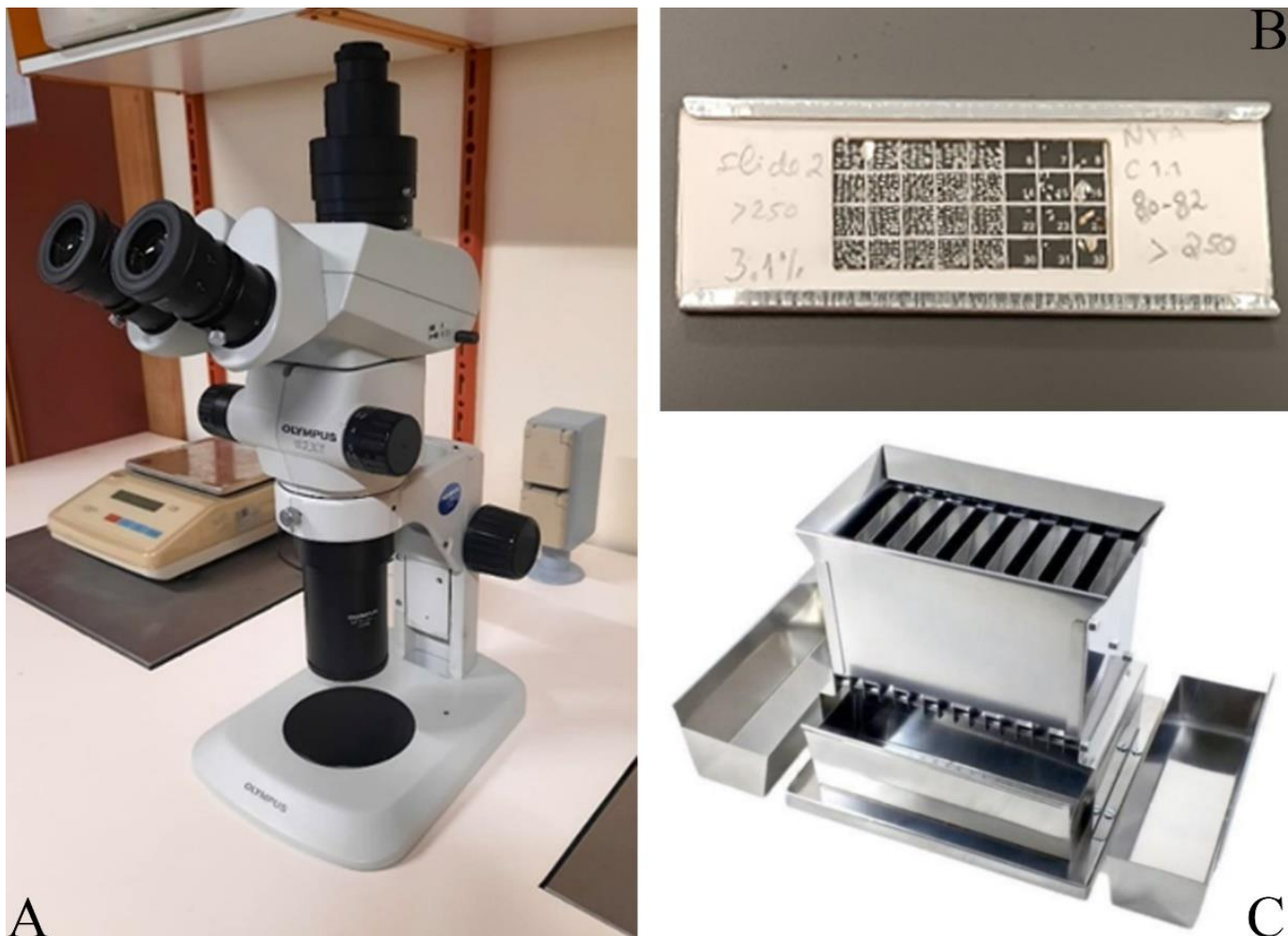
No que tange à lavagem dos sedimentos das diatomáceas, o sedimento foi tratado com  $H_2O_2$  a 30% (ca. 24h). Posteriormente, adicionou-se 25 ml de ácido clorídrico (HCl) a 10% para a exclusão dos carbonatos (ca. 24h) e, por fim, a amostra foi armazenada após o processo de limpeza (remeto a Gomes, 2015 para mais detalhes). Na análise de granulometria, as amostras foram peneiradas usando uma malha e o analisador de tamanho de Malvern Mastersizer para separar a granulometria fina (0.3–300  $\mu m$ ) da grossa (> 300  $\mu m$ ). A fracção grosseira foi seca numa estufa a 50° C e depois foi pesada. A fracção fina foi deixada em repouso (ca.72 h) e o excesso de água foi removida (ver Gomes, 2015 para mais detalhes).

### **2.1.3. Triagem e identificação das amostras dos ostracodos e das diatomáceas**

O processo da triagem e identificação das amostras foi possível com a utilização de uma lupa binocular *OLYMPUS SZX7* (Figura 3-A). Nesse processo os ostracodos foram transferidos individualmente para os slides de cartão (célula de arquivo em cartão) usando um pincel delineador fino humedecido com água (Figura 3-B). Uma camada fina de cola tipo *UHU*, aplicado com o pincel humedecido, foi adicionado a cada slide de cartão previamente para fixação das valvas.

As amostras analisadas são de indivíduos fossilizados e não há a separação quanto ao género (macho e fêmea). A identificação baseou-se em catálogos de referência.

As diatomáceas são uteis no estudo de ambientes antigos devido à sua capacidade de tolerar águas salgadas, salobras e água doce. A identificação das valvas de diatomáceas foi realizada utilizando uma AxioCam ICc1 acoplada a um microscópio óptico para fotografar todas as espécies encontradas, utilizando o programa AxioVision Rel. 4.8 para medições. A identificação foi feita consultando catálogos de referência e algumas páginas web especializadas (ver Gomes, 2015 para mais detalhe).



**Figura 2:** Lupa binocular, utilizada para a identificação, triagem das amostras e fixação das valvas dos ostracodes nos slides (A) (Fonte: Maria João Martins, 2024); Slide com as valvas dos ostracodes fixadas utilizando pincel, água e cola UHU (B); Quarteador utilizado na divisão aleatória da amostra em alíquotas estatísticas iguais (C) (Fonte: Barata, 2021).

#### 2.1.4. Critérios da selecção das amostras

A selecção de oito amostras analisadas baseou-se na informação referente ao número total de ostracodos/amostra ao longo a sondagem (i.e., secção da sondagem onde o ambiente do lago permitiu a conservação contínua de ostracodos em relação à secção da sondagem onde o número de ostracodos preservados varia) mas priorizando amostras com um número de indivíduos adultos mínimo (~30 indivíduos) que permitisse efectuar o estudo proposto.

O uso de valvas de ostracodos adultos baseia-se no facto de nesta fase eles não sofrerem nenhuma muda registando as variações ambientais no meio onde viveram a idade adulta (Holmes, 2001). Como meio de simplificar os procedimentos laboratoriais e de análise

(menos tempo e recursos), escolheu-se a valva esquerda, o que igualmente reduz a variação total na análise morfológica (Hunt *et al.*, 2017).

## **2.2. Digitalização e aquisição de dados morfológicos**

### **2.2.1. Fotografias**

As imagens fotográficas foram feitas em oito amostras diferentes na fracção 250  $\mu\text{m}$  (retém indivíduos adultos). As imagens fotográficas foram capturadas com um microscópio binocular (Nikoni-SMZ 800N- Alpha B series), camara XM Full HD-Alpha B series e Software *Toupview* (Figura 4-A, B, C e E). A separação entre adultos e juvenis (A-1) foi realizada previamente por mim.

A digitalização das imagens é um facto de extrema importância, pois, esse aspecto afecta directamente a aquisição da informação que os dados apresentam (Zelditch *et al.*, 2012). Por isso, primeiro teve-se de procurar uma orientação adequada para garantir uma orientação consistente dos espécimes. De seguida tive de manipular a luz e estabelecer os parâmetros de padronização exposição (150), o tempo da exposição (5s) e o *gain* (controle da amplificação do sinal do sensor da camara; valor = 1).

Após a padronização das imagens, fez-se a fotografia de cada indivíduo que se pretendia. Foram-lhes atribuídos o código único como forma de saber os identificar (exemplo: B13\_1.1\_10-12\_N18, em que B13 = número do rectângulo ou Box no slide, 1.1\_10-12= primeiro segmento do core 1 à profundidade de 10-12 cm, N = número do indivíduo na box).



**Figura 3:** Microscópio binocular Nikoni-SMZ 800N (A); Camara XM Full HD (B); Iluminação (C); slide com as valvas de ostracodes (D); manipulação do microscópio e da luz para obtenção das fotografias (E) (Fonte: Patrícia Simão, 2024).

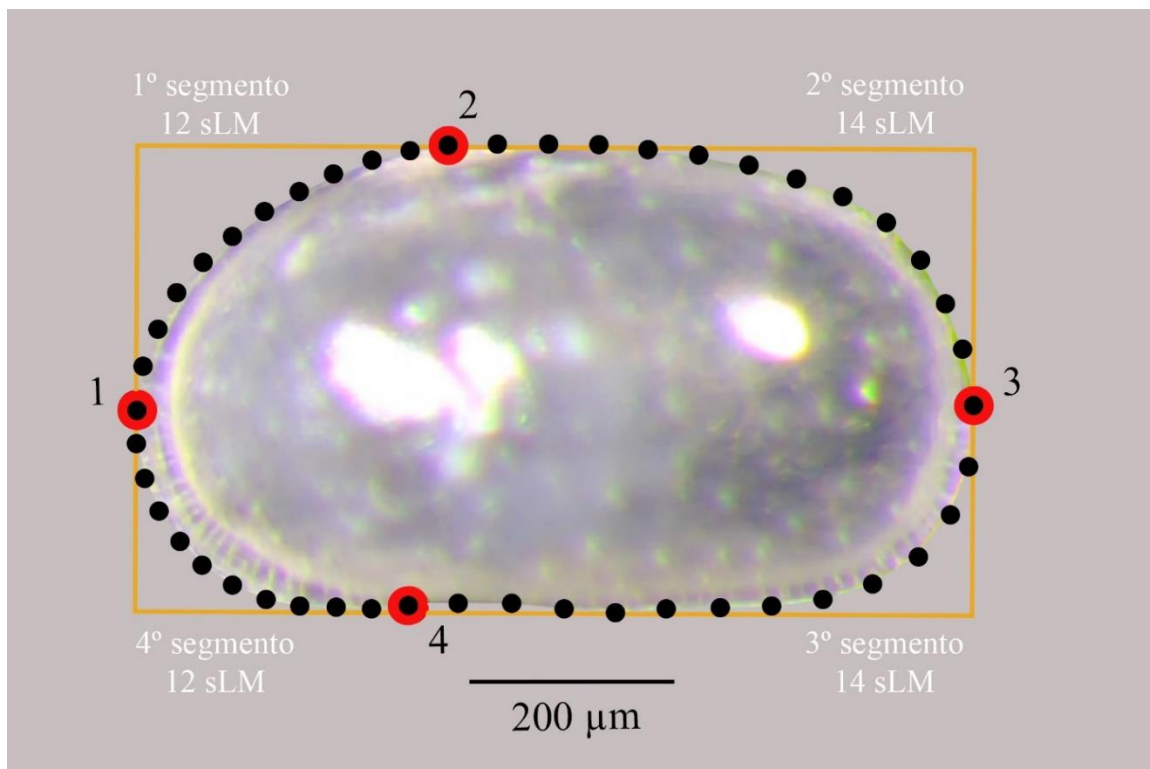
### 2.2.2. Aquisição de dados morfométricos

A aquisição de dados morfológicos baseou-se na recolha de coordenadas 2D (com eixos X e Y) de marcos anatómicos específicos no programa *Thin Plate Splines Digitalization* (TpsDig versão 2.32). A aquisição dos LM nas valvas dos ostracodos foi realizada em quatro extremidades da valva. Previamente, para identificar a extremidades da valva, adicionei um rectângulo a cada imagem no programa do Microsoft Office PowerPoint, de modo a delimitar as extremidades (Figura 5).

O primeiro LM (1) foi colocado na extremidade da região anterior, o segundo LM (2) na extremidade mais alta da região antero-dorsal, o LM (3) na extremidade da região posterior, e o LM (4) foi posicionado no ponto de fusão entre a lamela e a valva dorsalmente (Figura 5).

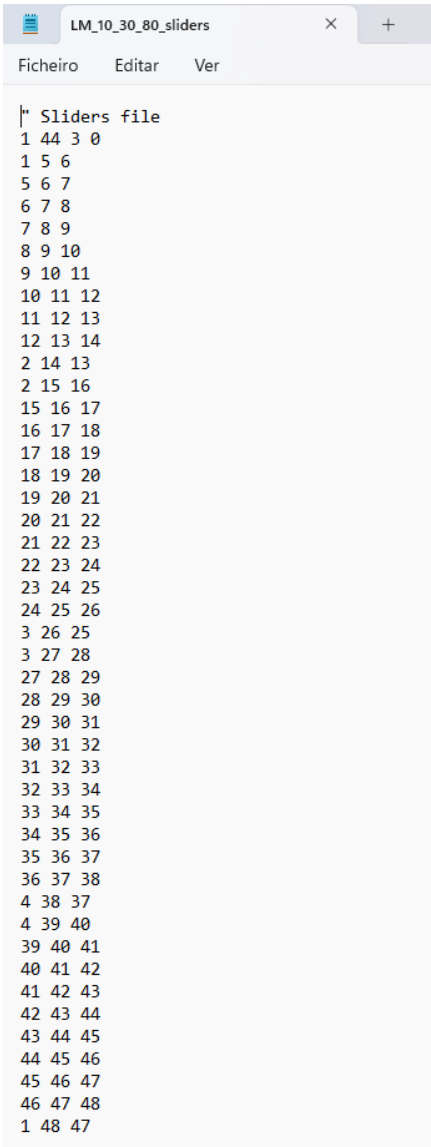
De seguida foram digitalizadas as semilandmarks deslizantes (sLM), com 44 pontos distribuídos em 4 segmentos. O primeiro segmento localiza-se entre a primeira e a segunda LM e tem 12 sLM. O segundo segmento localiza-se entre a segunda e terceira LMs e tem 14 sLM. O terceiro segmento localiza-se entre a terceira e quarta LM e tem 14 sLMs. Por fim, o quarto e último segmento localiza-se entre a quarta e primeira LM e tem 12 sLMs. As sLMs foram distribuídas de maneira equidistante em todos os segmentos (razão pela qual os segmentos mais longos têm mais LMs e os mais curtos menos LMs). Por fim, foram removidos o primeiro e o último sLM em cada segmento (que sobrepõe à marcação das LM). Consequentemente, nos segmentos mais curtos (primeiro e quarto) temos 10 sLMs e nos segmentos mais longos (segundo e terceiro) temos 12 sLMs (figura 5).

Importa referir que foram criados quatro segmentos de maneira a garantir a posição dos sLM relativamente aos LM de forma consistente entre indivíduos, como forma de prevenir que os sLM em alguns casos estivessem antes ou depois das coordenadas dos LM. Esta abordagem é consistente com a de outros estudos prévios (Evin *et al.*, 2013).



**Figura 4:** Representação da digitalização dos semilandmarks em quatro segmentos: primeiro segmento com 12 sLMs; segundo segmento com 14 sLMs; terceiro segmento com 14 sLMs; quarto segmento com 12 sLMs.

Subsequentemente, o ficheiro com as coordenadas LM e sLM foi submetido ao *Thin Plate Splines Utility* (TpsUtil, versão 1.83), no qual foi utilizada a função *Append Tps curves to Landmarks* para formar uma única lista contínua de pontos que integra os LMs e os sLMs. Em seguida, foi criado um ficheiro (*sliders file*) que identifica os LM e os sLMs que irão deslizar relativamente aos LMs (p. ex. o primeiro sLM vai ser deslizado entre o primeira LM e o segundo sLM; Figura 6). O ficheiro dos *sliders* será usado posteriormente para fazer o deslizamento no programa de R *Geomorph*.



```
LM_10_30_80_sliders
Ficheiro  Editar  Ver
|' Sliders file
1 44 3 0
1 5 6
5 6 7
6 7 8
7 8 9
8 9 10
9 10 11
10 11 12
11 12 13
12 13 14
2 14 13
2 15 16
15 16 17
16 17 18
17 18 19
18 19 20
19 20 21
20 21 22
21 22 23
22 23 24
23 24 25
24 25 26
3 26 25
3 27 28
27 28 29
28 29 30
29 30 31
30 31 32
31 32 33
32 33 34
33 34 35
34 35 36
35 36 37
36 37 38
4 38 37
4 39 40
39 40 41
40 41 42
41 42 43
42 43 44
43 44 45
44 45 46
45 46 47
46 47 48
1 48 47
```

**Figura 5:** Representação do ficheiro sliders com os LMs e sLM que serão deslizados no Geomorph.

### 2.3. Análise morfológica

Na análise e interpretação de dados morfológicos foi utilizado o *Geomorph*, um pacote de software R que permite realizar todos os procedimentos da análise morfométrica geométrica no ambiente de computação estatístico (Adams & Castilho, 2013). O *Geomorph* permitiu igualmente visualizar a variação morfológica representada por cada um dos componentes principais (ver abaixo) através de grelhas de transformação (Zelditch & Swiderski, 2021). Para a análise da forma, esse pacote utiliza (tal como outros programas de análise de morfometria geométrica) as configurações de coordenadas dos marcos anatômicos (neste caso adquiridas no *TpsDig*) para registrar as posições relativas dos pontos morfológicos.

As coordenadas dos marcos anatômicos adquiridas dependem obrigatoriamente do sistema de coordenadas em que os espécimes se encontram, assim como da sua localização, orientação e tamanho nesse mesmo espaço. Para permitir a análise morfológica dos espécimes com base nas coordenadas dos marcos anatômicos é, assim, necessário garantir que os espécimes se encontram no mesmo sistema de coordenadas, que têm o mesmo tamanho, a mesma localização e orientação. Para isso, utilizam-se sistemas de sobreposição das configurações de coordenadas dos marcos anatômicos, como, por exemplo, o *Generalized Procrustes Analysis* (GPA). O GPA permite realizar a sobreposição da configuração das coordenadas através do seu **redimensionamento**, removendo diferenças nas coordenadas devido exclusivamente a diferenças de tamanho, sem alterar a sua geometria (Godinho & Gonçalves, 2020). A **translação** permite remover o efeito da localização de todos os objectos de modo a partilharem o mesmo espaço. A **rotação** orienta todos os espécimes da mesma forma (Adams *et al.*, 2004; Mitterocker e Gunz 2009).

Com as coordenadas padronizadas dos marcos anatômicos, após o processo de sobreposição por GPA, permitiram a realização de análises comparativas mais precisas. Para analisar as diferenças do tamanho das valvas entre amostras, usando o tamanho do centroide, visualizado através dos *boxplots*, foram aplicados os testes estatísticos não paramétricos de *kruskal-wallis*, seguidos de testes *post-hoc* (*Wilcoxon rank sum exact test*) para identificar quais pares das amostras diferem entre si (Sokal & Rohlf, 1995). Utilizaram-se testes não paramétricos devido à distribuição, complexidade, multidimensionalidade e independência dos dados em análise (Obertova *et al.*, 2020). A

disparidade morfológica (i.e., análise de diferenças na variância das distâncias Procrustes dos diferentes grupos) entre as amostras foi analisada usando a função *morphol.disparity*.

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi aplicada para a redução de dimensionalidade e analisar a variação da forma dos ostracodos através da combinação de dados de diversas variáveis em Componentes Principais. Grelhas de transformação foram produzidas de forma a visualizar as diferenças morfológicas entre diferentes espécimes. As diferenças de geometria foram testadas utilizando um teste não paramétrico - *Permutational Multivariate ANOVA (PERMANOVA)* - para avaliar potenciais diferenças de forma multivariadas no subconjunto das fêmeas.

Além da análise das diferenças morfológicas entre amostras, dados da PCA também foram utilizados para compreender a influência das variáveis ambientais na morfologia dos ostracodos. Usou-se uma regressão linear múltipla multivariada, sendo a forma dos ostracodos (através dos PC1 e PC2) regredida contra as variáveis ambientais relevantes (i.e., diatomáceas de água doce, salobra, salgada, além de sedimentos como silte e cascalho). A selecção das variáveis ambientais relevantes foi feita através da PCA com os dados ambientais. Uma análise de correlação Pearson's foi aplicada para eliminar variáveis com correlação  $> 0.75$ .

#### **2.4. Erro intra-observador**

Para avaliar a confiabilidade, variabilidade e precisão das marcações realizadas (i.e., recolha de coordenadas de marcos anatómicos) em dias diferentes pelo mesmo utilizador, foi conduzida uma análise de erro intra-observador. Esse tipo de análise é importante para assegurar que as coordenadas dos pontos anatómicos foram registadas de maneira consistente (Berg *et al.*, 2007; Henson, 2020).

Para tal, cinco indivíduos foram seleccionados aleatoriamente para a digitalização adequada dos pontos anatómicos. Os indivíduos pertenciam a sexos e amostras diferentes, permitindo a verificação da consistência das marcações. A digitalização foi repetida três vezes, com um intervalo de três dias entre cada aquisição. Em seguida, os ficheiros com as coordenadas foram submetidos à GPA, que realizou o redimensionamento, translação e rotação dos espécimes. Por fim, as distâncias Procrustes foram usadas como métrica para calcular as variações entre as diferentes marcações. O critério para a consistência é

que maior a maior variação nas marcações do mesmo indivíduo (intra-indivíduos) seja menor do que a variação entre indivíduos (inter-indivíduos; Rosas *et al.*, 2017; Fernández-Navarro *et al.*, 2024).

## **2.5. Identificação de outliers e dos sexos com base no método de Hunt et al. (2017)**

Para confirmar a eficiência do método desenvolvido nesta tese, comparou-se a taxa de sucesso em distinguir os sexos nas várias amostras comparando com uma abordagem previamente publicada e testada em *Cyprideis* “vivos” (i.e., com estruturas reprodutivas presentes). A abordagem usada na identificação dos *outliers* e do sexo de cada valva foi publicada por Hunt *et al.*, (2017). Sucintamente, a abordagem usa os contornos de valvas de ostracodes individuais (com base em fotos e digitalização) que, ao serem aproximados a uma elipse, permite obter medidas lineares de altura (H comprimento do eixo menor) e largura (L eixo maior), e o tamanho do espécimen (área das valvas). O rácio (obtido com H/L) combinado com o tamanho da valva permite distinguir os sexos com a aplicação de *mixture model* (Hunt *et al.*, 2017). O mesmo método foi usado em três espécies de *Cyprideis* confirmando a eficácia do método (Martins *et al.*, 2018). Para mais detalhes sobre o método referimos a Hunt *et al.* (2017).

A comparação entre os métodos foi realizada através de PCA utilizando o software R, sendo os dados separados por sexo (machos e fêmeas, previamente identificado de acordo com Hunt *et al.*, (2017), com cada sexo marcado por uma cor diferente. A análise gráfica do PC1 e PC2 (que retêm a maior variação) permitiu agrupar os indivíduos conforme a sua geometria, e visualmente confirmar se havia uma separação entre sexos (i.e., separação de acordo com as cores) ou não.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Erro intra-observador

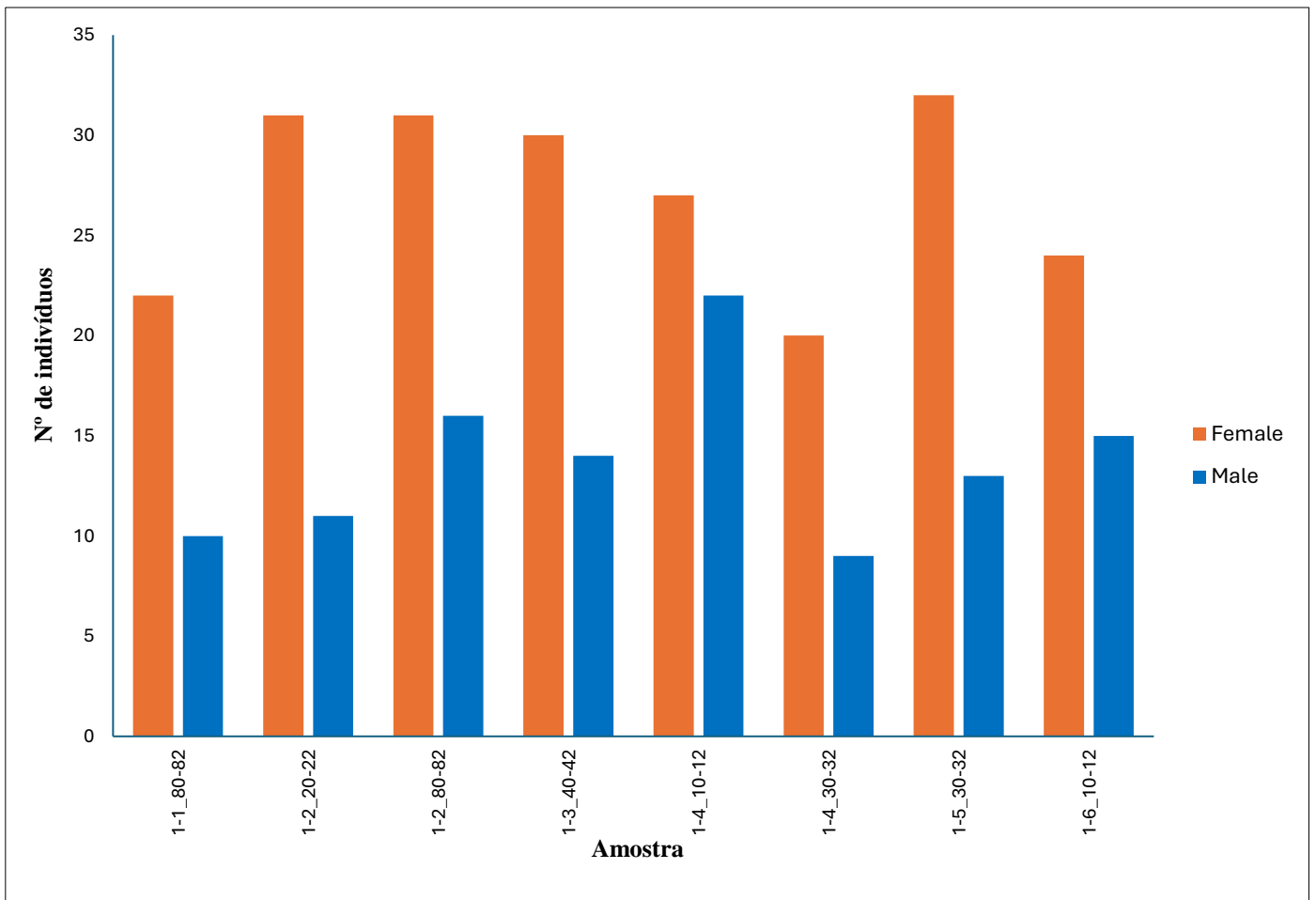
A análise das distâncias Procrustes entre os Landmarks (LM) de cinco indivíduos provenientes de amostras diferentes indica que a maior distância intra-indivíduo foi de 0.017, enquanto a menor distância inter-indivíduo foi de 0.019. Esses resultados sugerem que o erro introduzido durante a marcação dos LM nos indivíduos é aceitável, pois as variações dentro do mesmo indivíduo (intra-indivíduo) são menores do que as variações entre diferentes indivíduos (inter-indivíduos).

#### 3.2. Teste de sensibilidade do método para a identificação sexual em *Cyprideis remanei*

Foram analisadas oito amostras, nas quais obtivemos 340 fotografias da valva esquerda de indivíduos de *C. remanei* (N indivíduos/amostra = 29 a 49 por amostra; Figura 7). Posteriormente, os espécimes foram subdivididos por sexo, com a identificação efectuada com base no método de Hunt *et al.*, 2017.

Removeram-se indivíduos após uma análise preliminar, devido à ocorrência de espécimes na fase A-1 e valvas degradadas, que foram identificadas como *outliers* pelo método de Hunt *et al.* (2017) (N = 13; Tabela 5, em anexo). Dessa forma, retivemos 327 indivíduos para análise (N machos = 110; N fêmeas = 217).

Numa primeira fase, o presente método foi testado para confirmar se era sensível na análise morfológica das valvas. Para tal, comparou-se a consistência na identificação dos sexos em relação ao método desenvolvido por Hunt *et al.*, 2017. Verificou-se que o meu método concordou na identificação do sexo dos indivíduos em 99.38% dos casos. Apenas dois indivíduos (1 macho e 1 fêmea, amostra 1-5\_30-32) agruparam de forma ambígua (Figura 8-A, seta vermelha). Este resultado confirma a sensibilidade do método desenvolvido na presente tese para a análise das variações de morfologia das valvas.

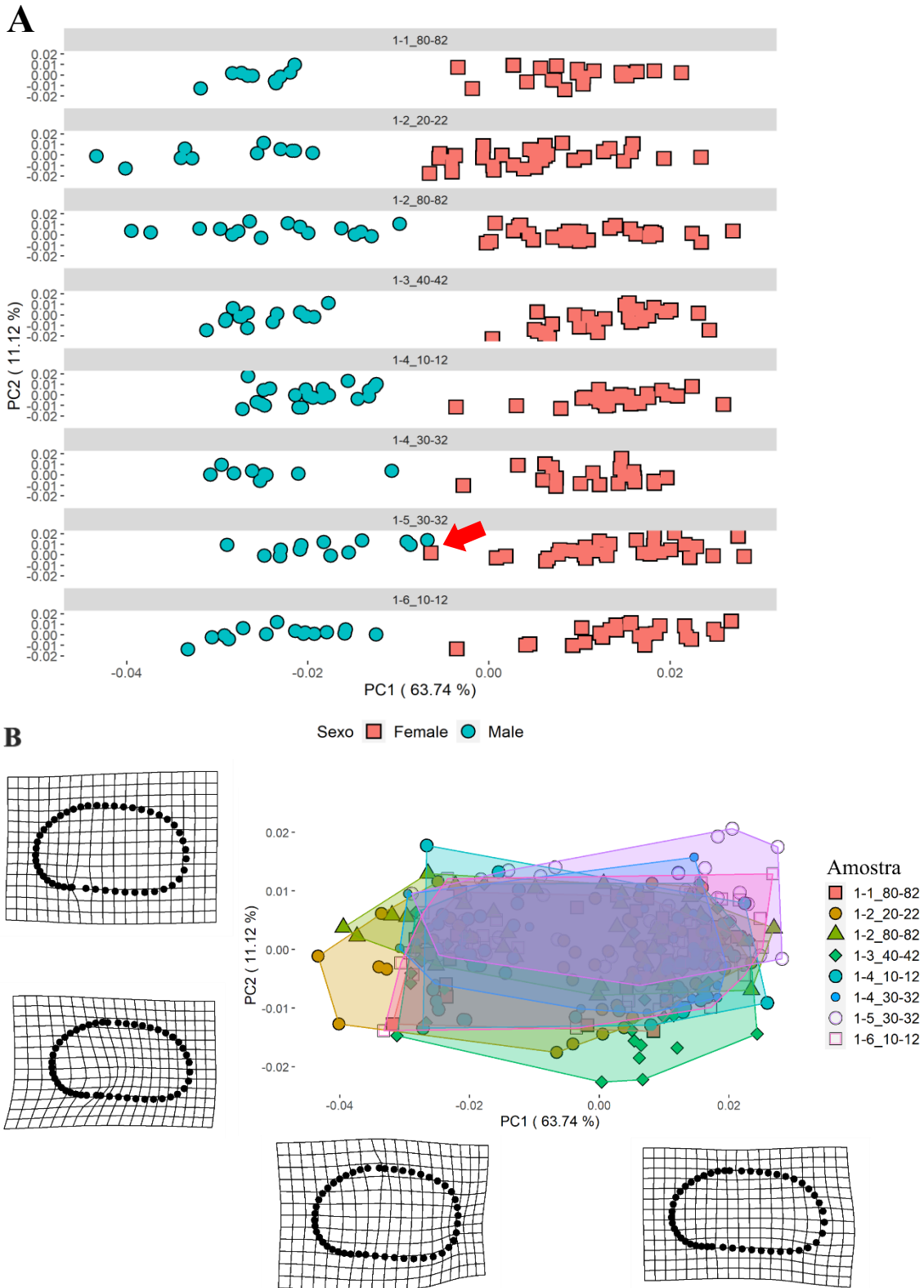


**Figura 6:** Número total de indivíduos por sexo de acordo com as amostras.

### 3.3. Análise morfológicas em machos e fêmeas de *C. remanei*

Na análise de componentes principais, baseada nos dados morfológicos de 327 espécimes, os dois primeiros componentes explicam 74.86% da variância total. O PC1 explica 63.74% da variância, e é dominado pelas diferenças da forma entre os sexos (i.e., os sexos ocupam um morfo-espaco distinto; Figura 8-B). Esses valores do PC1 estão associados com as grelhas de transformação, que apresentam valvas mais alongadas e achatadas. Nos valores positivos há ligeiras distorções no ântero-dorsal e ventral, enquanto nos negativos as valvas são arredondadas, com uma distorção mais proeminente na região ântero-dorsal, devido à maior complexidade da curvatura nessa região.

No PC2, as valvas nos valores positivos apresentam distorções nas regiões ântero-dorsal e ventral (Figura 8-B).



**Figura 7:** Análise de PCA. Representa a morfologia da valva dos ostracodes agrupados de acordo com o sexo e com a identificação dos dois indivíduos (1 macho e 1 fêmea, amostra 1-5\_30-32) agrupados de maneira anormal com base no método de Hunt *et al.*, (2017) (seta vermelha) (A). Representa a morfologia da valva dos *C. remanei* agrupados por amostra (machos e fêmeas) (B).

Os dados de disparidade na geometria (Tabela 1), confirmam que os sexos respondem às condições onde vivem de forma distinta nas distâncias Procrustes. Isto é, o grupo das fêmeas não apresenta maior disparidade na geometria consistentemente, apesar de ser o sexo em maior número de indivíduos sistematicamente. Igualmente, a diferença na disparidade morfológica por sexo dentro de cada amostra é equiparável às diferenças de disparidade morfológica entre níveis.

**Tabela 1:** Representa a disparidade morfológica por amostra e dentro de cada amostra de acordo com o sexo; A negrito azul salientamos as amostras com maior disparidade e a negrito vermelho as amostras com menor disparidade morfológica.

Variâncias Procrustes para grupos definidos								
Amostra	1-1_80-82	1-2_20-22	1-2_80-82	1-3_40-42	1-4_10-12	1-4_30-32	1-5_30-32	1-6_10-12
Todos os dados	<b>0.00041</b>	0.00048	0.00043	<b>0.00054</b>	0.00045	0.00046	<b>0.00041</b>	<b>0.00056</b>
Fêmeas	0.00017	<b>0.00023</b>	<b>0.00015</b>	<b>0.00025</b>	<b>0.00015</b>	0.00020	<b>0.00022</b>	<b>0.00022</b>
Machos	<b>0.00010</b>	<b>0.00029</b>	<b>0.00018</b>	0.00014	0.00017	<b>0.00013</b>	0.00015	<b>0.00018</b>

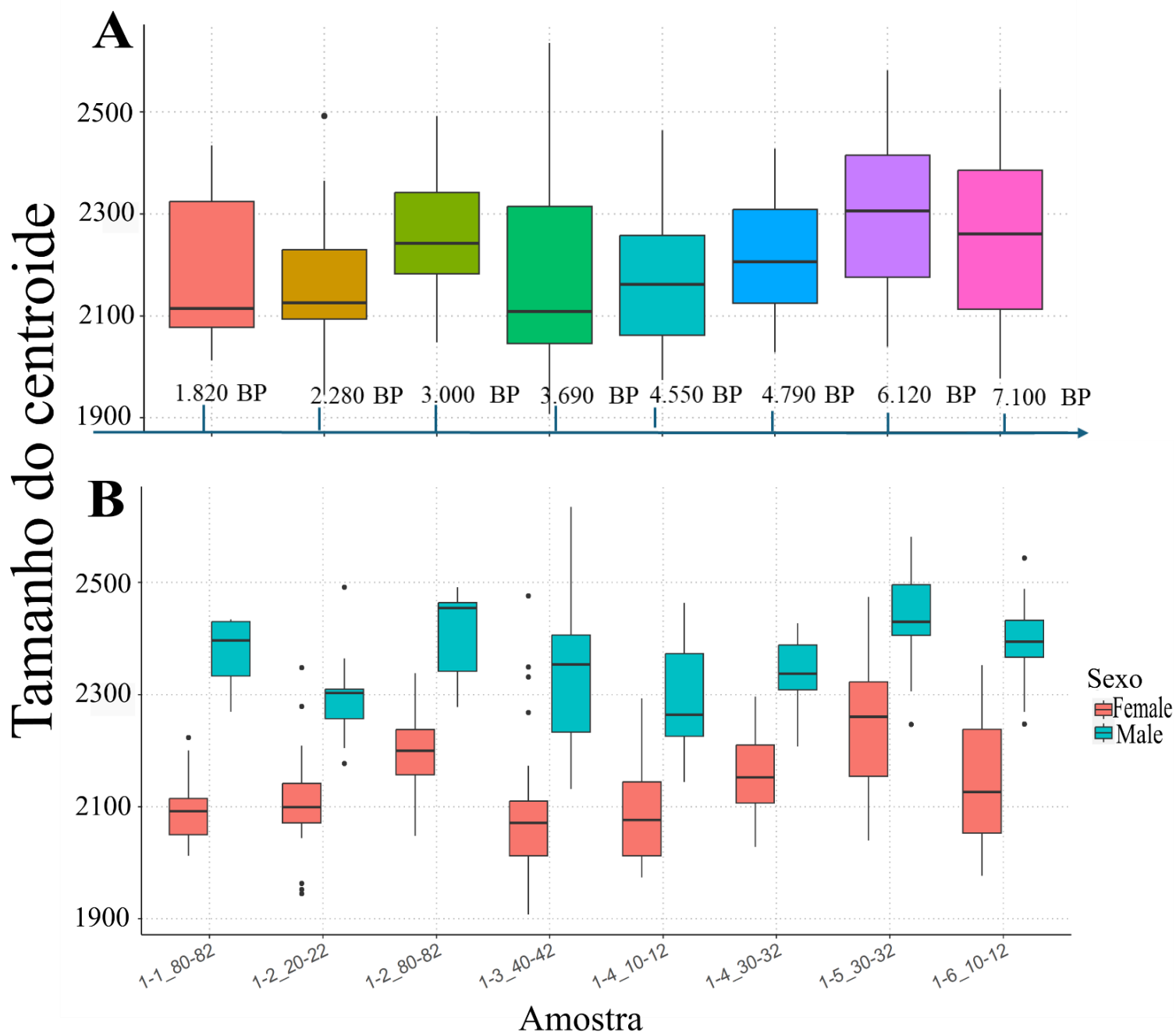
O teste de *Kruskal–Wallis* indica que há diferenças significativas de tamanho entre amostras ( $W = 40.716$ ;  $p\text{-valor} = <0.01$ ). Nomeadamente, as amostras com maior tamanho de centroide são as 1-2\_80-22 e 1\_5\_30-32, cuja posição da mediana difere estatisticamente das amostras 1-1\_80-82, 1-2\_20-22, 1-3\_40-42 e 1-4\_10-12, com base no teste *post-hoc*, *Wilcoxon-rank sum exact* (Figura 9-A; Tabela 2). Além disso, as amostras 1-4\_30-32 e 1-5\_30-32 tem posição da mediana estatisticamente distintas (Tabela 2).

**Tabela 2:** Representa comparação entre pares usando o *Wilcoxon rank-sum exact test* entre tamanho das valvas por amostra. Triângulo superior da matriz valores de W; triângulo inferior valores de *p*. Os *p*-valor são ajustados por Bonferroni e destacados a negrito quando são significativos.

Amostras	1-1_80-82	1-2_20-22	1-2_80-82	1-3_40-42	1-4_10-12	1-4_30-32	15_30-32	1-6_10-12
1-1_80-82	_____	671	432	762	782	375	382	488
1-2_20-22	0.99	_____	487	961	964	441	400	550
1-2_80-82	< 0.01	< 0.01	_____	1461	1581	865	930	996
1-3_40-42	0.67	0.81	< 0.01	_____	1017	484	519	633
1-4_10-12	0.99	0.71	< 0.01	0.72	_____	484	578	719
1-4_30-32	0.31	0.10	0.10	0.16	0.37	_____	406	488
1-5_30-32	< 0.01	< 0.01	0.45	< 0.01	< 0.01	< 0.01	_____	1059
1-6_10-12	0.19	< 0.01	0.63	0.10	0.10	0.45	0.18	_____

Ao representar os mesmos dados em *boxplot*, mas com a separação do tamanho das valvas por sexo e amostra (Figura 8-B), verificamos que os machos têm um tamanho de centroide maior que as fêmeas. No entanto, o dimorfismo sexual (i.e., diferenças entre tamanho mediano das fêmeas em relação aos machos) varia entre amostras, sugerindo que os sexos respondem de forma distinta às condições ambientais (Tabela 1).

Assim sendo, uma análise que compare variações na morfologia da valva entre amostras deve ser efectuada apenas no subconjunto de fêmeas, a fim de eliminar as diferenças entre os sexos. Uma vez que o número de fêmeas é superior ao número de machos no estudo, este subconjunto foi seleccionado para as análises subsequentes.



**Figura 8:** Representa o *boxplot* da variabilidade do tamanho (avaliada através do tamanho do centroide) das oito amostras analisadas. *Boxplot* com o conjunto de dados completo (A) com diferenças estatisticamente diferentes identificadas na Tabela 1; *boxplot* representa o dimorfismo sexual dos indivíduos (B).

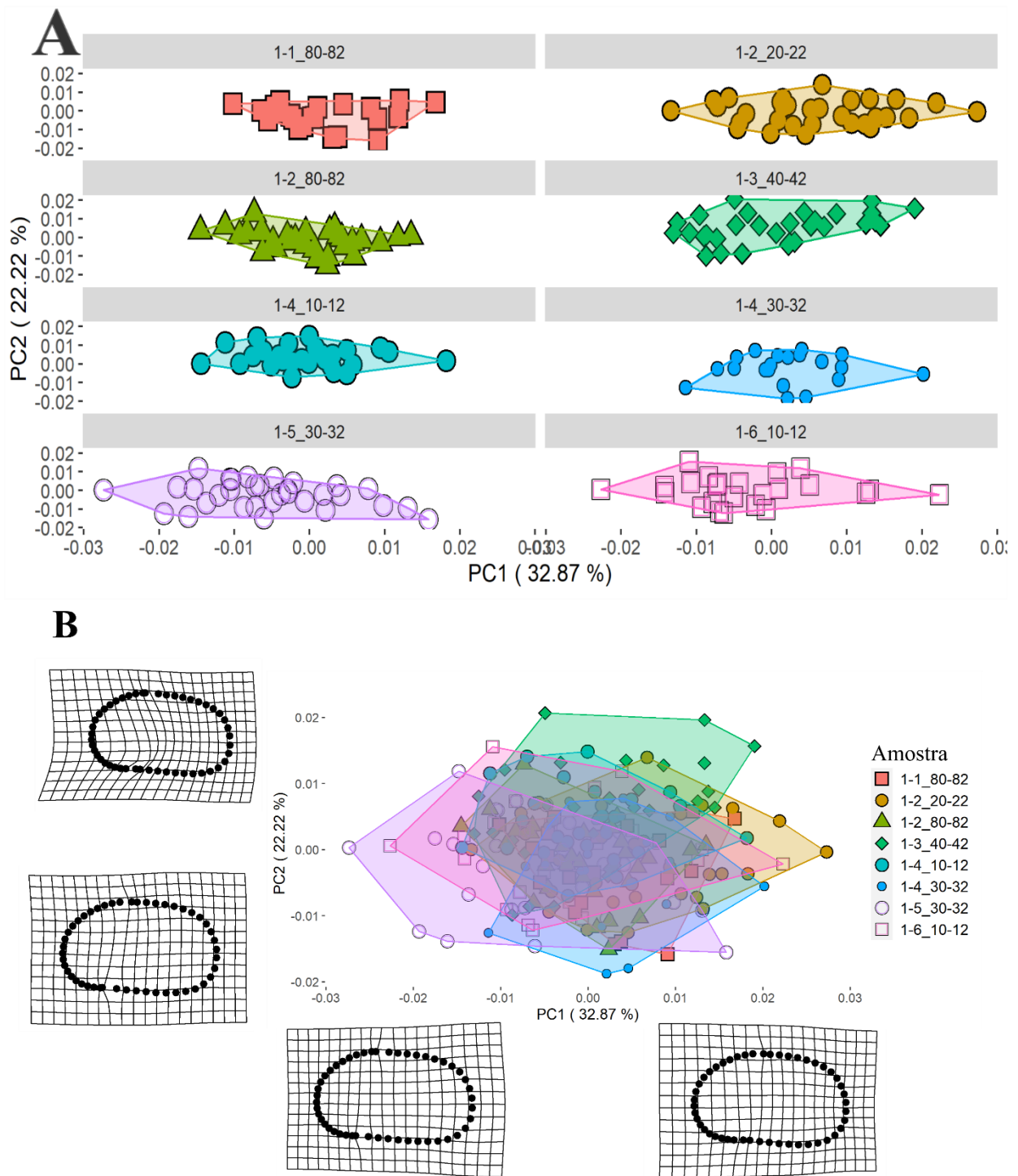
### 3.3.1. Análises morfológica em fêmeas de *Cyprideis remanei*

Na análise de PCA quanto à geometria do subconjunto fêmeas, os dois primeiros componentes, representados na Figura 10, explicam 55.09% da variância total. O PC1 explica 32.87% da variância morfológica e correlacionado com as grelhas de transformação demonstram que nos valores positivos, há uma pequena distorção nos pontos ântero-dorsal e posterior, nos valores negativos do PC1 das fêmeas, a concavidade dorsal é mais proeminente (Figura 10-B). O PC2, que explica 22.22% da variância, correlaciona-se com a presença mais ou menos acentuada do sulco central transversal da valva (Figura 10-B).

De modo geral, observa-se uma sobreposição na morfo-espaço entre as amostras. Contudo, os valores extremos negativos no PC1 são encontrados na amostra 1-5\_30-32, enquanto os valores positivos mais extremos na amostra 1-2\_20-22. No PC2, os valores positivos mais extremos são observados na amostra 1-3\_40-42.

Quanto aos valores do PERMANOVA indicam um poder explicativo de ( $R^2$  ajustado: **0.18**; F: 6.62;  $p$ -valor: **<0.01**).

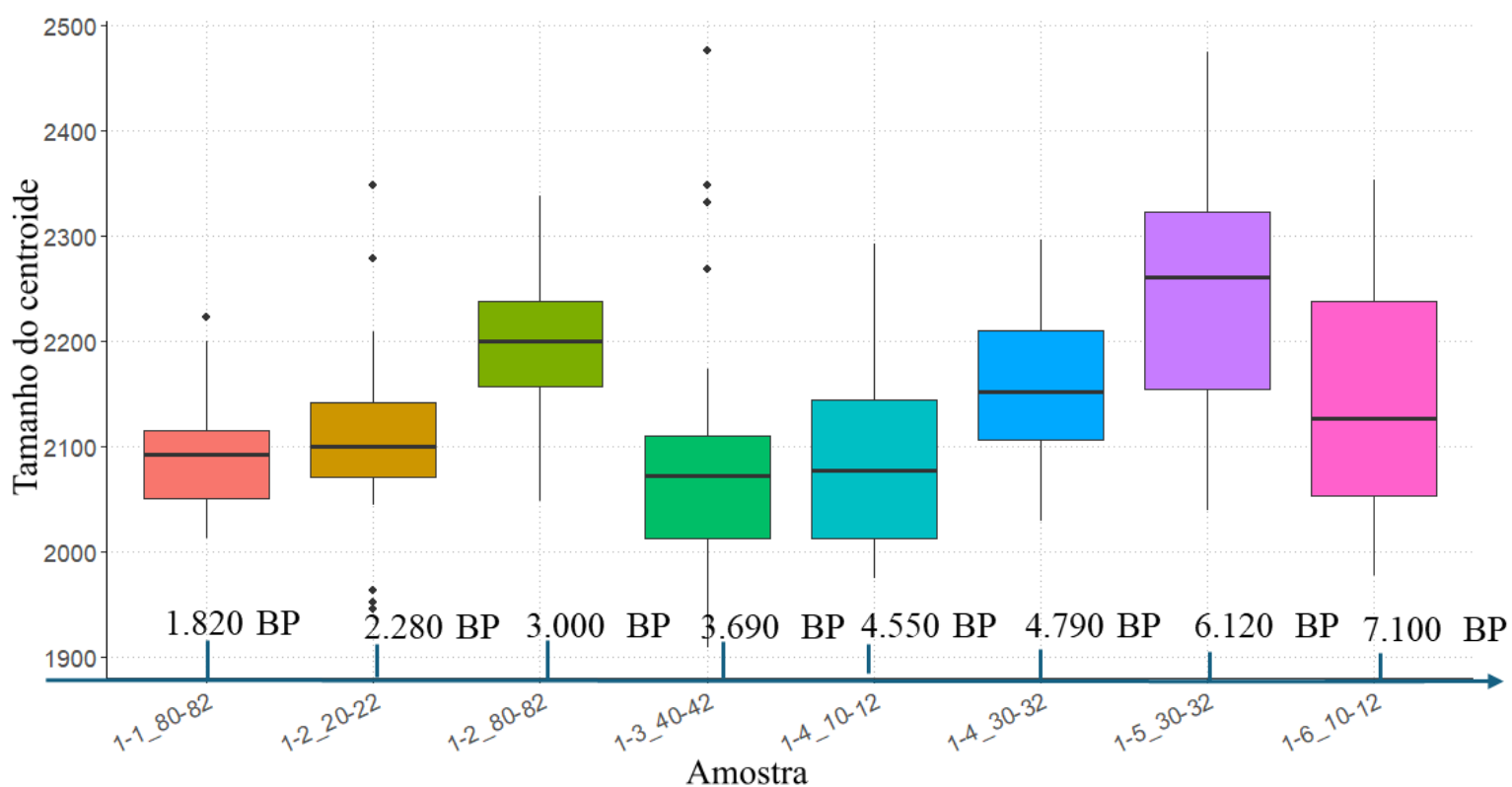
Na análise de tamanho do centroide, teste de *Kruskal–Wallis*, realizado no subgrupo das fêmeas, indica a existência de diferenças de tamanho entre as amostras ( $W = 59.328$ ;  $p$ -valor  $< 0.001$ ). Seguido de testes *post-hoc* de *Wilcoxon rank sum exact*, indicando que a amostra 1-2\_80-82 apresenta uma mediana estatisticamente superior em tamanho de centroide em comparação com as amostras 1-1\_80-82, 1-2\_20-22, 1-3\_40-42 e 1-4\_10-12 (Figura 11; Tabela 3). A amostra 1-5\_30-32 difere na posição da mediana em relação a todas as outras amostras excepto 1-2\_80-82. A amostra 1-4\_30-32, com a ausência de machos, contém espécimes com tamanhos maiores que as amostras mais recentes (1-1\_80-82), sendo estatisticamente distinto na posição da mediana em relação às amostras 1-3\_40-42, 1-4\_10-12 (Figura 11; Tabela 3).



**Figura 9:** Representa a morfologia da valva dos *Cyprideis remanei* (fêmeas). No gráfico (A) as amostras estão separadas por amostra e estes são apresentados independentemente; no gráfico (B) as amostras representadas conjuntamente e, conseqüentemente sobrepostas. As grelhas de transformação em (B) representam as diferenças geométricas associadas a cada um dos PCs (magnificadas por 2 para facilidade de visualização).

**Tabela 3:** Representa comparação entre pares do tamanho das valvas das fêmeas por amostra. Triângulo superior da matriz valores de W usando Wilcoxon rank-sum exact test. Triângulo superior da matriz valores de W; Triângulo inferior valores de p-value. Os p-value, são ajustados por Bonferroni e destacados a negrito quando são significativos.

Amostras	1-1_80-82	1-2_20-22	1-2_80-82	1-3_40-42	1-4_10-12	1-4_30-32	1-5_30-32	1-6_10-12
1-1_80-82	_____	179	83	112	335	112	74	192
1-2_20-22	0.27	_____	179	575	503	206	162	301
1-2_80-82	<0.01	<0.01	_____	764	698	407	378	467
1-3_40-42	0.35	0.15	<0.01	_____	413	153	150	254
1-4_10-12	0.65	0.25	<0.01	0.94	_____	145	115	239
1-4_30-32	0.01	0.09	0.11	<0.01	0.01	_____	170	254
1-5_30-32	<0.01	<0.01	0.15	<0.01	<0.01	0.01	_____	220
1-6_10-12	0.15	0.28	0.15	0.10	0.11	0.78	0.01	_____

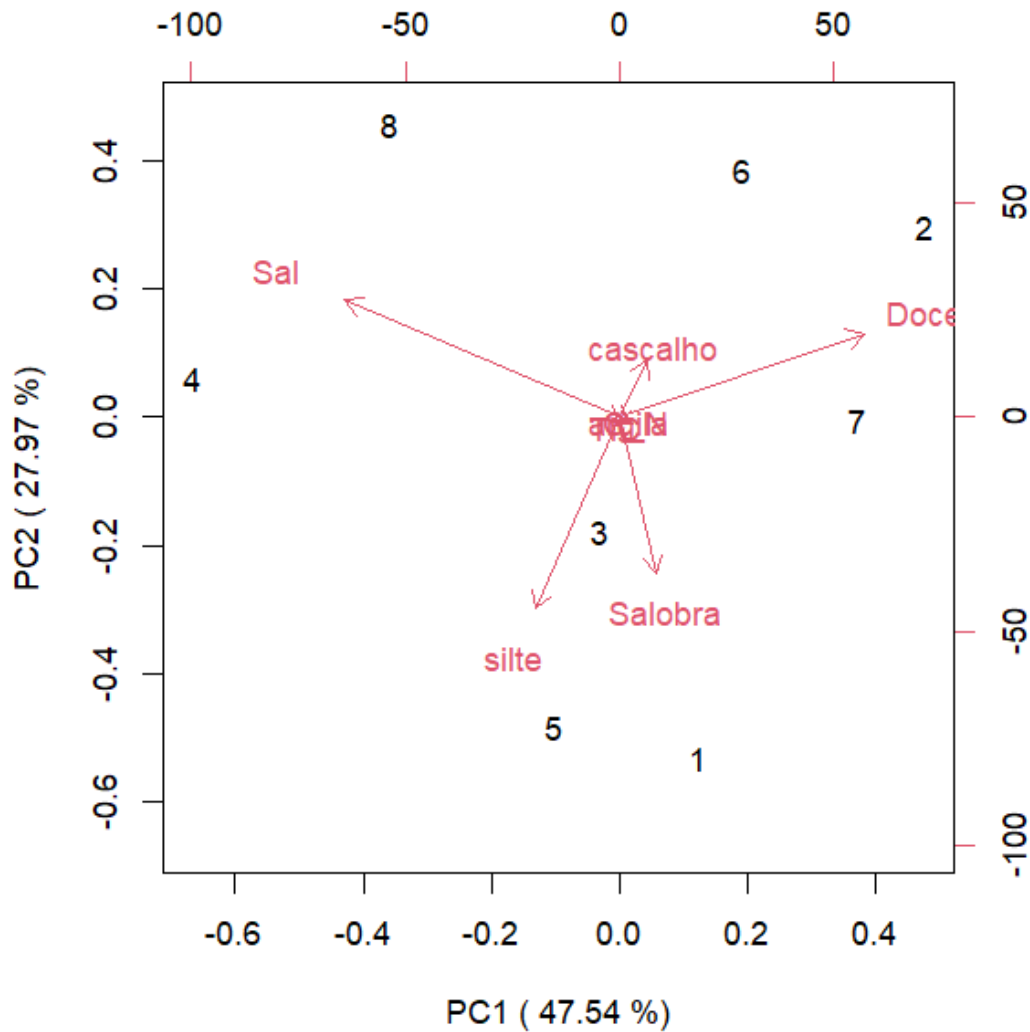


**Figura 10:** Representa o *boxplot* do tamanho das valvas dos *C. remanei* em fêmeas (avaliada através do tamanho do centroide).

### **3.4. Análises das variáveis ambientais: análise do tamanho de grão e diatomáceas**

A PCA realizada com os dados de granulometria (tamanho de grão) e diatomáceas (indicador de mudanças de salinidade) mostra que os dois primeiros componentes explicam 75,51% da variação (Figura 12). Este é um valor alto em ecologia, e deve-se em parte, ao número limitado de amostras analisadas em relação ao número de variáveis ambientais.

O PC1, que explica 47.54% da variância, está correlacionado com diatomáceas que viviam em água salgada versus água doce (Figura 12). A amostras 4, que representa a amostra 1-3\_40-42, têm uma dominância de diatomáceas de água salgada (91.77%). Por outro lado, a amostra 7 (1-5\_30-32), está associada ao ambiente de água doce (76.2%). O PC2, que explica 27.97% da variância, está correlacionado com as diatomáceas da água salobra, silte nos valores negativos e o cascalho nos valores positivos; As amostras 3 e 5, 1-2\_80-82 e 1-4\_10-12, respectivamente, têm uma dominância de silte (53.4% e 82.5%). Por outro lado, a amostra 1 (1-1\_80-82) está associada a ambientes de água salobra (65.7%) e a amostra 6 (1-4\_30-32) com dominância de cascalho (43%).



**Figura 11:** Representa os PCA ambientais das diatomáceas e tamanho do grão do sedimento.

Quanto aos dados de regressão múltipla multivariada, o modelo tem pouco poder explicativo relativamente ao PC1 ( $R^2$  ajustado: **-0.01**;  $F_{5,211}$ : 0,5369;  $p$ -valor: **0,75**). Já no PC2, as variáveis ambientais do modelo (silte, água salobra e cascalho) explicam de forma significativa a variação morfológica das valvas entre amostras, embora o ajuste seja baixo ( $R^2$  ajustado: **0.11**;  $F_{5,211}$ : 6,30;  $p$ -valor: **<0.01**).

#### 4. DISCUSSÃO

Foram analisadas oito amostras para o estudo das alterações morfológicas da valva esquerda de ostracodos *Cyprideis remanei* no lago Nyalonzwele. Para detectar as mudanças morfológicas, a digitalização dos espécimes foi realizada com base nos métodos de análise de dados em 2D da Morfometria Geométrica. Este processo resultou no desenvolvimento de uma nova metodologia de análise para o estudo das mudanças paleoambientais.

Foi necessário testar o método desenvolvido no trabalho. Para esse efeito, comparou-se a consistência na identificação dos sexos entre o método desenvolvido nesse estudo, com o método de Hunt *et al.*, (2017), o qual identificou correctamente o sexo de indivíduos de *Cyprideis* vivos (Martins *et al.*, 2019). A identificação dos sexos de espécimes entre métodos teve uma concordância de 99.38%, confirmando que o método aplicado nesse trabalho é sensível à variação morfológica das valvas. Apenas dois indivíduos (1 macho e 1 fêmea, amostra 1-5\_30-32; Figura 8-A) foram identificados de forma distinta entre os métodos. No entanto, este resultado não compromete a validade do método. Pelo contrário, este resultado pode ser explicado, em parte, pelo facto do tamanho ser eliminado na análise de GPA (tamanho do centroide) no presente método em relação ao método de Hunt *et al.*, (2017). Esta possibilidade poderá ser testada futuramente através de um estudo de morfometria geométrica que preserve o tamanho nas análises. Adicionalmente, nuances morfológicas capturadas pela morfometria geométrica (e não pela morfometria convencional), como por exemplo, variações morfológicas atípicas presentes nesses indivíduos, podem contribuir para este resultado. Isso levanta uma questão importante sobre os limites da morfometria mais tradicional (i.e., baseada em medida lineares) na captura de variáveis subtis ou anómalas.

#### 4.1. Variações morfológicas em machos e fêmeas de *Cyprideis remanei*

Os resultados indicam diferenças significativas na geometria entre as amostras estudadas. As duas primeiras componentes (PC1 e PC2) explicam 74.86% da variância total. O PC1 é dominado pelas diferenças geométricas entre os sexos (Figura 8-B) com a ocupação de morfo-espacos distintos por machos e fêmeas. Essas diferenças morfológicas entre os sexos podem ser observadas também ao analisar os tamanhos do centroide das valvas.

As diferenças significativas no tamanho e na geometria das valvas dos *C. remanei* entre os sexos - dimorfismo sexual - reflectem diferenças baseadas no sexo, como pressão reprodutiva distinta (Namioko & Martins, 2008; Samuels-Fair *et al.*, 2021). Por esse facto, foi seleccionado um sexo (fêmeas) para um estudo mais detalhado das respostas adaptativas as mudanças ambientais.

##### 4.1.1. Variações morfológicas em fêmeas de *Cyprideis remanei*

Os resultados da PCA quanto à geometria das fêmeas mostram que as duas primeiras componentes (PC1 e PC2) explicam mais de 50% da variância total (Figura 9). Esta análise indica mudanças significativas na forma das valvas, particularmente nas regiões antero-dorsal e ventral em ambos os PCs, que advertem a presença de variação morfológica dentro das amostras estudadas e, podem estar relacionadas com os factores genéticos, ecológicos ou a junção de ambos nas fêmeas. A PERMANOVA confirma que existem diferenças significativas entre amostras, geometrias “extremas”. Como entre as amostras observa-se uma sobreposição do morfo-espaco, a variação geométrica é provavelmente o resultado de plasticidade fenotípica em resposta a variações ambientais mais significativas (embora uma componente genética não possa ser completamente excluída face à ausência de dados; i.e., variação genética entre gerações contribui particularmente para a variação morfológica). Assim, a ocorrência de geometrias “extremas” na PC1 negativa nas amostras 1-6\_10-12 e 1-5\_30-32, por exemplo, são o mais provável uma resposta fenotípica distinta devido à alteração das condições do lago durante o período analisados (p. ex., temperatura, variações sazonais de salinidade).

O período entre ~7.100 BP a ~6.120 anos BP, correspondentes às amostras 1-6\_10-12 e 1-5\_30-32, engloba uma transição entre condições áridas para condições mais húmidas nesta região (Jerardino *et al.*, 2008; Neumann *et al.*, 2011). Esta transição climática, é potencialmente caracterizada por uma alta sazonalidade durante esse período (variação nos níveis de salinidade devido a variações nos padrões de pluviosidade anualmente; Gomes *et al.*, 2023). Os dados referentes à abundância dos ostracodos confirmam esta instabilidade; i.e., o lago secou, o que impossibilitou ou limitou a preservação dos ostracodos entre as amostras indicadas. Os resultados do tamanho do centroide na amostra 1-5\_30-32 significativamente diferente da amostra 1-6\_10-12 são consistentes com os dados da PC1.

Aproximadamente 3.347-3.368 anos BP, as condições ambientais tornaram-se progressivamente mais secas na região de KwaZulu-Natal (África do Sul; Neumann *et al.*, 2010). Essas condições prevalecem até 2.300 anos BP na região do lago Nhauhache, Mozambique (Holmgren *et al.*, 2012) ou 2.000 anos BP em Cape Town, África do Sul (Cordova *et al.*, 2019) quando as condições se tornaram gradualmente mais húmidas a partir destas datas. A diminuição gradual do tamanho mediano das valvas verificado a partir da amostra 1-5\_30-32 até à amostra 1-3\_40-42 (~3.690 anos BP; Figura 11), poderá estar associado as variações da temperatura, para além de variações na salinidade do lago. Em *C. salebrosa* em temperaturas mais baixas, o crescimento do organismo é mais lento, resultando dessa maneira em valvas maiores. No entanto, com os dados ambientais disponíveis, não podemos confirmar esta hipótese.

#### **4.2. Impacto das variáveis ambientais na morfologia da valva dos *C. remanei***

A PCA realizada com os dados de sedimentologia (tamanho de grão) e diatomáceas (água doce, salobra ou salgada) permitiram seleccionar as variáveis mais importantes para uma comparação directa entre geometria e indicadores ambientais. Para o modelo de regressão linear retivemos as seguintes variáveis ambientais: % de diatomáceas de água doce, salgada, salobra e % de silte e cascalho.

Para o PC1 (geometria das fêmeas), a análise de regressão linear não é significativa, sugerindo que as variáveis ambientais usadas no modelo não explicam a variação na forma das valvas dos ostracodos. A falta de significância pode ser explicada porque as variáveis que influenciam a geometria das valvas retidas no PC1 não foram medidas. Especificamente, factores como temperatura, conhecidos por influenciarem a morfologia da valva do género *Cyprideis* não foram incluídos no nosso modelo (Carbonel, 1982; Holmes, 2001; Ligios & Gliozzi, 2012; Wrozna *et al.*, 2022).

Por outro lado, o nosso modelo é significativo a explicar o PC2. A variação de salinidade nas amostras 1 (1-1\_80-82) com (65.7%), cascalho na amostra 6 (1-4\_30-32) correspondente a uma percentagem de 43%, e as amostras 3 e 5 (1-2\_80-82 e 1-4\_10-12), respectivamente, com uma dominância de silte (53.4% e 82.5%). Provavelmente influenciam directamente a alteração na geometria relativamente ao sulco transversal. Efectivamente, a salinidade exerce um efeito significativo no padrão da ornamentação das valvas dos *Cyprideis torosa* (Ruiz *et al.*, 2013). Em ambientes de alta salinidade, as valvas são menos noduladas (Frenzel *et al.*, 2012; Külköylüoğlu *et al.*, 2022). Essa adaptação ajuda a espécies a lidar com o stress osmótico (Molinari, 1962). Keyser e Aladin (2004) destacaram que a forma dos poros nas valvas, adquiridas em resposta à salinidade. Em ambientes hipersalinos e oligohalinos, os poros tendem a ser maiores e redondos irregulares (Rosenfeld e Vesper, 1977). Essas morfologias são essenciais para a sobrevivência do *C. torosa*, permitindo à espécie manter a homeostase e prosperar em uma ampla gama de condições salinas e ambientes variados (Ligios & Gliozzi, 2012). Por outro lado, não há estudos comprovados sobre a influência do tamanho grão na forma da valva dos ostracodos, nomeadamente no género *Cyprideis*.

### **4.3. As populações Humanos e as mudanças ambientais**

A análise do registo ecológico dos *Cyprideis* com a técnica desenvolvida nesta tese pode ser usada de diversas maneiras, nomeadamente esclarecimento de padrões no registo arqueológico e salientar momentos temporais de estresse que podem estar associados a mudança cultural e económica, considerando as condições climáticas locais.

Um exemplo prático refere-se à amostra 1\_5-30-32 (6.120 anos BP). Os dados de morfometria geométrica apontam para mudanças na morfologia das valvas nesta amostra

em relação à amostra anterior e posterior, salientando períodos de transição ambiental. Os dados paleoambientais para esta região confirmam uma transição para um clima húmido (Norström *et al.*, 2012), não apenas no sul de Moçambique, mas também em diversos países da África Austral (Neumann *et al.*, 2010).

Se considerarmos o registo arqueológico, apesar de haver condições aparentemente favoráveis à habitação ao longo do lago Nyalonzwele, em períodos anteriores a ~6.120 anos BP, não existem evidências da presença humana no local. Isso pode ser explicado por vários factores, como baixa densidade populacional, movimento de grupos sem estabelecimento temporário de relevo ou, potencialmente, migrações deliberadas para outros locais que ofereciam recursos mais abundantes.

Em contraste, há registos de ocupação humana na região norte de Moçambique, especificamente em Nampula, por volta de 5.050 anos BP. Os grupos encontrados nessa região eram caçadores-recolectores San, conhecidos por suas habilidades em explorar uma ampla gama de recursos naturais (Adamowicz, 1987). Estes grupos dedicavam-se à pesca e à recollecção de moluscos, raízes, vegetais e tubérculos (abundantes nas zonas húmidas e nas margens dos rios) e à produção de microlíticos com assentamentos predominantemente costeiros (Adamowicz, 1987).

Outro momento de estresse ambiental salientado pelo nosso método refere-se à amostra 1-2\_80-82 que corresponde a 3.000 anos BP. Esse período coincide com um maior tamanho mediano das valvas em relação às amostras mais recentes analisadas (1\_1-80-82 (~1.820 BP) e 1-2\_20-22 (~2300 BP); Figura 11). Em relação à geometria, a PC1 aponta para uma morfologia distinta (“extremo” positivo) para a amostra 1-2\_20-22 em relação à amostra 1-2\_80-82.

Comparando com os dados paleoambientais disponíveis, entre aproximadamente 3.347 e 3.368 anos BP, com o recuo do lençol freático e a diminuição do nível do mar, as condições ambientais tornaram-se progressivamente mais secas na região de KwaZulu-Natal, província da África do Sul (Neumann *et al.*, 2010). Essas condições mudanças climáticas causaram uma significativa redução das florestas, gramíneas (Scott, 1996).

Entre 2.600 – 2.100 anos BP, na África do Sul, Cape Town, experimentou uma complexa dinâmica ocupacional, marcada por mudanças na dieta que passou a incluir cada vez mais recursos marinhos, como mexilhões e uma intensa competição por recursos que pode ter levado a disputas violentas entre diferentes grupos (Pfeiffer & van der Merwe, 2004;

Barham & Mitchell 2008; Mitchell, 2013). Desta forma, a passagem para um clima mais árido levou à migração de caçadores recolectores (Marshall *et al.*, 1984; Barthelme, 1985; Jerardino *et al.*, 2008; Mitchell, 2013) e a passagem para um estilo de vida mais associado a exploração de recursos costeiros.

Por outro lado, por volta de 2.300 anos BP as condições tornaram-se gradualmente mais húmidas na região do lago Nhauhache, Moçambique (Holmgren *et al.*, 2012). Por volta de 2.000 anos BP, há indícios do aumento de grandes herbívoros ao redor dos lagos, com ocorrência de águas ricas em nutrientes e pequena mudança na vegetação cerca de em Cape Town (Cordova *et al.*, 2019).

Nesse mesmo período, nas áreas de Bushveld, surgem evidências de comunidades sedentárias, como indicado pelos vestígios de cabanas de pau-a-pique. Essas sociedades tinham uma económica baseada na agricultura, de cereais e criação de animais domésticos. A presença da cerâmica, artefactos e ferro e detritos de metal aponta para o conhecimento da metalurgia, sugerindo a chegada dos primeiros agricultores Bantu na África do Sul (Cordova *et al.*, 2019). Evidências arqueológicas também registam a presença de ovelhas domésticas e cerâmica nas regiões de chuvas de inverno da África do Sul, Namíbia e norte de Botswana, por volta de 2.100-1.800 BP (Sadr, 1988; Walker, 1983; Smith, 2006).

Em Moçambique, o registo arqueológico por volta do século I-III AD (~1850~1650 BP) aponta para uma substituição de caçadores-recolectores para grupos Bantu nas estações arqueológicas da Matola e Campus universitário Eduardo Mondlane em Maputo. A evidência da presença de vestígios de cerâmica, escórias de ferro, práticas agrícolas e a criação do gado sugere que esses grupos já estavam estabelecidos e praticavam rotas comerciais no Oceano Índico (Sinclair, 1987; Morais, 1988).

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método aplicado no presente trabalho permite correlacionar dinâmicas climáticas com alterações morfológicas das valvas. Estas alterações, por sua vez, permitem seleccionar períodos temporais ligados a mudanças ambientais que por sua vez influenciaram populações humanas na região. Nomeadamente, pelos exemplos apresentados, explorar estresse ambiental associado à expansão das comunidades caçadoras-recolectoras e agricultoras e a sua interacção entre diferentes grupos ao longo do Holocénico médio e inicial no sul de Moçambique.

Os resultados das variações morfológicas em machos e fêmeas de *Cyprideis* remanei indicam diferenças geométricas entre ambos os sexos, associadas a factores adaptativos e reprodutivos. Nas fêmeas, essas variações acompanharam transições climáticas, como a mudança de condições áridas para húmidas entre 7.100-6.120 anos BP, associada a variações de níveis de salinidade impulsionadas, provavelmente, pelos padrões de sazonalidade. Posteriormente, entre 3.690-2.000 anos BP, houve a instabilidade ressurgiu afectando vários países da África Austral e maioritariamente na África do Sul (~3.368-2.000 anos BP), no lago Nyalonzwele (~3.690 anos BP) e lago Nhauhache (~2.300 anos BP) (Moçambique). O que afectou o tamanho das valvas dos ostracodos do lago Nyalonzwele.

Os dados morfométricos sugerem que ocorreu uma transição ~6.120 anos BP, reflectida nas mudanças morfológicas observadas na amostra 1-5\_30-32. Embora esse período tenha sido caracterizado por condições húmidas, não foram encontradas evidências de ocupação humana no lago anteriores a este período, o que pode estar relacionado a migrações para locais com melhores condições de sobrevivência. Apenas por volta de 5.050 anos BP é que se registam vestígios da ocupação humana próximo aos recursos hídricos, porém mais ao norte do país (Nampula, Niassa e Cabo Delgado) pelos grupos caçadores-recolectores.

Mais tarde por volta de 3.000 anos BP, a região voltou a apresentar variações nas condições ambientais, com o aumento da precipitação reflectido na morfologia das valvas, como indica a amostra 1-2\_80-82, seguido por um período húmido em torno de 2.300 anos BP. Esse período coincide com um aumento ocupacional na região da África Austral, caracterizado pela domesticação de animais, trocas comerciais e o desenvolvimento de sociedades sedentárias.

No sul de Moçambique, por volta de ~1850-1650 anos BP, o registo arqueológico nas estações da Matola e Campus Universitário Eduardo Mondlane evidencia a chegada dos povos falantes de língua Bantu. Esses grupos trouxeram mudanças significativas, incluindo a introdução de novas tecnologias metalúrgicas, práticas agrícolas e integração em redes de comércio que conectavam o interior de África com o Oceano Índico.

O uso do modelo 2D apresenta vantagens pela simplicidade e a facilidade de aplicação nos estudos morfométricos são pontos positivos, uma vez que a colecta de dados através das imagens fotográficas reduz os custos e elimina a necessidade de equipamentos sofisticados. Os softwares utilizados para a digitalização dos dados são mais acessíveis e simples de operar. Além disso, a análise de dados em 2D requer menos capacidade de processamento e armazenamento dos dados, o que permite maior flexibilidade para trabalhar em diferentes contextos e locais.

Para trabalhos futuros, é importante considerar que a ausência de significância estatística no PC1 verificada na regressão linear aquando da correlação entre os dados morfológicos e ambientais, pode estar relacionado a exclusão de variáveis importantes como pH, temperatura, salinidade ou produtividade do lago, que influenciam directamente a morfologia das valvas Cyprideis. Futuros estudos devem incluir essas variáveis para entender melhor as suas influências na forma das valvas e fornecer resultados mais robustos e completos.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Adams, D., & Castilho, E. R. (2013). Geomorph: an r package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Computer Science, Environmental Science, Biology*. Doi.org/10.1111/2041-210X.12035.
- Adams, DC., Rohlf, F.J., & Slice, D.E. (2004). Geometric Morphometrics: ten years of progress following the “Revolution”. *Italian Journal of Zoology*, 71, 5-16.
- Adamowicz, L., & Jonsson, L. 1983. Caimane Report. Departamento de Arqueologia e Antropologia. Universidade Eduardo Mondlane.
- Adamowicz, L., (1988). Contribuição para o registo computadorizado das estacoes arqueológicas em Moçambique (Idade da Pedra Superior e Idade do Ferro). In: trabalhos de Arqueologia e Antropologia nº 5. Departamento de Arqueologia e Antropologia – Universidade Eduardo Mondlane. Maputo.
- Alcorlo, P.; Baltanás, A. & Arqueros, L. (1999). Intra-clonal shape variability in the non-marine ostracod *Heterocypris barbara* (Crustacea, Ostracoda). *Yerbilimleri, Ankara*, 35, 1-11.
- Askin, R., & Jacobson, S.R. (2003). *Encyclopedia of Physical Science and Technology*. 3rd edition.
- Athersuch, J., Horne, DJ., & Whittaker, J.E., (1989). Marine and brackish water ostracods (superfamilies Cypridacea and Cytheracea): keys and notes for the identification of the species. Synopsis of the British Fauna 43. *The Linnean Society of London and The Estuarine and Brackish-water Sciences Association*, Brill EJ, Leiden.
- Badenhorst, S., Plug, I., & Mitchell, P. (2014). Faunal analysis from rain-control sites in the Shashe-Limpopo Confluence Area, Southern Africa: Implications for understanding interactions between hunter-gatherers and farming communities. *Journal of Archaeological Science*, 41, 376-386.
- Baltanás, A., & Danielopol D. L. (2011). Geometric Morphometrics and its use in ostracod research: a short guide. *Joannea Geol. Paläont*, 11, 235-272.
- Barthelme, J. (1985). Fisher-hunters and Neolithic pastoralists in east Turkana, Kenya. *BAR International Series*. Oxford.
- Berg, G. E., Ta'ala, S. C., Kontanis, E. J., & Leney, S. S. (2007). Measuring the intercondylar shelf angle using radiographs: Intra- and inter-observer error tests of reliability. *Journal of Forensic Sciences*, 52(5), 1020-1024. DOI: 10.1111/j.1556-4029.2007.00509.x.

- Bond, G., Kromer, B., Beer, J., & Muscheler, R. (2001). Persistent solar influence on North Atlantic climate during the holocene. *Research Library Core*, 294, 2130.
- Bookstein, F. L. (1991). *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511573064>.
- Boomer, I., & Eisenhauer, G. (2002). Ostracod faunas as paleoenvironmental indicators in marginal marine environments. *GMS*, 131, 135–149.
- Booth, R.K., Jackson, S.T., Forman, S.L.; Kutzbach, J.E., Bettis, E.A., Kriegs, J., & Wright, D.K. (2005). A severe centennial-scale drought in midcontinental North America 4200 years ago and apparent global linkages. *The Holocene*, 15, 321–328.
- Bradbury, J.P., Grosjean, M., Stine, S., & Sylvestre, F. (2001). Full and late glacial lake records along the PEP 1 transect: Their role in developing interhemispheric paleoclimate interactions. In: Markgraf, V. (ed.). *Interhemispheric Climate Linkages*. Academic Press 216, 265–292.
- Bradley, R. (2014). *Paleoclimatology: reconstructing climates of the Quaternary*. Amsterdam: Elsevier.
- Cabral, M. C., Fatela, F., Lopes, V., Freitas, M. C., & Andrade, C. (2017). *Cyprideis torosa* (Jones, 1850) in mainland Portugal: what do we know?. *Journal of Micropalaeontology*, 36, 94–112.
- Carbonel, P., (1982). Les Ostracodes, traceurs des variations hydrologiques dans des systèmes de transition eaux douces-eaux salées. *Mémoires de la Société géologique de France*, 8:(144), 117–128.
- Cohen, K.M., Finney, S.C., Gibbard, P.L. & Fan, J.-X. (2013; actualizada). The ICS International chronostratigraphic Chart. 36, 199-204. <https://stratigraphy.org/ICSChart/ChronostratChart2023-04PTPortuguese.pdf>.
- Cordova, C. E., Kirsten, K.L., Scott, L., Meadows, M., & Lücke, A. (2019). Multi-proxy evidence of Late-Holocene paleoenvironmental change at Princessvlei, South Africa: The effects of fire, herbivores, and humans.
- Chritz, K. L., Marshall, F. B., Zagal, M. E., Kirera, F., & Cerling, T. E. (2015). Environments and trypanosomiasis risks for early herders in the later Holocene

- of the Lake Victoria basin, Kenya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(19), 3674-3679.
- Cronin, T.M.; Kamiya, T.; Dwyer, G.S.; Belkin H.; Vann C.D.; Schwede, S. & Wagner, R. (2005). Ecology and shell chemistry of *Loxococoncha matagordensis*. *Palaeogeogen, Palaeoclimatol, Palaeoecol*, 225(1–4), 14–67.
- Deacon, H.J. e Deacon, J. (1999). Human beginnings in South Africa: Uncovering the secrets of the Stone Age. Cape Town: David Philip Publishers.
- DeMenocal, P.B. (2001). Cultural responses to climate change during the late Holocene. *Science* 292 (5517):667e673. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1059287>.
- Dingle, R. V., & Honigstein, A. (1994). Ostracoda from Quaternary coastal sequences in the south-western Cape. *Annals of the South African Museum* 104, 63–114.
- Ekblom, A., & Stabell, B. (2008). Paleohydrology of lake Nhaucati, c. 400 AD-present, Lake. *Journal of Paleolimnology* 40, 1127–1141.
- Ekblom, A; Eichhorn, B; Sinclair, P; Badenhorst, S e Berger, A. 2014. Land use history and resource utilization from A.D. 400 to the present, at Chibuene, southern Mozambique. Department of Archaeology and Ancient History, Uppsala University. 15-32.
- Evin, A. Cucchi, T., Cardini, A., Strand Vidarsdottir, U., Larson, G., & Dobney, K. (2013). The long and winding road: identifying pig domestication through molar size and shape. *Journal of Archaeological Science*, 40, 735-743.
- Fehn, A.M., Amorim, B., & Rocha, J. (2022). The linguistic and genetic landscape of southern Africa. *Journal of Anthropological Sciences* 100, 243-265. doi.10.4436/jass.10008.
- Fernández Navarro, V., Godinho, R. M., García Martínez, D., & Garate Magaidan, D. (2024). Exploring the utility of Geometric Morphometrics to analyse prehistoric hand stencils. *Scientific Reports*, 14, Article 6336. doi:10.1038/s41598-024-56889-3.

- Fortes-Lima, C.A., Burgarella, c., Hammarén, R., Eriksson, A., & Schlebusch, C.M. (2024). The genetic legacy of the expansion of Bantu-speaking peoples in Africa. *Nature*, 625 (7995), 540-547. DOI: [10.1038/s41586-023-06770-6](https://doi.org/10.1038/s41586-023-06770-6).
- Frenzel, P. (1991). Die Ostracodenfauna der tieferen Teile der Ostsee-Boddengewässer Vorpommerns. *Meyniana*, 43, 151-175.
- Frenzel, P., & Boomer, I. (2005). The use of ostracods from marginal marine, brackish waters as bioindicators of modern and Quaternary environmental change. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 225, 68–92. DOI: 10.1016/j.palaeo.2004.02.051.
- Frenzel, P., Schulze, I., & Pint, A., (2012). Noding of *Cyprideis torosa* valves (Ostracoda) – a proxy for salinity? New data from field observations and a long-term microcosm experiment. *Int. Rev. Hydrobiol.* 97 (4), 314–329.
- Fritz, S.C. (1990). Twentieth-century salinity and water-level fluctuations in Devils Lake, N. Dakota: A test of a diatom-based transfer function. *Limnology and Oceanography*, 35, 1771–1781.
- Germer, R. (1985). Flora des pharaonischen Ägypten. Mainz: von Zabern. [ISBN 3-8053 0620-2](https://www.isbn-international.org/product/9783805306202).
- Giosan, L., Orsi, W., Coolen, M.J.L., Fuller, D.Q.F. (2018). Neoglacial climate anomalies and the Harappan metamorphosis. *Climate of the Past*, 14(11), 1669-1686. DOI: [10.5194/cp-14-1669-2018](https://doi.org/10.5194/cp-14-1669-2018).
- Godinho, R.M., & Gonçalves, C. (2020). Antropologia virtual: Novas metodologias para a análise morfológica e funcional. DOI: <https://doi.org/10.21747/978-989-8970-25-1/arqa23>.
- Goldstein, S.T., Shipton, C., Miller, J.M., Ndiema, E., Boivin, N., & Petraglia, M. (2022). Hunter-gatherer technological organization and responses to Holocene climate change in coastal, lakeshore, and grassland ecologies of eastern Africa. *Quaternary Science Reviews* 280, 107-390.
- Gomes, A., Connor, S., Gadd, P., Haberle, S., Nora, D., Skosey-Lalonde, E., Martins, M., Zinsious, B., Santana, P., Raja, M., & Bicho, N. (2019). InMoz - Alterações Climáticas durante o Quaternário em Inhambane, Sudeste de Moçambique, e o seu papel para a evolução Humana. *Relatório dos trabalhos desenvolvidos em moçambique*. (PTDC/HAR- ARQ/28148/2017).

- Gomes, A., Martins, M.J., Skosey-LaLonde, E., Nora, D., Connor, S., Raja, M., Gadd, P., HAberle, S., Oliveir, S., Costas, S., Mendes, I., Moura, D., HAWs, J., & Bicho, N. (2023). Holocene hydrological changes in southeastern Mozambique.in: XXI Congress of the International union for Quaternary Research “Time for Change”. Doi 10.5281/zenodo.12749221.
- Gomes A., Pires C. V., Oliveira S., Coelho A., Gonçalves L., Porto L., Nora D., Connor S., Raja M., LaLonde E. S., Martins M. J. F. (2023). A aventura para o conhecimento: Um jogo que ensina como se investigaram as alterações ambientais que ocorreram em Moçambique durante o Holocénico. *Revista Ciência Elementar*, V11(1):006. DOI <http://doi.org/10.24927/rce2023.006>.
- Gordon, N., Garcia-Rodriguez F., & Adams, J.B. (2012). Paleolimnology of a coastal lake on the Southern Cape coast of South Africa: Sediment geochemistry and diatom distribution. *Journal of African Earth Sciences*. (75), 14–24.
- Granja, H. (2014). Geo e bioindicadores: Na Busca dos Ambientes onde o Homem Viveu. *Revista da Faculdade de Letras Ciências e Técnicas do Património*. Porto. 8, 61-74.
- Griffiths, H.I., & Holmes, J.A. (2000). Non-marine Ostracods and Quaternary Palaeoenvironments (QRA technical guide No. 8). *Quaternary Research Association*, London.
- Hartmann, G. (1966). Ostracoda (1<sup>st</sup> part). 1–216.
- Henson, K., Harding, T., Starcher, K., Smith, A., & Securro, D. (2020). Intraobserver and Interobserver Error in Osteological Analysis as an Indicator for Non-Expert Skeletal Analysis. *J Forensic Sci Criminol*, 8(1), 104.
- Hitchcock, R. K. (2014). Hunter-Gatherers research traditions in Southern Africa. In: Cummings, V., Jordan, P., & Zvelebil (ed.). *The Oxford Handbook of the Archaeology of Hunter-Gatherers*. Oxford *University press*. United Kingdom.
- Holmes, J. (2001). Ostracoda. In: Smol, J.P., Birks, H.J. & Last, W. M. Tracking environmental change using lake sediments. *Zoological Indicators*, vol. 4.

- Holmes, J.A., & Chivas, A.R. (2002). Ostracod shell chemistry-Overview. *In*: Holmes, J.A., Chivas, A.R. (Eds.), *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research*. AGU, Washington D.C., 185–204.
- Holmgren, K., Risberg, J., Freudendahl, J., Achimo, M., Ekblom, A., Norstrom, E., & Siteo, S. (2012). Water-level variations in lake Nhauhache, Mozambique, during the last 2,300 years. 48, 311-322.
- Horne, D.J., & Martens, K. (1999). Geographical parthenogenesis European non-marine ostracods: *post-glacial invasion or Holocene stability?*, *Hydrobiologia*, 391, 1–7.
- Horne, D.J., Cohen, A., & Martens, K. (2002). Taxonomy, Morphology and Biology of Quaternary and Living Ostracoda. *In*: Holmes JA, Chivas AR, (eds). *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research*. *Geophysical Monograph*, 131, 5-36. DOI: <https://doi.org/10.1029/131GM02>.
- Hunt, G., Martins, M.J.F., Lockwood, R., Swaddle, J., Christine, M.S., & Stedman, J. (2017). Sexual dimorphism and sexual selection in Cytheroidean ostracodes from the Late Cretaceous of the U.S. Coastal Plain. *Paleobiology*, 43(4), 620-641.
- Jerardino, A., Branch, G. M., & Navarro, R. (2008). Human impact on precolonial west coast marine environments of South Africa. In J. M. Erlandson and T. C. Rick (eds). *Human Impacts on Marine Environments*. Berkeley: *University of California Press*, 279–96.
- Karanovic, I., Pham, H.T.M., & Sitnikova, T. (2023). Diversification of the shell shape and size in Baikal Candonidaek ostracods inferred from molecular phylogeny. *Scientific report*, 13, 2950. <https://doi.martensorg/10.1038/s41598-023-30003-5>.
- Keyser, D., & Aladin, N.V. (2004). Noding in *Cyprideis torosa* and its causes. *Studia Quaternaria* 21, 19–24.
- Kohtamäki, M. (2014). *Transitions: A landscape approach to social and cultural changes in southern Mozambique 5000BC-1000AD*. Uppsala: *Department of Archaeology and Ancient History*.
- Kranioti, E., & Michalodimitrakis, M. (2009). Sexual dimorphism of the humerus in contemporary Cretans-a population-specific study and a review of the literature. DOI: [10.1111/j.1556-4029.2009.01103.x](https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01103.x).

- Külköylüoğlu, O., Yavuzatmaca, M., Akay, E., & Dalkıran, N. (2022). *Cyprideis Torosa* (Ostracoda, Crustacea): Occurrence Patterns, Carapace Type and Its Relationship To Physicochemical Variables In Kocaçay Delta (Turkey). *Research square*, 1-14. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1303861/v1>.
- Kusimba, S.B. (2003). African Foragers: Environment, Technology, Interaction. Walnut Creek, Calif. *Altamira press*, 4(4), 312.
- Leiss, A. (2018). The Paleoenvironmental context of Early stone Age Archaeology: an analysis of Gona fauna between ~ 3-1 Ma.
- Ligos, S., & Gliozzi, E. (2012). The genus *Cyprideis* Jones, 1857 (Crustacea, Ostracoda) in the Neogene of Italy: A geometric morphometric approach. *Revue de micropaléontologie* 55, 171–207. <http://dx.doi.org/10.1016/j.revmic.2012.09.002>.
- Mangerud, J., Andersen, S.T., Berglund, B.E., & Donner, J.J. (1974). Quaternary stratigraphy of Norden, a proposal for terminology and classification. *Boreas*, 3,109-128.
- Marcus, L.F., Corti, M.; Loy, A., Naylor, G.J.P., & Slice, D.E. (1996). Advances in Morphometrics. *NATO ASI series A, Life Sciences* (284), Plenum Press, New York.
- Maret, P. (2013). Archaeologies of the Bantu expansion. In: Mitchell, P. & Lane, P. (eds). *The Oxford Handbook of African archaeology. Archaeology. Oxford University press*. United Kingdom.
- Marriner, N., Morhange, C., & Goiran, J.P. (2010). Coastal and ancient harbour geoarchaeology. 26 (1), 21–27.
- Marshall, F.B., Barthelme, J.W., & Stewart, K., (1984). Early Domestic Stock at Dongodien in Northern Kenya. *Azania*, 19, 120–127.
- Martens, K. (1985). Effects of temperature and salinity on postembryonic growth in *Mytilocypris henricae* (Chapman) (Crustacea, Ostracoda). *J Crustac Biol.*, 5(2), 258–272.
- Martins, M.J.F. (2019). Adult sex-ratio in ostracods and its implications for sexual selection. *Invertebrate Reproduction & Development*. (63):3, 178-188, DOI: 10.1080/07924259.2019.1592789.

- Martins, M.J.F., Puckett, T.M., Lockwood, R., Swaddle, J.P., & Hunt, G. (2018). High male sexual investment as a driver of extinction in fossil ostracods. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0020-7>.
- Martins, M.J.F., Nora, D., Connor, S., Skosey-LaLonde, E., Zinsious, B.K., Raja, M., Moura, D., Haws, J.A., Bicho, N., & Gomes, A. (2021). Holocene paleolimnological changes in southeastern Mozambique: an ostracod-based study. Conference: 3rd Palaeontological Virtual Congress.
- Mazoyer, M., & Roudart, L. (2008). História das agriculturas no mundo: *Do neolítico à crise contemporânea*. São Paulo, Editora UNESP.
- Mazzini, I.A, Aiello G. B., Frenzel, P. F., & Pint, C. (2022). Marine and marginal marine Ostracoda as proxies in geoarchaeology. *Marine Micropaleontology* (174) 102:454.
- Meneses, M.P.G. (1999). New Methodological Approaches to the Study of the Acheulean from Southern Mozambique. The State University of New Jersey.
- Metcalfe. S., Say, A., Black, S., McCulloch, R., & O'Hara, S. (2002). Wet conditions during the last glaciation in the Chihuahuan Desert, Alta Babicora, Basin, Mexico. *Quaternary Research*, 57, 91–101.
- Meyer, J., Wrozyzna, C., Gross, M., Leis, A., & Piller, W.E. (2016). Morphological and geochemical variations of *Cyprideis* (Ostracoda) from modern waters of the northern Neotropics. *Limnology* (Tokyo).18(3): 251–273. Doi: [10.1007/s10201-016-0504-9](https://doi.org/10.1007/s10201-016-0504-9).
- MINISTÉRIO PARA A COODERNAÇÃO DA ACCÇÃO AMBIENTAL. (2012). perfil ambiental e mapeamento do uso actual da terra nos distritos da zona costeira de moçambique. *Projecto de Avaliação Ambiental Estratégica da Zona Costeira – Moçambique*.
- Mitchell, P. (2013). Southern African Hunter-Gatherers of the Last 25,000 Years. *In*: Mitchell, P. & Lane, P. (Ed). *The Oxford Handbook of African Archaeology*. Oxford University press. United Kingdom DOI:10.1093/oxfordhb/9780199569885.013.0033.
- Mitteroecker, P., & Gunz, P. (2009). SYNTHESIS Advances in Geometric Morphometrics. 36, 235–247. DOI 10.1007/s11692-009-9055-x.

- Mitteroecker, P., Gunz, P., Windhager, S., & Schaefer, K. (2013). A brief review of shape, form, and allometry in geometric morphometrics, with applications to human facial morphology. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24(1), 59–66. <https://doi.org/10.4404/hystrix-24.1-6369>.
- Molinari, V. (1962). Un nouveau sous-genre d'ostracode du Néogène de la Toscane: *Cyprideis (Toscanella) belfortensis* n. subgen, n. sp. *Revue de Micropaléontologie*, 4, 249–255.
- Monteiro, L.R., & Reis, S.F. (1999). Princípios de Morfometria Geométrica. Holos, Ribeirão Preto.
- Morais, J. M. 1988. *The Early Farming Communities of Southern Mozambique*. Lisboa.
- Muchangos, A. (1999). Moçambique, Paisagens e Regiões Naturais. (Cópia do Autor). República de Moçambique, 01048/FBM/93.
- Namiotko, T., Marmonier, P.; Danielopol, D.L.; Horne, D.J., & Artheau, M. (2005). New records of rare males of *Cryptocandona vavrai* Kaufmann, 1900 (Crustacea, Ostracoda), with further additions to the description of the species. *Annales de Limnologie -International Journal of Limnology* 41, 203–219.
- Neumann, F.H., Scott, L., & Bamford, M.K. (2011). Climate change and human disturbance of fynbos vegetation during the late Holocene at Princess Vlei, Western Cape, South Africa. *The Holocene*, 21(7), 1137–1149. DOI:10.1177/0959683611400461.
- Neumann, F.H., Scott, L., Bousman, C. B., & van As, L. 2010. A Holocene sequence of vegetation change at Lake Eteza, coastal KwaZulu-Natal, South Africa. *Review of Palaeobotany and Palynology* 162, 39–53. Doi:10.1016/j.revpalbo.2010.05.001.
- Nora, D., Martins, M.J., Skosey-LaLonde, E., Zinsious, B. K, Connor, S., Raja, M., Oliveira, S., Moura, D., Haws J., Bicho, N., & Gomes, A. (2020). Alterações ambientais nos últimos 4300 anos na costa sudeste de Moçambique. In: Congresso JovensInvestigadores em Geociências, LEG 2020.
- Norstrom, E., Oberg, H., Siteo, S., Ekblom, A., Westerberg, L., & Risberg, J. (2017). Vegetation Dynamics within the savanna biome in southern Mozambique during the late holocene. 1-16.

- Norström, E., Risberg, J., Gröndahl, H., Holmgren, K., Snowball, I., Mugabe, J.A., & Siteo, S.R. (2012). Coastal paleo-environment and sea-level change at Macassa Bay, southern Mozambique, since c. 6600 cal BP. *Quat. Int.*, 260, 153–163.
- Nyström, M., Norström, A. V., Bleckner, T., Castro, M. T., Eklöf, J. S., Folke, C., Österblom, H., Steneck, R. S., Thyresson, M., & Troell, M. (2012). Confronting feedback of degraded marine ecosystems. *Ecosystems*, 15, 695-710. <http://dx.doi.org/10.1007/s10021-012-9530-6>.
- Oliveira, V.F., Cáprio, E.L., Soares, S.P., Dantas, P.T. (2009). Ambientes lacustres e sua sedimentação. Trabalho de conclusão do projecto modular apresentado ao centro universitário Monte Serrat como exigência parcial para a conclusão do segundo ciclo de tecnologia em petróleo e gás. Santos.
- Patin, E., Siddle, K.J., Laval, G., Quach, H., & Quintana-Murci, L. (2014). The impact of agricultural emergence on the genetic history of African rainforest hunter-gatherers and agriculturalists. *NATURE COMMUNICATIONS*, 5, 3163. DOI: 10.1038/ncomms4163.
- Piovesan, E.K. (2008). Ostracodes Cretaceos (Turoniano-Maastrichtiano) da Bacia do Para-Maranhao: Aspectos Taxonomicos, Paleoecologicos e Paleobiogeograficos. *Masters Dissertation*. Universidade do Vale do Rio dos Sinos.
- Pint, A., Frenzel, P., & Wennrich, V. (2015). Ostracoda from inland waterbodies with saline influence in Central Germany: Implications for palaeoenvironmental reconstruction. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 420, 1-15.
- Quante, E., Pint, A., & Frenzel, P. (2022). Nonmarine Ostracoda as proxies in (geo)archaeology- A review. DOI: 10.1002/gea.21912.
- Rapp, J., & Hill, C.L. (1998). *Geoarchaeology: The Earth-Science Approach to Archaeological Interpretation*. New Haven: *Yale University Press*. London.
- Rosas, A., Ferrando, A., Bastir, M., García-Taberner, A., Estalrich, A., Huguet, R., . . . de la Rasilla, M. (2017). Neandertal talus bones from El Sidrón site (Asturias, Spain): A 3D geometric morphometrics analysis. *American Journal of Biological Anthropology*, 164(2), 394-415. doi:10.1002/ajpa.23280.

- Roberts, J. H., Holmes, J. A., & Swan, A. R. H. (2002). Ecophenotypy in *Limnocythere inopinata* (Ostracoda) from the late Holocene of Kajemarum Oasis (north-eastern Nigeria). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 185, 41-52.
- Robinson, J. & Rowan, J. (2017). Holocene paleoenvironmental change in southeastern Africa (Makwe Rockshelter, Zambia): Implications for the spread of pastoralism. *Quaternary Science Reviews*, 156, 57-68.
- Rohlf, F. J. (2015). The tps series of software. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 26(1), 9–12. <https://doi.org/10.4404/hystrix-26.1-11264>
- Ruiz, F., Abad, M., Bodergat, A.M, Carbonel, P., Rodríguez-Lazaro, J., González-Regalado, M.L., Toscano, A., García, E.X., & Prenda, J. (2013). Freshwater ostracods as environmental tracers. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 10:1115-1128. DOI 10.1007/s13762-013-0249-5.
- Sadr, K. (1998). The first herders at the Cape of Good Hope. *African Archaeological Review*, 15. 101–22.
- Sadr, K. (2013). The archaeology of herding in southernmost Africa. In: Mitchell, P. & Lane, P. (Ed). *The Oxford Handbook of African archaeology*. Archaeology. Oxford University press. United Kingdom.
- Samuels-Fair, M., Martins, M.J.F., Lockwood, R., & et al. (2021). Temporal shifts in ostracode sexual dimorphism from the Late Cretaceous to the late Eocene of the U.S. Coastal Plain, *Marine Micropaleontology*, <https://doi.org/10.1016/j.marmicro.2020.10195>.
- Sandberg, P., & Plusquellec, L. (1974). Notes on the anatomy and passive dispersal of Cyprideis (Cytheracea, Ostracoda). *Geoscience and Man*, 6, 1-26.
- Schweitzer, P.N. & Lohmann, G.P. (1990). Life-history and the evolution of ontogeny in the ostracode genus Cyprideis. *Paleobiology* 16(2),107–125.
- Scott, L. (1989). Climatic conditions in Southern Africa since the Last Glacial Maximum, inferred from pollen analysis. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 70, 345-353.

- Scott, L. (1994). Palynology of Late Pleistocene Hyrax Middens, Southwestern Cape Province, South Africa: *A preliminary report. Historical Biology* 9, 71–81.
- Scott, L., Steenkamp, M., & Beaumont, P. B. (1995). Palaeoenvironmental conditions in South Africa at the Pleistocene-Holocene transition. *Quaternary Science Reviews*, 14(9), 937–947.
- Semo, A., Gaya-Vidal, M., Fortes-Lima, C., Alard, B., & Rocha, J. (2019). Along the Indian Ocean Coast: Genomic Variation in Mozambique Provides New Insights into the Bantu Expansion. *Biol*, 37(2), 406–416. DOI:10.1093/molbev/msz224.
- Sinclair, P.J.J. (1991). Archaeology in eastern Africa: An overview of current chronological issues. *The Journal of African History*, 32 (2), 179-219.
- Sitoe, S.R., Risberg, J., Norström, E., & Westerberg, L. (2017). Late Holocene sea-level changes and paleoclimate recorded in Lake Lungué, southern Mozambique. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 485 (2017), 305–315.
- Slice, D. E. (2005). Modern Morphometrics. In D. E. Slice (ed.), *Modern morphometrics in physical anthropology*. New York: *Kluwer Press*, 1–45.
- Smith, A. (2014). Post-glacial transformations in Africa. In: Cummings, V., Jordan, P., & Zvelebil (ed.). *The Oxford Handbook of the Archaeology of Hunter-Gatherers*. Oxford *University press*. United Kingdom.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1995). *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research* (3rd ed.). New York: W. H. Freeman.
- Viehberg, F.A., & Joanes, F.M. (2012). Ostracoda as proxies for quaternary climate change. *In developments quaternary science*, 17, 305-315. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53636-5.00018-4>.
- Vincens, A., Williamson, D., Thevenon, F., Taieb, M., Buchet, G., Decobert, M., & Thouveny, N. (2003). Pollen-based vegetation changes in southern Tanzania during the last 4200 years: climate change and/or human impact. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*, 198, 321-334.
- Walker, M., Head, M.J., Lowe, J., Berkelhammer, M., Björck, S., Cheng, H., Cwynar, L.C., Fisher, D., Gkinis, V., Long, A., Newnham, R., Rasmussen, S.O., & Weiss, H. (2019). Subdividing the Holocene Series/Epoch: formalization of stages/ages

- and subseries/subepochs, and designation of GSSPs and auxiliary stratotypes. *Journal of Quaternary Science* 34(3), 173–186. DOI: 10.1002/jqs.3097.
- Walker, M., Johnsen, S., Rasmussen, S.O., Steffensen, J.P., Popp, T., Gibbard, P., Hoek, W., Lowe, J., Andrews, J., Björck, S., Cwynar, L.C., Hughen, K., Kershaw, P., Kromer, B., Litt, T., Lowe, D.J., Nakagawa, T., Newnham, R., & Schwander, J. (2009). Formal definition and dating of the GSSP (Global Stratotype Section and Point) for the base of the Holocene using the Greenland NGRIP ice core and selected auxiliary records. *Journal of Quaternary Science*, 24, 3–17.
- Wanner, H.; Mercolli, L.; Grosjean, M.; Ritz, S.P. (2015). Holocene climate variability and change: a data-based review. *Journal of the Geological Society*, 172, 254–263.
- Weiss, H. (2016). Global megadrought, societal collapse and resilience at 4.2–3.9 ka BP across the Mediterranean and west Asia. *PAGES Magazine*, 24, 62-63.
- Wood, B. (2019). *Human Evolution: A Very Short Introduction* (2nd ed.). Oxford Academic. <https://doi.org/10.1093/actrade/9780198831747.001.0001>.
- Wouters, K. (2003). “New records of the genus *Cyprideis* (Crustacea, Ostracoda) from South Africa.” *Bulletin de l’Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Biologie*, 73, 161-165
- Wright, D.K. (2023). Impact of farming on African landscapes. *The Anthropocene Review*, 10(3), 636–663. <https://doi.org/10.1177/20530196221140145>.
- Wrozna, C., Mischke, S., Marlene Hoehle, M., Gross; M., & Piller W. (2022). Large-scale geographic size variability of *cyprideis torosa* (ostracoda) and its taxonomic and ecologic implications. *Frontiers in ecology and evolution*, 10.
- Yin, Y., Geiger, W., & Martens, K. (1999). Effects of genotype and environment on phenotypic variability in *Limnocythere inopinata* (Crustacea, Ostracoda). *Hydrobiologia*, 400, 85–114.
- Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets H.D., & Fink, W.L. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists*. Elsevier Academic Press, London UK, 443.
- Zelditch, M.L., & Swiderski, D.L. (2021). *A practical companion to geometric morphometrics for biologists: running analyses in freely - available software* (3<sup>rd</sup> ed.).

Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., & Sheets, H.D. (2012). A Practical Companion to Geometric Morphometrics for Biologists: Running analyses in freely - available software (1<sup>st</sup> ed.).

## ANEXO

**Tabela 4:** Datação calibrada das amostras usando o programa online OxCal (<https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal.html>).

Amostra	Período geológico
1-1_80-82	Holocénico final (1.820 anos BP)
1-2 20-22	Holocénico final (2.280 anos BP)
1-2 80-82	Holocénico final (3.000 anos BP)
1-3 40-42	Holocénico final (3.690 anos BP)
1-4 10-12	Holocénico final (4.550 anos BP)
1-4 30-32	Holocénico médio/Holocénico final (4.790 anos BP)
1-5 30-32	Holocénico médio (6.120 anos BP)
1-6-10-12	Holocénico médio (7.100 anos BP)

**Tabela 5:** Representa espécimes na fase A-1 e valvas degradadas, que foram identificados como *outliers*.

Género	Espécies	Nome do espécime	Amostra	Valva	objectivo	Magnitude	Mag. nome	Escala	sexo	Incluso
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B2_1-1_80-82_N6.png	1-1_80-82	Esquerda	5	10	50	1,785643	F	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B3_1-1_80-82_N18.png	1-1_80-82	Esquerda	5	10	50	1,785643	A-1 M	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B4_1-1_80-82_N4.png	1-1_80-82	Esquerda	5	10	50	1,785643	A-1 M?	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B5_1-1_80-82_N11.png	1-1_80-82	Esquerda	5	10	50	1,785643	A-1 M	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B5_1-1_80-82_N19.png	1-1_80-82	Esquerda	5	10	50	1,785643	A-1 M	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B10_1-2_20-22_N34.png	1-2_20-22	Esquerda	5	10	50	1,785643	Juvenil	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B2_1-2_80-82_N16.png	1-2_80-82	Esquerda	5	10	50	1,785643	Macho	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B21_1-4_30-32_N7.png	1-4_30-32	Esquerda	5	10	50	1,785643	Fêmea	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B2_1-6_10-12_N20.png	1-6_10-12	Esquerda	5	10	50	1,785643	A-1	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B21_1-6_10-12_N17.png	1-6_10-12	Esquerda	5	10	50	1,785643	A-1	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B28_1-6_10-12_N35.png	1-6_10-12	Esquerda	5	10	50	1,785643	Juvenil	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B6_1-5_30-32_N26.png	1-5_30-32	Esquerda	5	10	50	1,785643	Fêmea	N
<i>Cyprideis</i>	<i>remanei</i>	B13_1-5_30-32_N6.png	1-5_30-32	Esquerda	5	10	50	1,785643	Fêmea	N