UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE BRAGANÇA
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLOGICAS

JEFFERSON MIRANDA DE SOUSA

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS COMERCIALIZADOS NA FEIRA LIVRE DE BRAGANÇA, AMAZÔNIA COSTEIRA

Bragança-PA
2022

JEFFERSON MIRANDA DE SOUSA

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS COMERCIALIZADOS NA FEIRA LIVRE DE BRAGANÇA, AMAZÔNIA COSTEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Biológicas do Instituto de Estudos Costeiros da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de licenciado em Ciências Biológicas

Orientadora: Dra. Grazielle Fernanda Evangelista Gomes

Bragança-PA

2022

JEFFERSON MIRANDA DE SOUSA

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS COMERCIALIZADOS NA FEIRA LIVRE DE BRAGANÇA, AMAZÔNIA COSTEIRA

Banca examinadora:

_____

Profª. Drª. Grazielle Fernanda Evangelista Gomes (Orientadora).
IECOS, UFPA, *Campus* de Bragança

_____

Profª. Drª. Aurycéia Jaquelyne Guimarães da Costa
IECOS, UFPA, *Campus* de Bragança

_____

Prof. MSc. Ítalo Antônio de Freitas Lutz
IECOS, UFPA, *Campus* de Bragança

Bragança-PA

2022

Dedicatória

Aos meus pais, José Ribamar Rodrigues de Sousa e Celina Miranda Lisboa

EPÍGRAFE

A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.

Arthur Schopenhauer

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele jamais teria chegado até aqui. A minha magnífica orientadora Dra. Grazielle Fernanda Evangelista Gomes, pela oportunidade, orientação, incentivo e paciência.

Agradeço a toda família do Laboratório de Genética Aplicada (LAGA) por toda ajuda concedida: Em especial a Josy Barreto, pela grande aprendizagem e apoio nas atividades laboratoriais. Além dela agradeço também a Paula Santana, pois esse trabalho é uma continuação do TCC dela, sendo grato pela ajuda concedida nas análises dos dados, juntamente com a Thais Martins e Charles Ferreira. Os restantes que fizeram e ainda façam parte do LAGA, deixo aqui minha gratidão pelos momentos compartilhados no decorrer desse tempo.

Aos meus pais, Celina e José Ribamar, por serem meu alicerce nesta caminhada, assim como na vida. Também aos meus irmãos, Jadson Sousa, Douglas Sousa e Lara Sousa, que apesar de tudo torcem e querem me ver feliz.

Também, a uma pessoa muito especial na minha vida, que cruzou meu caminho em 2015 e até hoje contínua do meu lado, meu grande amor, Mariane Sousa, obrigado por tudo. Não poderia deixar de agradecer a nossa eterna cachorrinha Maggie, que nos fez muito felizes por pouco mais de um ano, e em março desse ano, infelizmente, veio a óbito.

Agradeço a turma Biologia 2018, por todos os momentos vividos nessa jornada de 4 anos na UFPA. Também professores da UFPA, que são atores fundamentais na nossa formação acadêmica e da vida

Agradeço à Universidade Federal do Pará, a Faculdade de Ciências Biológicas e ao Laboratório de Genética Aplicada pela infraestrutura concedida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....xii
ESTRUTURA DO TRABALHO DE CONCLUSÂO DE CURSO.....x
RESUMO.....xi
Capítulo I: Introdução Geral.....12
1. INTRODUÇÃO.....13
1.1. Considerações Gerais da Produção de Pescado.....13
1.2. Região Norte do Brasil.....14
1.3. Produtividade pesqueira das espécies de crustáceos e moluscos.....15
1.4. Região Bragantina.....18
1.5. Feira Livre: Comercialização de Crustáceos e Moluscos.....18
1.6. Ferramentas Genéticas para Identificação de Espécies.....20
1.7. JUSTIFICATIVA.....21
1.8. OBJETIVOS.....23
1.8.1. Objetivo Geral.....23
1.8.1 Objetivos Específicos.....23
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....24

Capítulo II: Espécies comercializadas nas categorias "Crustáceos e moluscos" na Feira livre de Bragança, Amazônia costeira: validação com COI *mitocondrial*.....29
1. INTRODUÇÃO.....31
2. METODOLOGIA.....33
2.1. Área de Estudo.....33
2.1. Processamento das Amostras.....34
2.2. Procedimentos Laboratoriais.....34
2.3. Banco de Dados e Análises Genéticas.....35
3. RESULTADOS.....36
4. DISCUSSÃO.....44
5. CONCLUSÃO.....49
6. REFERÊNCIAS.....49
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....60

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Capítulo 1 - Introdução Geral

Figura 1. Produção pesqueira e consumo mundial por captura e aquicultura entre 1960 e 2017 (Em 1000 t). (FAO, 2019b, FAO (2019c). Gráfico elaborado por Ximenes e Vidal (2019).....14

Figura 2. Maiores produções de Crustáceos e Moluscos de origem extrativa marinha por espécie para o ano de 2011 (MPA,2013) 16

Figura 3. Principais espécies de crustáceos e moluscos de interesse comercial. A) Camarão rosa *(Fanfantepenaeus subtilis)*; B) Camarão branco (*Penaeus schmitti*); C) Camarão sete barbas (*Xiphopenaeus* spp); D) Lagosta (*Panulirus* spp); E) Caranguejo-uça (*Ucides cordatus*); F) Siri (*Callinectes* spp); G) Sururu/mexilhão (*Mytella strigata*), H) Sururu/mexilhão (*Mytella brasiliensis*) 17

Figura 4. Feira Livre de Bragança e comércio de Crustáceos e Moluscos: A) Feira do Caranguejo; B) Feira do Camarão; C) Camarão Salgado; D) Siri; E) Caranguejo; F) Sururu/Mexilhão.....19

Capítulo 2 - Artigo Científico

Figura 1. Localização geográfica da Feira Livre de Bragança. A) Feira do camarão; A) Feira do caranguejo.....33

Tabela 1. Correlação entre as categorias de crustáceos e moluscos, número de amostras sequenciadas e obtidas (N), espécies e famílias identificadas.....38

Tabela 2. Correlação das designações comerciais com as espécies identificadas utilizando o gene COI. H: Haplótipo. N: Número de sequências. S: Similaridade com as sequências de bancos públicos. 39

Tabela 2 (Continuação). Correlação das designações comerciais com as espécies identificadas utilizando o gene COI. H: Haplótipo. N: Número de sequências. S: Similaridade com as sequências de bancos públicos.....40

Figura 2. Diagrama aluvial para representação das 12 espécies comercializadas e os nomes vernaculares correspondentes. No lado esquerdo encontra-se os nomes científicos e no lado direito os nomes vernaculares. A relação é ilustrada pela mesma coloração para as espécies e designações comerciais. A frequência das designações é representada pela espessura da relação O diagrama foi gerado em RAWGraphs.....41

Figura 3. Árvore de agrupamentos de vizinho referente os haplótipos de caranguejo e siri obtida a partir do fragmento da primeira porção do gene COI, com sequências dos bancos públicos. Valores sobre os ramos indicam o suporte estatístico de *Bootstrap* (NJ) e probabilidade *posteriori* (IB). Cada coloração e silhueta representa uma espécie.....42

Figura 4. Árvore de agrupamentos de vizinho referente aos haplótipos de Camarões obtida a partir do fragmento da segunda porção do gene COI, com sequências do NCBI. Valores sobre os ramos indicam o suporte estatístico de *Bootstrap* (NJ) e probabilidade *posteriori* (IB). Cada coloração e silhueta representa uma espécie.....43

Figura 5. Árvore de agrupamentos de vizinho referente aos haplótipos de moluscos obtida a partir do fragmento da primeira porção do gene COI, com sequências do NCBI. Valores sobre os ramos indicam o suporte estatístico de *Bootstrap* (NJ) e probabilidade *posteriori* (IB). Cada coloração representa um clado e a silhueta representando uma espécie.....44

Apêndice 1.1. Tabela de distância genética (K2P) dos haplótipos das espécies de camarões comercializada na Feira Livre. Sequências do NCBI foram inseridos a lista.....58

Apêndice 1.2. Tabela de distância genética (K2P) dos haplótipos das espécies de sururu/mexilhão comercializadas na Feira Livre. Sequências do NCBI foram inseridos a lista.....59

ESTRUTURA DO TRABALHO DE CONCLUSÂO DE CURSO

O TCC está organizado em dois capítulos, mais uma seção de considerações finais, sendo o primeiro capítulo uma fundamentação teórica do estudo e o segundo, um artigo científico. Dessa forma, apresentará a seguinte estrutura.

Capítulo I: apresenta o levantamento bibliográfico, destacando a importância do pescado, aspectos de comercialização mundial, regional e local, ressaltando as espécies com relevância econômica, assim como a comercialização realizada em categorias e a importância da utilização de ferramentas moleculares, como o COI mitocondrial para a identificação das espécies. Além disso, conta com tópico de justificativa e objetivos do estudo, construindo assim o embasamento teórico que delineou este trabalho.

Capítulo II: apresenta-se o artigo científico, destacando a metodologia detalhada e os principais resultados, com os dados obtidos a partir da aplicação da ferramenta molecular para identificação das espécies de Crustáceos e Moluscos comercializadas. Em seguida, uma discussão, com as principais implicações dos dados obtidos.

Seção agregadora: considerações finais do trabalho, destacando as principais conclusões.

.

RESUMO

O consumo de pescado em escala mundial e nacional vem se destacando nos últimos anos, e o estado do Pará aparece como um importante polo de produção pesqueira, tendo municípios de Belém, Vigia e Bragança, em ordem decrescente, como os maiores portos de desembarque de pescado. O município de Bragança está localizado no entorno do estuário do rio Caeté e apresenta extensa área de manguezal. Esses ecossistemas são berçários para muitas espécies de crustáceos e moluscos. Na região bragantina, são desembarcadas espécies de alto valor comercial, com grande volume de captura. Boa parte dos mariscos desembarcados são vendidos na Feira Livre da cidade. O comércio acontece por meio da designação comercial, o que gera dificuldades na identificação precisa das espécies comercializadas. O presente trabalho objetivou a identificação molecular das espécies de crustáceos e moluscos comercializadas na Feira Livre de Bragança, utilizando marcadores de DNA. Foram obtidas 73 sequências da região mitocondrial Citocromo Oxidase C subunidade I (COI), sendo 16 sequências da primeira porção do COI e 34 da segunda porção do COI. As sequências de camarão só puderam ser identificadas utilizando a segunda porção do COI. Foram registradas quatro famílias, seis gêneros e nove espécies para crustáceos (*P. Vannamei, P. schmitti, P. isabelae, X. dincao, X. kroyeri, M. sculptilis, M. equidens, U. cordatus e C. bocourti*) e uma família, dois gêneros e duas espécies para moluscos (*M. brasiliensis* e *M. strigata*). Dentre as espécies vendidas, notou-se a presença de seis espécies nativas e três espécies exóticas, sendo relatadas pela primeira vez no local. Notamos que a designação comercial não é padronizada de acordo com os nomes científicos das espécies, principalmente para camarões. Além disso, observou - se a presença de uma segunda linhagem mitocondrial matrilinear de *M. strigata* presente na região Norte. Portanto, a ferramenta molecular mostrou-se bastante eficiente na identificação espécie-específica, podendo auxiliar no ordenamento e na gestão dos recursos pesqueiros.

Palavras-chave: COI Mitocondrial, Crustáceos, Moluscos, Designação comercial, Bragança.

Capítulo I

Introdução Geral

1. INTRODUÇÃO

1.1. Panorama da Produção de Pescado

Os crustáceos e moluscos estão presentes na categoria "pescado" que também inclui peixes, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada usados na alimentação humana (BRASIL, 1984; HIPOLITO; GENOVEZ, 2019). O pescado é um alimento de grande importância para a alimentação humana, pois possui alto valor nutricional, é rico em proteínas de elevado valor biológico, com aminoácidos essenciais, vitaminas lipossolúveis (A e D), e minerais como cálcio, fósforo e ferro (GIRÃO et al., 2015, OLIVEIRA SARTORI; AMÂNCIO, 2012). Além disso, a massa de pescado é rica em ômega 3, ácidos graxos poli saturados e baixo teor de gordura (KRIS-ETHERTON et al., 2002), constituindo um alimento relevante como fonte de proteína de origem animal (TACON e METIAN, 2013)

Devido a esses grandes benefícios que o pescado oferece para a saúde humana, a demanda do mercado consumidor apresentou crescimento nos últimos anos (OLIVEIRA et al., 2013). Segundo os dados estatísticos mundiais, o consumo de pescado tem aumentado em média 3,1% ao ano, desde 1961 até 2017 **(Figura 1**) (FAO, 2020). Essa maior procura por parte do consumidor está associada a fatores como a busca por hábitos alimentares mais saudáveis, juntamente com o aumento demográfico, ocasionando aumento do consumo e maior demanda por pescado nos últimos anos (BRABO et al, 2016; FAO, 2020).

No período de 1990 a 2017, ocorreu um crescimento médio anual das taxas de consumo *per capita* de crustáceos de 2,9%, e moluscos em 2,7 % (FAO, 2020). Nesse cenário, o Brasil produziu em cultivo 63,1 mil toneladas de crustáceos, representado apenas por espécies de camarão, e 14,3 mil toneladas de moluscos em 2020, representados por espécies de ostras, vieiras e mexilhões (IBGE/SIDRA, 2021). Na América do Sul, Chile e Brasil se destacam como maiores produtores aquícolas, totalizando em conjunto, 1,81 milhões de toneladas produzidas em 2017, enquanto o Peru lidera na atividade pesqueira com 4,18 milhões de toneladas produzida no mesmo período (FAO, 2020).

O Brasil tem plenas condições de se tornar um dos principais produtores de pescado, pois possui costa marítima com 8.500 km de extensão; 12% da água doce disponível do planeta; grande volume d'água represado em reservatórios e de água subterrânea; condições climáticas favoráveis e disponibilidade de mão de obra (XIMENES; VIDAL, 2019). Mediante a esse potencial, a porcentagem de crescimento da produção aquícola brasileira no período de 2001 a 2013 foi de 56% (SEBRAE, 2015).

Em relação a produção brasileira, os últimos dados divulgados pelo MPA (2013), mostraram que em 2011 a pesca extrativista foi responsável por 803,2 mil toneladas e a

aquicultura por 628,7 mil toneladas. Em relação a pesca extrativista marinha, 87% representam o grupo dos peixes, 10% de Crustáceos (57.344,8 toneladas) e 3% de Moluscos (13.989,4 toneladas) MPA (2013). Essa produtividade pesqueira movimentou um PIB de R$ 5 bilhões em 2011 (MPA, 2014), e apresentou um consumo *per capita* de 9 kg em 2020 (PEIXE BR, 2020).

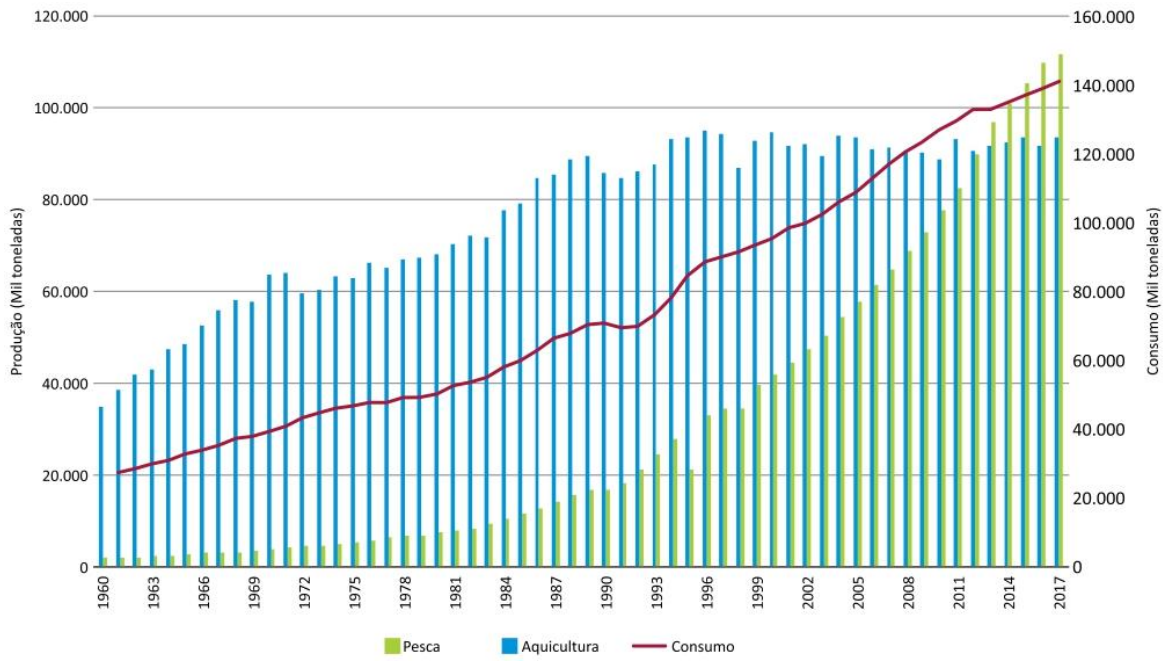


Figura 1. Produção pesqueira e consumo mundial por captura e aquicultura entre 1960 e 2017 (Em 1000 t). (FAO, 2019b, 2019c). Gráfico elaborado por Ximenes e Vidal (2019).

1.2. Região Norte do Brasil

A região Norte do Brasil possui uma área estimada em 3.870.000 km², onde a pesca extrativa marinha e estuarina representam importante atividade. Em 2011, foi responsável por 231.409,8 toneladas de pescados, dos quais cerca de 137 mil toneladas foram capturadas de águas continentais e 94.265,3 t em águas marinhas (MPA, 2013). Além disso, existe uma alta diversidade de espécies na costa Norte do Brasil (MARCENIUK et al., 2019). No qual foram registradas na costa Norte brasileira 151 espécies de peixes marinhos (SOARES et al., 2017), 49 espécies de moluscos, sendo 30 bivalves e 19 gastrópodes (BEASLEY et al., 2005) e 87 espécies de crustáceos durante o Programa REVIZEE/NORTE.

Essa biodiversidade é influenciada pela descarga do rio Amazonas e condições ambientais favoráveis da região amazônica (FERREIRA et al., 2019). Além disso, esta região

se sobressai em relação ao consumo, já que apresenta o maior consumo *per capita* nacional com média cerca de 30 kg/hab/ano (SEBRAE, 2015), sendo que em comunidades ribeirinhas esse consumo *per capita* pode ultrapassar 130 kg/hab/ano (ISAAC; ALMEIDA, 2011; OLIVEIRA et al., 2010; SOARES et al., 2018).

Em 2011, o Pará foi o responsável por 153 mil toneladas de pescado, das quais, cerca de 142,9 mil toneladas tiveram origem extrativista, o que torna este estado como o maior produtor da pesca extrativa marinha e estuarina (MPA, 2013). No cenário regional, este estado apresenta a mais alta produtividade em relação a outros estados da região Norte, com 87,5 mil toneladas de pescado capturados (MPA, 2013).

Esse protagonismo do estado do Pará no cenário pesqueiro brasileiro, deve-se muito a pesca artesanal que tem contribuído decisivamente, uma vez que representa uma das principais fontes de ocupação de mão-de-obra, alimentos e renda para um grande contingente da população estadual (SANTOS et al., 2005). Nessa região, apesar da atividade pesqueira apresentar relevantes multiplicadores econômicos e sociais, a produção do pescado está concentrada em um número muito reduzido de municípios (DINIZ et al., 2010), sendo o nordeste paraense com grande relevância, já que municípios como Belém, Vigia e Bragança concentram os maiores desembarques de pescado do Pará (FURTADO-JÚNIOR et al., 2006).

1.3. Produtividade pesqueira das espécies de crustáceos e moluscos

Conforme os dados do MPA (2013), em 2011, a produção extrativa marinha brasileira apresentou uma pequena porção para as categorias “Crustáceos” e “Moluscos”. Em relação a produção de crustáceos, o camarão-sete-barbas, camarão-rosa e camarão branco (Família Penaeidae), juntamente com o caranguejo e a lagosta, sendo esta última uma das principais espécies destinadas à exportação, representaram juntos, 79% do total da produção de crustáceos marinhos no Brasil (**Figura 2**) (MPA, 2013).

Os camarões da família Penaeidae apresentam grande importância comercial, sendo capturados indivíduos juvenis nos estuários e baías pela pesca artesanal; e capturados indivíduos adultos em mar aberto pela pesca artesanal e industrial (ARAGÃO et al., 2001; ARAGÃO et al., 2016). Os camarões fornecidos pela pesca artesanal, geralmente, são comercializados como produto fresco, conservado em gelo ou sal e, são destinados ao mercado regional ou nacional, enquanto aqueles fornecidos pela pesca industrial são embalados e vendidos para o mercado externo (ARAGÃO et al., 2016).

Com relação a produção de moluscos, as espécies mais capturadas em águas marinhas foram os mexilhões, seguido por sururu, representando 27% e 15% da produção total,

respectivamente (**Figura 2**) (MPA, 2013). No entanto, para essas designações não há uma definição de quais espécies correspondem. Segundo Pereira et al. (2003) as espécies de mitilídeos de interesse comercial são *Mytella falcata* (*Mytella strigata*) e *Mytella guyanensis* (*Mytella brasiliensis*) (**Figura 3**), além de *Perna perna* e *Mytilus platensis*, que com exceção do último, são encontradas em todo litoral brasileiro.

Entre as principais espécies exploradas pela pesca artesanal na região Norte, encontram-se crustáceos como o caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*), o camarão rosa (*Penaeus subtilis*), o camarão branco (*Penaeus schmitti*) e o camarão sete barbas (*Xiphopenaeus* spp) (**Figura 3**) (VASCONCELOS et al. 2009). A produção de mexilhão proveniente da pesca extrativa marinha e estuarina no Pará foi em média 59,4 toneladas (FURTADO JÚNIOR et al., 2006), valor provavelmente subestimado pela falta de estatísticas recentes de desembarques, pois somente na Região Bragantina, a produtividade atingiu 32,99 toneladas em 2005 (SOUZA et al., 2005).

Além de moluscos, Furtado Júnior et al. (2006) também averiguaram o desembarque para alguns Crustáceos no Estado do Pará, em que as espécies ou grupos de espécies mais importantes em volume de captura foram o caranguejo e camarão rosa, e em valor econômico, lagostas e camarão-rosa (**Figura 3**). No Pará, a maioria dos camarões capturados pela pesca artesanal são desembarcados em Bragança, Viseu e Curuçá (ARAGÃO et al., 2016).

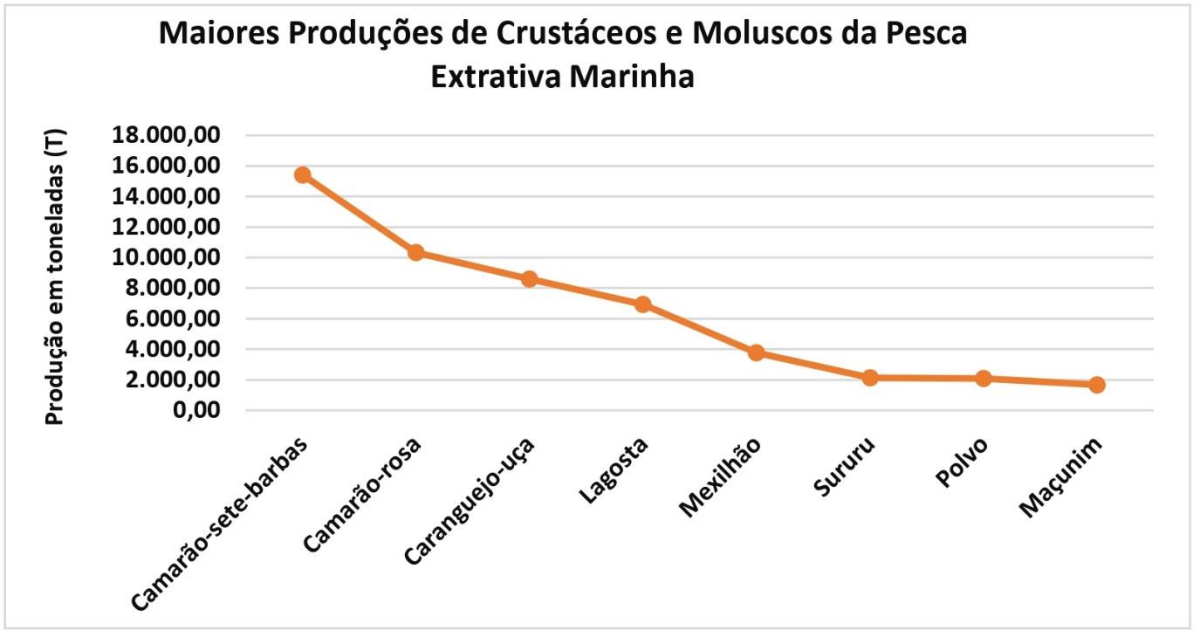


Figura 2. Maiores produções de Crustáceos e Moluscos de origem extrativa marinha por espécie para o ano de 2011 (MPA, 2013).

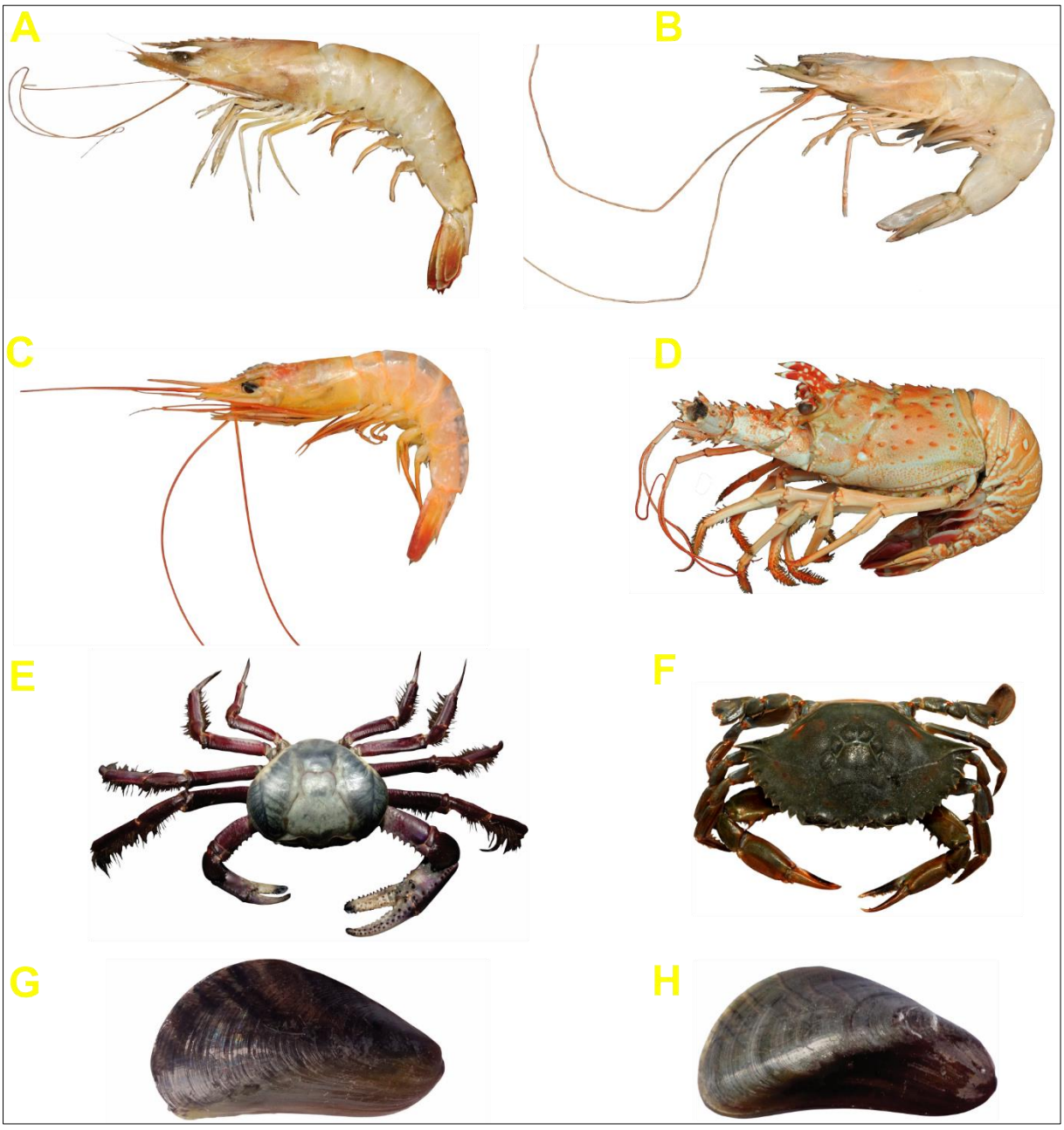


Figura 3. Principais espécies de crustáceos e moluscos de interesse comercial. A) Camarão rosa *(Penaeus subtilis)*; B) Camarão branco (*Penaeus schimitti*); C) Camarão sete barbas (*Xiphopenaeus* spp); D) Lagosta (*Panulirus* spp); E) caranguejo-uça (*Ucides cordatus*); F) Siri (*Callinectes* spp); G) Sururu/mexilhão (*Mytella strigata*), H) Sururu/mexilhão (*Mytella brasiliensis*).

1.4. Região Bragantina

O município de Bragança está localizado no entorno do estuário do rio Caeté, um ecossistema com grande produtividade natural, área de berçário para peixes, camarões, caranguejos e outros organismos (BRAGA et al., 2006). Além disso, a região apresenta uma extensa área de manguezal (SOUZA FILHO., 2005). Esses ecossistemas, além de apresentarem rica biodiversidade, também exercem função social devido a exploração de peixes, moluscos, crustáceos e outros recursos naturais, que proporcionam emprego e renda para comunidades costeiras e ribeirinhas (SANTOS et al., 2018).

A atividade pesqueira em Bragança se caracteriza em pequena escala (artesanal), que ocorre dentro do estuário e com um curto tempo de operação, e pesca em grande escala (industrial), que acontece distante do estuário, com tempo mínimo de 10 dias (BRAGA et al., 2005). Tanto a pesca artesanal quanto industrial capturam uma elevada diversidade de espécie que abastecem desde o mercado regional até o internacional (BRAGA et al., 2006). No entanto, a pesca de pequena escala é a maior responsável pelo abastecimento de pescado que ocorre na cidade (ESPÍRITO SANTO; ISAAC, 2012).

Na região bragantina, a pesca apresenta grande importância econômica em comunidades adjacentes, que capturam crustáceos como camarão (*Penaeus schmitti*), caranguejo (*Ucides cordatus*), siri (*Calinectes sp*), e moluscos como sururu (*Mytella* sp), turu (*Teredo* sp) ostra (*Crassostrea rhizophorae*) e sarnambi (*Phacoides pectinatus*) (VIEIRA et al., 2014), Uma grande parte desses mariscos capturados no estuário e no manguezal abastece o mercado interno de Bragança, tendo em vista a alta demanda e consumo (ESPÍRITO SANTO et al., 2005; MONTEIRO, 2012;).

1.5. Feira Livre de Bragança: Comercialização de Crustáceos e Moluscos

A Comercialização desses mariscos ocorre principalmente na Feira Livre da cidade (**Figura 4**), sendo um importante polo dessa atividade (FREIRE et al., 2011; SANTANA et al., 2020, SANTANA, 2020). Em um trabalho mais recente, Santana et al. (2020) caracterizaram a dinâmica de comercialização dos crustáceos e moluscos, identificando as designações comerciais, quantidade de produção ao longo do ano, variação de preço e possível local de origem desses mariscos. Em um trabalho anterior, Freire et al. (2011) examinaram aspectos econômicos quanto as categorias de pescados comercializados, intervalo de produção e preço.

O comércio dos crustáceos e moluscos é realizado por meio de designação comercial (nome comum), o que favorece o agrupamento de uma variedade de espécies vendidas através de uma única denominação, ou então o uso de mais de um nome para uma única espécie (PREVIERO et al., 2013; SANTANA et al., 2020). No trabalho realizado no local por Freire et al. (2011), foram encontradas oito espécies de crustáceos sendo vendidas por meio do nome comercial: *Ucides cordatus* (caranguejo-uçá), *Callinectes danae* e *Callinectes bocourti* (siri), *Penaeus schmitti*, *Xiphopenaeus kroyeri*, *Penaeus subtilis*, *Macrobrachium surinamicum* e *Macrobrachium amazonicum* (camarões), e para moluscos, a espécie *Mytella* sp (sururu).



Figura 4. Feira Livre de Bragança e comércio de Crustáceos e Moluscos: A) Feira do Caranguejo; B) Feira do Camarão; C) Camarão Salgado; D) Siri; E) Caranguejo; F) Sururu/Mexilhão.

Santana et al. (2020) identificaram as principais designações comerciais empregadas para esses mariscos, relatando o uso de nomes comerciais para uma só espécie, como por exemplo *Xiphopenaeus kroyeri* sendo comercializada por camarão piré e camarão piticaia. Desse modo, pode-se inferir que a nomenclatura popular não é confiável para identificação precisa da espécie comercializada. Além disso, tanto Freire et al. (2011), quanto Santana et al. (2020) utilizaram apenas a morfologia para identificar as espécies. Nesse contexto, a identificação precisa das espécies comercializadas baseadas em ferramentas moleculares torna-se indispensável para auxiliar o ordenamento desse comércio, podendo desvendar a real diversidade comercializada.

1.6. Ferramentas Genéticas para Identificação de Espécies

A identificação de espécie é realizada, tradicionalmente, com base em caracteres morfológicos, no entanto, as abordagens morfológicas se apresentam limitadas até certo ponto, como erros de identificação devido a ocorrência de plasticidade fenotípica, e a presença de espécies crípticas, além da intepretação de chaves de identificação, que além de demandar um conhecimento específico de taxonomia, geralmente se restringem à um estágio de vida em particular, principalmente indivíduos adultos (HEBERT et al., 2003a). Além disso, o número limitado de especialistas em vários grupos taxonômicos passou a dificultar o registro preciso da biodiversidade (PIRES e MARINONI, 2010).

Em decorrência dessas dificuldades, novas metodologias foram necessárias para catalogação da biodiversidade. Nesse contexto, a genética vem possibilitando a utilização de diversas técnicas e métodos para identificação de espécies (SANTANA, 2020; TEKPINAR; KALMER, 2019), além de estudos filogenéticos e de filogeografia (DA SILVA et al., 2015; DA SILVA et al., 2017), assim como pesquisas forenses (VENEZA et al., 2018, AMORIM, 2021), investigação de diversidade e de conservação (HEBERT et al., 2003; IYENGAR, 2014; MARTINS et al., 2021).

Quanto a ferramenta de identificação de espécies, dentre os marcadores moleculares do DNA mitocondrial, temos o DNA *Barcode* ou "código de barras do DNA" para discriminação de táxons. Essa ferramenta foi idealizada por Hebert et al. (2003a), e corresponde a um fragmento de aproximadamente 650 pares de base da primeira porção do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase, subunidade I (COI).

Essa ferramenta vem sendo difundida no meio científico, sendo comum o uso de iniciadores universais para amplificar a porção *Barcode* do gene COI, como, por exemplo, os desenvolvidos por Folmer et al. (1994) e Ward et al. (2005). No entanto, para crustáceos como os camarões, é frequente a utilização de outra porção do COI para identificar as espécies, utilizando os iniciadores de Palumbi e Benzie (1991), devido a difícil padronização da reação de PCR com os iniciadores da porção, tradicionalmente chamada de DNA *Barcode*. Alguns trabalhos estão tendo êxito para discriminação de espécies de camarão utilizando a segunda metade do COI (SILVA-OLIVEIRA et al., 2011; UDAYASURIYAN et al., 2015), o que também demonstra a eficiência dessa região como *Barcode* (marcador espécie-específico).

O DNA *Barcode* vem sendo frequentemente utilizado para discriminação de crustáceos (BEZENG; BANK, 2019; MARQUES, 2015) e de moluscos (PEJOVIC et al. 2016; SUN et al., 2016). Inúmeros trabalhos já foram realizados utilizando essa ferramenta, por exemplo na identificação de crustáceos e moluscos após processamento culinário (BECKER, 2018), e na detecção de crustáceos e moluscos com identificação incorreta (HARRIS et al., 2016).

Para moluscos como os bivalves, além de servir como identificação e discriminação de espécies, a região *Barcode* tem mostrado a existência de duas linhagens mitocondriais matrilinear para a espécie *Mytella strigata* (= *Mytella charruana*) no Brasil, tratando-se de uma só espécie ao utilizar outro marcador molecular (SOUZA et al., 2015). De forma geral, a primeira porção e segunda porção do gene COI podem ser ferramentas valiosas na identificação espécie-específica.

1.7. JUSTIFICATIVA

Crustáceos e moluscos apresentam grande relevância como alimento humano, sendo fonte de renda para os pescadores e comerciantes (VIEIRA et al., 2014). No nordeste paraense, Bragança se destaca por ser um dos principais entrepostos de pescados do Estado, sendo responsável pelo desembarque de espécies com grande volume de captura (Caranguejo) e com alto valor comercial (Lagosta) (BENTES et al., 2012; FURTADO JÚNIOR et. al., 2007). Esses mariscos capturados apresentam alta demanda e consumo em Bragança (ESPÍRITO SANTO et al, 2005, MONTEIRO, 2012; VIERA et al., 2014) além também de alguns mariscos, como o camarão, abastecerem várias cidades do Estado do Pará (ESPÍRITO SANTO et al., 2005).

Em Bragança, os crustáceos e moluscos, assim como outros pescados, chegam a Feira Livre e são vendidos praticamente durante todo ano, sendo ofertados por meio da nomenclatura popular (SANTANA et al., 2020). No entanto, um mesmo nome pode ser atribuído a várias

espécies (ARDURA et al., 2010), assim como várias denominações podem fazer referência à um único táxon (PREVIERO et al., 2013). Essas imprecisões podem gerar dúvida sobre qual pescado está sendo comercializado e até mesmo prejudicar o consumidor.

A comercialização realizada somente através do nome vernacular pode favorecer a ocorrência de fraude, na qual espécies com maior valor comercial são substituídas por espécies de menor valorização (CARVALHO et al., 2011; JACYNTHO et al., 2021;), além de não evidenciar de fato a diversidade de espécies ofertadas (MARTINS et al., 2021). Além disso, a identificação precisa de espécies ainda apresenta dificuldades, o que prejudica a avaliação e monitoramento desses recursos pesqueiro na região, já que não há padronização no emprego do nome vernacular pelos pescadores e comerciantes (ESPÍRITO SANTO; ISAAC, 2012). Desta forma, a identificação precisa de crustáceos e moluscos comercializados faz-se necessária, para conhecimento da real diversidade e melhor monitoramento deste comércio na região.

Em decorrência disso, a abordagem molecular, mais precisamente, a identificação por meio do COI, têm se destacado para identificação e discriminação de espécies. Essas ferramentas atuam de forma eficiente e segura, como já comprovado em vários estudos (BEZENG; BANK, 2019; PEJOVIC et al. 2016; SILVA-OLIVEIRA et al., 2011; UDAYASURIYAN et al., 2015). Portanto, no presente trabalho, utilizou-se fragmentos do gene COI para identificação das espécies de crustáceos e moluscos comercializadas na Feira Livre de Bragança, visando conhecer a real diversidade comercializada e assim gerar informações para auxiliar no ordenamento da comercialização de pescado na região, com implicações para o gerenciamento pesqueiro.

1.8. OBJETIVOS

1.8.1. Objetivo Geral

- Realizar a identificação molecular das espécies/categorias de crustáceos e moluscos comercializadas na Feira Livre de Bragança, utilizando o COI mitocondrial.

1.8.2. Objetivos Específicos

- Realizar levantamento de todas as categorias/espécies que estão sendo comercializadas na Feira Livre de Bragança;

- Realizar a identificação molecular dos táxons coletados, utilizando a segunda porção da COI para camarões e primeira porção da COI para demais grupos;

- Avaliar o número de designações utilizadas para cada grupo e identificar o número de espécie(s) em cada categoria;

- Verificar a presença de espécies nativas e exóticas na comercialização;

- Gerar um banco de DNA para toda a carcinofauna e malacofauna comercializada na Feira Livre de Bragança.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAGÃO, J. A. N; CINTRA, I. H. A.; DE ARAÚJO SILVA, K. C. Situação da pesca de camarões na plataforma continental amazônica/Current situation of shrimp fishery on the amazon continental. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 3, n. 2, p. 61-76, 2016.

ARAGÃO, J.A.N., CINTRA, I.H.A., SILVA, K.C.A. & VIEIRA, I.J.A. A explotação camaroeira na costa Norte do Brasil. *Bol. Téc. Cient. Cepnor*, 1(1): 7-40, 2001

ARDURA, A. et al. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. **Biological Conservation**, v. 143, n. 6, p. 1438-1443, 2010.

AMORIM, M. V. A. Desenvolvimento de marcadores moleculares mitocondriais para a identificação forense de psitacídeos alvos do comércio ilegal Belo Horizonte. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Minas Gerais. Pg. 58. 2021

BARTHEM, R. B.; FABRÉ, N. N. Biologia e diversidade dos recursos pesqueiros da Amazonia, v. 1, p. 17-62, 2004.

BEASLEY, C.R.; FERNANDES, C.M. et al. 2005. Molluscan diversity and abundance among coastal habitats of Northern Brazil. **Ecotropica**, 11: 9-20.

BECKER, M. L. Avaliação da aplicabilidade da técnica DNA barcoding em invertebrados marinhos após processamento culinário. Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências. Florianópolis. 113 pg. 2018.

BENTES, A. B.; PEREIRA, L.; PEREIRA J.; CRUZ, P.; MARQUES, C.; BENTES, B. Estimativa da abundância e estrutura da população de portunidae (Crustacea: Decapoda) em um estuário da costa norte do Brasil. **Biota Amazônia**. Macapá, v. 3, n. 2, p. 138-148, 2013.

BEZENG, B. S.; BANK H. F. V. DNA barcoding of southern African crustaceans reveals a mix of invasive species and potential cryptic diversity. **Feng ZHANG, Nanjing Agricultural University**, CHINA. 2019.

BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS, G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura/Current scenario of fish production in the world, Brazil and Pará State: emphasis on aquaculture. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, p. 50-58, 2016.

BRAGA, C.; ESPÍRITO SANTO R. V.; GIARRIZZO T. A Considerações sobre a comercialização do pescado no município de Bragança - PA. Boletim Técnico-Científico do CEPNOR, v. 6, p. 105-120, 2006.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. RIISPOA: Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto nº 120.691. Brasília, 1984.

De Grave S & Fransen CHJM (2011) Carideorum catalogus: the recent species of the dendrobranchiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda). **Zoologische Mededelingen**, 85(9): 195–589.

CARVALHO. D.C., NETO, D. A. P. BRASIL B. S. A. F. E OLIVEIRA; D A. A. DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil, **Mitochondrial DNA**, 22:sup1, 97-105, 2011.

DA SILVA, R., VENEZA, I., SAMPAIO, I., ARARIPE, J., SCHNEIDER, H., E GOMES, G. High levels of genetic connectivity among populations of yellowtail snapper, ocyurus chrysurus (Lutjanidae–Perciformes), in the Western South Atlantic revealed through multilocus analysis. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0122173, 2015.

DA SILVA, R. D., SILVA, D., VENEZA, I., SAMPAIO, I., SCHNEIDER, H., E GOMES, G. Development of EPIC-PCR Markers for Lutjanus purpureus (Lutjanidae-Perciformes) and their Potential Applicability in Population Analyses. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 2095-2100, 2017.

DINIZ, M. J. T., DINIZ, M. B., DE OLIVEIRA JÚNIOR, J. N., FERREIRA, A. L., E DA SILVA ROSA, R. D. F. Setor pesqueiro no estado do pará: concentração esapacial e fragilidades da cadeia produtiva. **Revista de Estudos Sociais**, v. 12, n. 23, p. 30-61, 2010.

ESPÍRITO SANTO, R.D., ISAAC. V.J., SILVA, L. M.A., MARTINELLI, J.M., HIGUCHI, H., E SAINT-PAUL, U. Peixes e camarões do litoral bragantino, Pará, Brasil. **Belem: Madam,** 2005.

ESPÍRITO-SANTO, R. V.; ISAAC, V. J. Desembarques da pesca de pequena escala no município de Bragança – pa, brasil: esforço e produção. *Boletim do laboratório de hidrobiologia*, p. 31-48, 2012.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture. p. 204, 2016. Disponível em: http://www.fao.org/3/i5555e/i5555e.pdf . Acessado em: 15 de junho de 2020a.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture. p. 224, 2020. Disponível em: http://www.fao.org/3/ca9229en/CA9229EN.pdf .Acessado em: 16 de junho de 2020b.

FAO. Organização Das Nações Unidas Para Alimentação E A Agricultura. FAOSTAT. Dados. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/es/#data. 2019b.

FOLMER, O.; BLACK, M.B.; HOCH, W.; LUTZ, R.A; VRIJEHOCK, R.C. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3: 294–299.

FREIRE, J. L.; SILVA, B. B.; SOUZA, A. S. Aspectos Econômicos e Higiênico-Sanitários da Comercialização do Pescado no Município de Bragança (PA). Macapá, v. 1, n. 2, p. 17-28, 2011.

FURTADO JÚNIOR, I.; TAVARES M. C. S.; E BRITO C. S. F. Estatísticas das produções de pescado estuarino e marítimo do estado do Pará e políticas pesqueiras. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciênc**, v. 1, 2006.

HARRIS, D. J.; ROSADO, D.; XAVIER, R. DNA barcoding reveals extensive mislabeling in seafood sold in Portuguese supermarkets. **Journal of Aquatic Food Product Technology**. 2016.

HEBERT, P. D. N., CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; WAARD, J. R. Biological identifications through DNA Barcode. Proceedings of the Royal Society of London Series B, **Biological Sciences**, 270: 313-332, 2003.

HIPOLITO M, GENOVEZ M.E. Doenças transmitidas pela ingestão de pescados. Revista **CRMV-SP**. 2019.

ISAAC, V. J.; ALMEIDA, M. C. El consumo de pescado en la Amazonía brasileña. COPESCAL. Documento Ocasional, n. 13, p. I, 2011.

IYENGAR, A. Forensic DNA analysis for animal protection and biodiversity conservation: a review. **Journal for Nature Conservation**, v. 22, n. 3, p. 195-205, 2014.

KRIS-ETHERTON, P. M., HARRIS, W. S., E APPEL, L. J. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. **Circulation,** v. 106, n. 21, p. 2747-2757, 2002.

MARQUES, C. G. "Relações Genéticas em Espécies de Camarões Peneídeos (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) de Ocorrência no Litoral Brasileiro". Universidade Federal De São Carlos. Programa De Pós-Graduação Em Genética e Evolução. 137 pg. 2015.

MARTINS, T. S. DNA *Barcode* para rastrear o comércio de Elasmobrânquios na região costeira amazônica. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal do Pará - *Campus* Universitário de Altamira. Pg. 72. 2020.

MONTEIRO, M. A. B. Cadeia produtiva e contabilidade social do caranguejo-uçá na cidade de Bragança, Pará, Brasil. 2012. 53 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) - Curso de Mestrado e Doutorado em Recursos Biológicos da Zona Costeira Amazônica, Universidade Federal do Pará - UFPA Bragança,2012

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim estatístico de pesca e aquicultura 2011. p.60, 2013.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. 2014. Disponível em: http://formsus.datasus.gov.br/novoimgarq/16061/2489520_218117. pdf Acessado em: 07/04/2022.

OLIVEIRA, R.C., BERNARDI, J.V.E, WANDERLEY, R., ALMEIDA, R. e MANZATTO, A.G. Fish consumption by traditional subsistence villagers of the Rio Madeira (Amazon): impact on hair mercury. **Annals of Human Biology**, 37: 629–642. 2010

OLIVEIRA, S. A. G., e Amancio, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. Segurança alimentar e nutricional, v. 19, n. 2, p. 83-93, 2012.

PALUMBI, S.; BENZIE, J. (1991). Large mitocondrial DNA differences between morphologically similar Penaeid shrimp. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 1, 27e34.

PEIXE BR, 2020. Anuário Peixe BR da Piscicultura 2020. Associação Brasileira da Piscicultura, São Paulo, p. 1. Available at: https://www.peixebr.com.br/anua rio-2020/.

PEJOVIC, I.; ARDURA, A.; MIRALLES, L; ARIAS, A.; BORRELL, Y. J.; GARCIA-VAZQUEZ, E. DNA barcoding for assessment of exotic molluscs associated with maritime ports in northern Iberia, **Marine Biology Research**, 12:2, 168-176. 2016.

PEREIRA, O. M., HILBERATH, R. C., ANSARAH, P. R. A. C., E GALVÃO, M. S. N. Estimativa da produçao de Mytella falcata e de M. guyanensis em bancos naturais do estuário de Ilha Comprida-Sp-Brasil. **Bol Inst Pesca Sao Paulo**, v. 29, p. 139-149, 2003.

PIRES, A.C.; MARINONI, L. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. **Biota Neotrop**. v. 10, n. 2, 2010.

PREVIERO, Marília; MINTE-VERA, Carolina V.; MOURA, Rodrigo Leão de. Fisheries monitoring in Babel: fish ethnotaxonomy in a hotspot of common names. **Neotropical Ichthyology,** v. 11, n. 2, p. 467-476, 2013.

SANTANA, P. DNA Barcode Para Avaliar A Diversidade De Peixes Comercializada No Nordeste Paraense, Amazônia Costeira. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal do Pará- Campus Universitário de Altamira. Pg. 71. 2020.

SANTANA. P.; BRÍGIDA, N. S.; SILVA, R.; GONÇALVES, J.; VENEZA, I.; CORREA, R.; MARTINS, T.; EVANGELISTA-GOMES, G. Prospecção de Crustáceos e Moluscos comercializados na Feira livre de Bragança, Pará, Amazônia costeira. Ciência e Tecnologia do Pescado: Uma Análise Pluralista. 307-328. 2020.

SANTOS, M. A. S. A cadeia produtiva da pesca artesanal no estado do Pará: estudo de caso no nordeste paraense. 2005.

SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio; EMPRESAS–SEBRAE, Pequenas. **Aquicultura no Brasil**: série estudos mercadológicos. 2015.

SILVA-OLIVEIRA, G. C.; READY, J. S.; IKETANI, G.; BASTOS, S.; GOMES, G.; SAMPAIO I.; MACIEL, C. The invasive status of Macrobrachium rosenbergii (De Man, 1879) in Northern Brazil, with an estimation of areas at risk globally. Volume 6, Issue 3: 319–328. 2011.

SOARES, J. M. et al. Mercury in fish from the Madeira River and health risk to Amazonian and riverine populations. **Food Research International**, v. 109, p. 537-543, 2018.

SOARES, L. M. S, ALVES, C. B. M., MELO, F. A. G., MORAE, L. E., LIMA, S. M. Q., & RAMOS, T. P. A. Ictiofauna das ecorregiões de água doce e marinhas do nordeste brasileiro. **Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia**, v. 122, p. 16-35, 2017.

SOUZA FILHO, P.W.M. 2005. Costa de manguezais de macromaré da Amazônia: cenários morfológicos, mapeamento e quantificação de áreas usando dados de sensores remotos. Revista **Brasileira de Geofísica** 23: 427-435

SOUZA, G., NASCIMENTO, J., MOURÃO, K., e TAVARES, M. Plano de Desenvolvimento Para o Arranjo Produtivo Local da Pesca e Aquicultura da Região Bragantina. **Núcleo Gestor Tecnológico da Pesca e Aquicultura. Governo do Estado do Pará**, p. 55, 2005

SOUZA, T. O.; ALVES, F. A. S.; BEASLEY, C. R.; SIMONE, L. R. L.; MARQUES-SILVA, N. S.; SANTOS-NETO G. C.; TAGLIARO, C. H. Population structure and identification of two matrilinear and one patrilinear mitochondrial lineages in the mussel *Mytella charruana*. Estuar Coast Shelf Sci. **Elsevier Ltd**; 156: 165-174. 2015.

SUN, S., LI, Q., KONG, L. et al. DNA barcoding reveal patterns of species diversity among northwestern Pacific molluscs. Sci Rep 6, 33367. 2016.

TEKPINAR, A. D.; KALMER, A. Utility of various molecular markers in fungalidentification and phylogeny. Cramer in Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, www.borntraeger-cramer.de Germany DOI: 10.1127/nova_hedwigia/2019/0528. 2019.

UDAYASURIYAN R.; SARAVANA B. P.; VADIVALAGAN C.; RAJKUMAR G. Efficiency of different COI markers in DNA barcoding of freshwater prawn species. **Journal of Entomology and Zoology Studies**; 3 (3): 98-110. 2015.

VASCONCELOS, M. D. A. C.; DIEGUES, A. C.; SALES, R. R. de. Alguns aspectos relevantes relacionados à pesca artesanal costeira nacional. **Brasília: Seap/PR-Pnud**, 2009.

VENEZA, I., SILVA, R., FREITAS, L., SILVA, S., MARTINS, K., SAMPAIO, I., SCHNEIDER, H., E GOMES, G. Molecular authentication of Pargo fillets Lutjanus purpureus (Perciformes: Lutjanidae) by DNA barcoding reveals commercial fraud. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 1, 2018.

VIDAL, F. M.; XIMENES, L. F. Produção de Pescados na Área de Atuação do BNB. Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – ETENE. Ano 4. Nº 91. Agosto 2019**.**

VIEIRA, N., SIQUEIRA, D.E., EVER, M.., E GOMES. M. Divisão sexual o trabalho e relações de gênero em contexto estuarino-costeiro. **Amazônica-Revista de Atrapologia,** v. 5, n. 3p. 806-835, 2014

WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; HEBERT, P. D. N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, 360, 1847e1857.

Capítulo II

VALIDAÇÃO COM COI MITOCONDRIAL DE CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS COMERCIALIZADOS NA FEIRA LIVRE DE BRAGANÇA, AMAZÔNIA COSTEIRA

Validação com COI mitocondrial de Crustáceos e Moluscos comercializados na Feira Livre de Bragança, Amazônia costeira

Jefferson Sousa[1] & Grazielle Evangelista Gomes[1]*

[1]Laboratório de Genética Aplicada, Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará, Campus Bragança

*Autor Correspondente:
Grazielle Gomes
Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará – Bragança,
Alameda Leandro Ribeiro s/n; Aldeia; Bragança – PA – Brasil; CEP: 68.600-000.
+55 091 3425 1593
e-mail: grazielle@ufpa.br

Artigo a ser submetido (periódico em seleção)

1. INTRODUÇÃO

O pescado é o conjunto de organismos aquáticos (peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos) de água doce ou salgada usados na alimentação humana (BRASIL, 1984; HIPOLITO; GENOVEZ, 2019). É considerado um alimento de grande importância, pois possui alto valor nutricional, é rico em proteínas de elevado valor biológico, com aminoácidos essenciais, vitaminas lipossolúveis (A e D), além de minerais como cálcio, fósforo e ferro (GIRÃO et al., 2015).

Fatores como a busca por hábitos alimentares mais saudáveis, juntamente com o aumento demográfico, tem ocasionado a elevação do consumo e maior demanda por pescado nos últimos anos (BRABO et al, 2016; FAO, 2020). No período de 1990 a 2017, ocorreu um crescimento médio anual das taxas de consumo *per capta*, de 3,9% para peixes, 2,9% para crustáceos e, 2,7% para moluscos (FAO, 2020). Na região Norte do Brasil, no último censo em 2011, o Estado do Pará possuiu um volume de pescado desembarcado de 142,9 mil toneladas (BRASIL, 2013). Além disso, existe uma alta diversidade de espécies na costa Norte do Brasil (BEASLEY et al., 2005; MARCENIUK et al., 2019; SOARES et al., 2017), sendo influenciado pelas condições ambientes favoráveis da região amazônica (FERREIRA, et al., 2019).

O Nordeste paraense apresenta grande relevância em relação a produtividade pesqueira da costa Norte do Brasil, já que municípios como Belém, Vigia e Bragança concentram os maiores desembarques de pescado do Pará (FURTADO JÚNIOR et al., 2006). No município de Bragança, a pesca artesanal proporciona a captura e comercialização de peixes, crustáceos e moluscos, sendo de grande importância para a economia do município (SANTOS et al., 2018), assim como de outros Estados (BRAGA et al., 2006).

O município de Bragança está localizado no entorno do estuário do rio Caeté e apresenta uma extensa área de manguezal (BRAGA et al., 2006; SOUZA FILHO, 2005). Esses ecossistemas, além de apresentarem uma rica biodiversidade, possuem função social, já que a exploração de peixes, moluscos, crustáceos e outros recursos naturais gera emprego e renda para comunidades costeiras (SANTOS et al., 2018).

A atividade extrativista em Bragança fornece crustáceos e moluscos de alto valor comercial (lagosta e camarão rosa) e com grande volume de captura (caranguejo e camarão rosa) (FURTADO JÚNIOR et. al., 2006). Muito dos crustáceos e moluscos capturados no estuário e no manguezal abastecem o mercado interno, e são vendidos principalmente na Feira

Livre da cidade, sendo uma área referencial do comércio bragantino (FREIRE et al, 2011; MARTINS et al., 2021; SANTANA et al., 2020). A maior parte do pescado (61%) é disposto a venda nesse espaço (BRAGA et al., 2006), onde verifica-se o comércio para uma grande variedade de espécies, como camarões, mexilhões, caranguejos, lagostas e siris (FREIRE et al, 2011; SANTANA et al., 2020).

O comércio de crustáceos e moluscos é feito por meio de nomenclatura popular, o que não é confiável para identificação precisa da espécie comercializada, já que alguns nomes populares podem ser aplicados para mais de uma espécie, ou vários táxons para a mesma designação comercial, como registrado por Santana et al. (2020) e Freire et al. (2011). Além disso, essa comercialização por meio da nomenclatura popular pode facilitar a ocorrência de fraude, com substituição de espécies (JACYNTHO et al., 2021), também ocultar a diversidade real comercializada e potencializar problemas para a conservação de espécies (MARTINS, et al., 2021), além de dificultar o monitoramento do comércio (ESPÍRITO SANTO; ISAAC, 2012)

Isso torna necessário a identificação precisa das espécies comercializadas, tendo em vista que as identificações por morfologia, como realizadas nos últimos trabalhos para esses grupos na Feira Livre (FREIRE et al., 2011; SANTANA et al., 2020), podem apresentar limitações, pois há ocorrência de plasticidade fenotípica, possibilidade de espécies crípticas, além da necessidade da utilização de chaves de identificações um tanto complexas e que se restringem a um estágio de vida (HEBERT et al. 2003a).

A identificação baseada em ferramentas moleculares tem se destacado devido a eficiência e robustez no reconhecimento das espécies (ARDURA et al., 2010). Dentre os marcadores mitocondriais, temos o DNA *Barcode*, um fragmento de 650 pares de base da primeira porção do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase, subunidade I (COI) (HEBERT et al., 2003a). Para amplificar essa região, foram desenvolvidos iniciadores considerados universais (FOLMER et al., 1994, WARD et al., 2005). No entanto para crustáceos como os camarões, é frequente a utilização de outra porção do gene COI para identificar as espécies, amplificada utilizando os iniciadores de Palumbi; Benzie (1991), devido a uma melhor padronização da reação de PCR. Essa segunda porção da COI já foi testada e validada para espécies de camarões (SILVA-OLIVEIRA et al. 2011; UDAYASURIYAN et al., 2015).

O DNA *Barcode* vem sendo frequentemente utilizado para identificação de crustáceos (BEZENG; BANK, 2019; MARQUES, 2015) e de moluscos (PEJOVIC et al. 2016; SUN et al., 2016). Como em trabalhos de detecção de crustáceos e moluscos com identificação incorreta (HARRIS et al., 2016) e após o processamento culinário (BECKER, 2018). Já para moluscos

como os bivalves, a região *Barcode* tem mostrado a existência de duas linhagens mitocondriais matrilinear para a espécie *Mytella strigata* (= *Mytella charruana*), tratando-se de uma só espécie ao utilizar outro marcador molecular (SOUZA et al., 2015).

Portanto, o presente trabalho avaliou a diversidade de espécies de Crustáceos e Moluscos que são ofertados por meio da nomenclatura comercial na Feira Livre de Bragança, utilizando para isso, a região do gene COI, objetivando a identificação molecular dos espécimes.

2. METODOLOGIA

2.2. Área de Estudo

O trabalho foi realizado no município de Bragança – PA, mais precisamente na Feira Livre da cidade (**Figura 1**). O local denota uma alta relevância socioeconômica, com geração de renda para várias famílias (BRAGA et al., 2006; FREIRE et al., 2011). A Feira Livre apresenta diferentes espaços, onde são comercializados produtos oriundos da pesca, agricultura, pecuária e outros produtos em geral (FERREIRA et al., 2012). Em questão de pescado, são comercializados um alto volume e uma elevada diversidade de espécies (MARTINS et al., 2018; MARTINS et al., 2021; SANTANA et al., 2020).

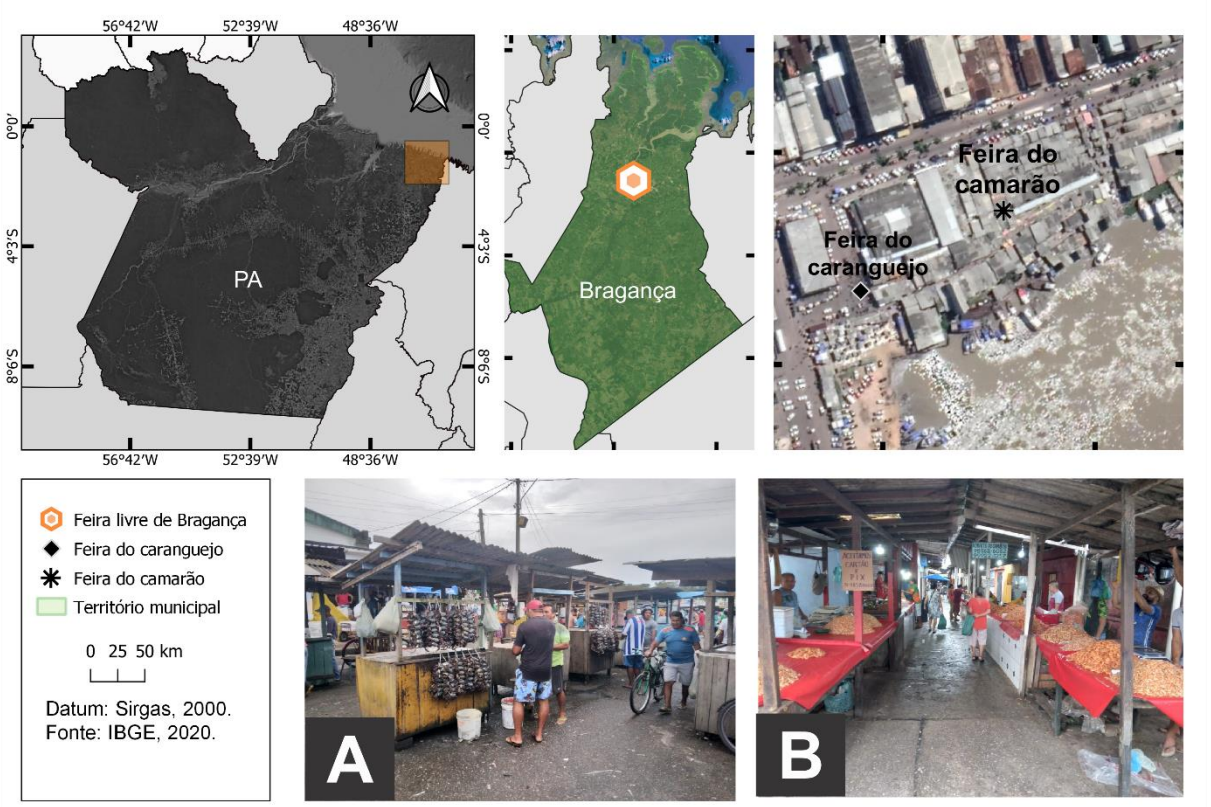


Figura 1. Localização geográfica da Feira Livre de Bragança. A) Feira do camarão; A) Feira do caranguejo.

2.3. Processamento das Amostras

As amostras foram obtidas durante o Programa de Extensão "Caraterização e Monitoramento do Pescado Comercializado na Feira Livre de Bragança, PA" apoiado pela Pró-Reitoria de Extensão (PROEX) da Universidade Federal do Pará (UFPA). Estes dados estão apresentados no trabalho de Santana et al. (2020), no qual apenas a morfologia foi utilizada para identificação dos táxons, de acordo com a nomenclatura de comercialização, que chamamos de "Designação Comercial". As coletas foram quinzenais, realizadas no período de fevereiro a agosto de 2017. Para cada designação comercial identificada por Santana et al. (2020), foram coletados no mínimo cinco indivíduos. Para as nomenclaturas menos frequentes, coletou-se os indivíduos disponíveis.

As amostras foram compradas ou doadas pelos comerciantes da Feira. Obtivemos exemplares tanto *in natura* (camarão, caranguejo, siri e sururu), como conservados através do processo de salga (camarão). Para cada espécime foi realizado o tombamento, para incorporação no banco de tecidos, seguido da retirada de uma porção de tecido biológico, os quais foram armazenados em microtubos do tipo *Eppendorf* 2,0 mL contendo álcool 70%. Logo após, essas amostras foram armazenadas em freezer a -20° C, para posterior procedimentos laboratoriais.

Os indivíduos inteiros foram fotografados e incorporados ao Altas do pescado da Feira Livre. Além disso, esses indivíduos foram fixados com Formol 10% e encontram-se preservados em álcool etílico comercial 70%, atuando como exemplares testemunho na Coleção Didática do Pescado, do Laboratório de Genética Aplicada, Instituto de Estudos Costeiros, UFPA - Bragança.

2.4. Procedimentos Laboratoriais

Para obtenção do DNA genômico, utilizou-se o protocolo com fenol clorofórmio e álcool isoamílico (SAMBROOK; RUSSELL, 2006) para espécimes de camarão salgado. O DNA dos demais indivíduos foi obtido por meio do protocolo com sal NACL modificado de Aljanabi e Martinez (1997). Após o isolamento, as amostras foram coradas com a solução composta de tampão *blue juice* e corante Gel Red™ (BIOTIUM) (3µL da solução e 3µL de DNA) e submetidas à eletroforese submarina horizontal em gel de agarose (1%), a 60V durante 30

minutos. Ao término da eletroforese as amostras foram visualizadas sob luz ultravioleta para avaliação qualitativa do DNA obtido.

Os fragmentos do gene COI foram amplificados utilizando a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) com 15µL de volume final, sendo 2,4µL de DNTP (1,25mM), 1,5µL de tampão *buffer* (10x), 0,6µL de $MgCl_2$ (50mM), 0,6µL de cada iniciador (50ng/µL), aproximadamente 100ng de DNA total, 0,1µL da enzima *Taq* DNA polimerase (5U/µL) e água purificada para completar o volume final da reação.

Foram utilizadas duas regiões do gene para o estudo, já que não foi possível identificar todas as espécies de camarão com a tradicional porção *Barcode*, amplificada pelos iniciadores LCO1490 e HCO2198, descritos por Folmer et al. (1994). Sendo assim, para as amostras de caranguejo, siri e sururu amplificou-se a primeira porção do COI, e para as amostras de camarão, optou-se pela utilização de iniciadores que amplificam a segunda porção do gene COI (COIA/COIF) (PALUMBI; BENZIE, 1991), já que na literatura disponível, este fragmento é mais frequente, permitindo as comparações para identificação das espécies.

As condições de amplificação considerando os iniciadores LCO1490/ HCO2198 foram as seguintes: desnaturação inicial a 95ºC por 3 minutos, seguida por 35 ciclos com desnaturação a 95ºC durante 45 segundos, hibridização a 45° durante 45 segundos e extensão a 72ºC por 45 segundos; e uma extensão final a 72ºC durante 5 minutos. Já para os iniciadores COIF/COIA foram: desnaturação inicial a 94ºC por 5 minutos, seguida por 35 ciclos com desnaturação a 94ºC durante 40 segundos, hibridização entre 53° a 59º C durante 40 segundos e extensão a 72ºC por 1 minuto; e uma extensão final a 72º C durante 3 minutos.

Após avaliação qualitativa, através de eletroforese submarina horizontal, as PCRs positivas foram submetidas à reação de sequenciamento, realizada pelo método didesoxiterminal (SANGER; NICHLEN; COULSON, 1977), com reagentes do Kit Big Dye (*ABI PrismTMDye Terminator Cycle Sequencing Reading Reaction – Thermo Fisher*). Os produtos precipitados foram submetidos à eletroforese no sequenciador automático de capilar ABI 3500 (*Thermo Fisher*).

2.5. Bancos de Sequências e Análises Genéticas

Após a obtenção dos dados brutos de sequências de DNA, seguiu-se para o processo de alinhamento e edição. Para isso, utilizamos o programa BioEdit (HALL, 1999) onde foram efetuadas correções em posições das sequências em que existiram erros ou dúvidas relacionadas ao tipo de nucleotídeo existente. Ao término das correções, as sequências foram alinhadas de forma automática no pacote ClustalW (THOMPSON et al., 1994), inseridos no programa

BioEdit (HALL, 1999), em seguida, foi realizado novo reparo visual do alinhamento produzido, e feitas correções na codificação das inserções ou deleções presentes. Logo após, elaborou-se uma lista de haplótipos no programa DNASP v 5 (LIBRADO; ROZAS, 2009) para auxiliar na identificação das amostras.

Para identificação dos espécimes, cada haplótipo foi comparado aos bancos públicos de sequências disponíveis nas plataformas GenBank, mais especificamente no *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST), no campo "*nucleotide blast*" (ALTSCHUL et al., 1997) e no BOLD (*Barcoding of Life Database*) (RATNASINGHAM; HEBERT, 2007). As sequências publicadas disponíveis com maiores taxas de similaridades foram inseridas aos bancos para a construção dos cladogramas.

Foi realizada a construção da árvore de Agrupamento de Vizinhos (NJ), utilizando o programa MEGA X (KUMAR et al., 2018) com modelo evolucionário de Kimura-2-Parâmetros (K2P) (KIMURA, 1980). A significância dos agrupamentos das árvores foi estimada pela análise de *Bootstrap* (FELSENSTEIN, 1985) gerada a partir de 1000 pseudoréplicas. No mesmo programa foram geradas matrizes de distâncias genéticas K2P intra e interespecífica, (KIMURA, 1980). Além disso, foram avaliados os sítios polimórficos, demonstrando possíveis mutações espécies/específicas, e possíveis códons de parada, novamente no programa MEGA X (KUMAR et al., 2018).

A fim de corroborar a identificação, foi gerada uma árvore de Inferência Bayesiana (IB) utilizando o software BEAST v. 1.10.4 (DRUMMOND et al., 2012). Foi utilizado um relógio estrito, processo de especiação de Yule, e modelo evolutivo foi escolhido no JModelteste 2 (DARRIBA et al., 2012) no XSEDE (CIPRES). A probabilidade a *posteriore* foi estimada com 50 milhões de gerações e 10% de *burn-in* para os táxons sururu/mexilhão, e 280 milhões e 10% de *burn-in* para os táxons de caranguejo, siri e para camarão. Os parâmetros das análises foram inspecionados no Tracer v1.5 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2012) para avaliar a cadeia de convergência, sendo adequado valores superiores a 200 *Effective Sampling Size* (ESS). As árvores geradas no BEAST foram sumarizadas no TreeAnnotator v1.10.4 (SUCHARD et al., 2018) para obtenção da árvore consenso. O FigTree, v1.4.4 (RAMBAUT, 2018) foi usado para visualizar a árvore resultante.

3. RESULTADOS

Foram obtidas 50 sequências da região mitocondrial Citocromo Oxidase C subunidade I (COI), sendo 16 sequências da porção *Barcode* e 34 da segunda porção do COI. As categorias

comerciais camarão, caranguejo, siri e sururu obtiveram 34, 2, 4 e 10 sequências geradas, respectivamente (**Tabela 1**) As sequências foram divididas em três bancos: (i) camarão com 425 pb, (ii) caranguejo e siri (587 pb), e (iii) moluscos (524 pb). Em crustáceos, a categoria camarão apresentou sete designações comerciais, caranguejo e siri tiveram apenas uma designação comercial cada, em moluscos, tivemos duas designações.

Foram identificadas quatro famílias, sete gêneros e nove espécies para crustáceos e apenas uma família, um gênero e duas espécies para moluscos (**Tabela 1**). Penaeidae foi a família com maior número de espécies comercializadas (seis), seguida pela família Mytilidae (duas); as famílias restantes, Palaemonidae, Ocypodidae e Portunidae foram representadas por apenas uma espécie (**Tabela 1**).

Recuperamos 25 haplótipos, sendo 14 de camarão, dois de caranguejo, quatro de siri e cinco de sururu. Em relação à similaridade com as sequências dos bancos públicos, os haplótipos ficaram na faixa de 98 a 100% (**Tabela 2**). Nas identificações haplotípicas em crustáceos, dois haplótipos corresponderam a *Penaeus schmitti* (99%)*;* três a *Penaeus vannamei* (99-100%); dois para *Penaeus isabelae* (99-100%)*;* um para *Mierspenaeopsis sculptilis* (98%) um para *Macrobrachium equidens* (99%), dois para *Ucides cordatus* (99%); e quatro para *Callinectes bocourti* (99-100%). Em moluscos, três haplótipos corresponderam para *Mytella brasiliensis* (99-100%) e dois para *Mytella strigata* (100%) (**Tabela 2**).

As sequências de camarão, que são da segunda porção do COI só puderam ser identificadas usando sequências do NCBI, haja visto que no BOLD só estão sequências depositadas da região da primeira porção da COI (tradicional DNA *Barcode*) (**Tabela 2**).

Tabela 1. Relação entre as categorias de crustáceos e moluscos, designações comerciais, número de amostras sequenciadas e obtidas (N), espécies e famílias identificadas na Feira Livre de Bragança, Amazônia costeira.

Categoria Comercial	Designação Comercial	N	Espécie	Família
Camarão	Camarão branco	2	*Penaeus schmitti* Burkenroad, 1936	Penaeidae
	Camarão grazado, cascudo e vermelho	5	*Penaeus vannamei* Boone, 1931	
	Camarão cascudo, bate pé, piré e branco	12	*Penaeus isabelae* (Tavares e Gusmão, 2016)	
	Camarão piré	4	*Xiphopenaeus dincao* Carvalho-Batista et al., 2019	
	Camarão piré e grazado	9	*Xiphopenaeus kroyeri* (Heller,1862)	
	Camarão tigre	1	*Mierspenaeopsis sculptilis* (Heller, 1862)	
	Camarão cascudo	1	*Macrobrachium equidens* (Dana, 1852)	Palaemonidae
Caranguejo	Caranguejo	2	*Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763)	Ocypodidae
Siri	Siri	4	*Callinectes bocourti* A. Milne Edwards, 1879	Portunidae
Sururu/Mexilhão	Sururu/Mexilhão apõe	4	*Mytella brasiliensis* (Gray, 1825)	Mytilidae
	Sururu/Mexilhão	6	*Mytella strigata* (Hanley, 1843)	

Tabela 2. Correlação das designações comerciais com as espécies identificadas utilizando o gene COI. H: Haplótipo. N: Número de sequências. S: Similaridade com as sequências de bancos públicos.

H	N	Amostra	Designação Comercial	Identificação	NCBI	
					S	Código
H1	1	Cbr1246	Camarão branco	*Penaeus schmitti*	100%	AY135189
H2	1	Cbr0509	Camarão branco	*Penaeus schmitti*	99,53%	AY135189
H3	3	Cgr0390/Cca1242/Cca1369	Camarão cascudo e grazado	*Penaeus vannamei*	100%	MT178583
H4	1	Cve0268	Camarão vermelho	*Penaeus vannamei*	99,82%	MT178583
H5	1	Cca0620	Camarão cascudo	*Penaeus vannamei*	99,64%	MT178583
H6	4	Cba0293/Cpi2563/ Cpi2765/cbr0202	Camarão bate pé e piré	*Penaeus isabelae*	100%	MN240522
H7	8	Cbr0929/Cbr1553/Cpi1028/cbr21109/Cca30141/cbr2474/Cbr34115/Cbr33112	Camarão cascudo, branco, piré e grazado	*Penaeus isabelae*	99,29%	MN240522
H8	3	Cpi0105/Cpi0521/Cpi35142	Camarão piré	*Xiphopenaeus dincao*	100%	DQ084376
H9	1	Cpi1335	Camarão piré	*Xiphopenaeus dincao*	98,82%	DQ084376
H10	3	Cpi36143/Cpi1131/Cpi2252/Cgr0234	Camarão grazado e Camarão piré	*Xiphopenaeus kroyeri*	100%	DQ084368
H11	1	Cpi1232	Camarão piré	*Xiphopenaeus kroyeri*	99,76	DQ084368
H12	4	Cpi0826/Cpi2048/Cpi0317/Cpi2355	Camarão piré	*Xiphopenaeus kroyeri*	99,76%	DQ084368
H13	1	Cts01	Camarão tigre	*Mierspenaeopsis sculptilis*	98,12%	MT178686
H14	1	Ccac0208	Camarão cascudo	*Macrobrachium equidens*	99,53%	KM255682

Tabela 2 (Continuação). Correlação das designações comerciais com as espécies identificadas utilizando o gene COI. H: Haplótipo. N: Número de sequências. S: Similaridade com as sequências de bancos públicos.

H	N	Amostra	Designação Comercial	Identificação	NCBI		BOLD	
					S	Código	S	Código
H15	1	Car01106	Caranguejo	*Ucides cordatus*	99,21%	LC150450	100%	GBCMD22848
H26	1	Car02107	Caranguejo	*Ucides cordatus*	99,05%	LC150450	99,67%	GBCMD22848
H17	1	Sir05167	Siri	*Callinectes bocourti*	99,21%	MN811220	99,20%	GBCMD28602
H18	1	Sir06168	Siri	*Callinectes bocourti*	99,68%	MN811220	99,68%	GBCMD28602
H19	1	Sir08170	Siri	*Callinectes bocourti*	100%	MN811220	100%	GBCMD28602
H20	1	Sir09171	Siri	*Callinectes bocourti*	99,84%	MN811220	99,84	GBCMD28602
H21	1	Sur0786	Sururu/Mexilhão apõe	*Mytella brasiliensis*	99,34%	EU917195	99,41%	GBMBM1376
H22	1	Sur0171	Sururu/Mexilhão apõe	*Mytella brasiliensis*	99,67%	EU917195	99,61%	GBMBM1376
H23	2	Sur0887/ Sur0272	Sururu/Mexilhão apõe	*Mytella brasiliensis*	100%	EU917195	100%	GBMBM1376
H24	5	Sur0483/ Sur0584/Sur17150/ Sur19152/ Sur22155	Sururu/ Mexilhão	*Mytella strigata*	100%	MF075007	100%	GBML3678
H25	1	Sur21154	Sururu/ Mexilhão	*Mytella strigata*	100%	JQ685156	100%	GBML3769

Três espécies de camarão foram comercializadas por mais de uma designação comercial, dentre elas, *P. isabelae* obteve maior variação nas designações, com quatro denominações: camarão piré, camarão cascudo, camarão branco e camarão bate pé (**Tabela 2)**. *P. vannamei* teve três denominações, *X. kroyeri* duas denominações, as demais espécies comercializadas tiveram uma denominação cada. Por outro lado, quatro denominações comerciais de camarão se referiram a mais de uma espécie, sendo a designação camarão piré compartilhada com três espécies em maior frequência (*P. isabelae*, *X. kroyeri* e *X. dincao*), a designação camarão cascudo também compartilhou três espécies, mas em menor frequências (**Figura 2**).

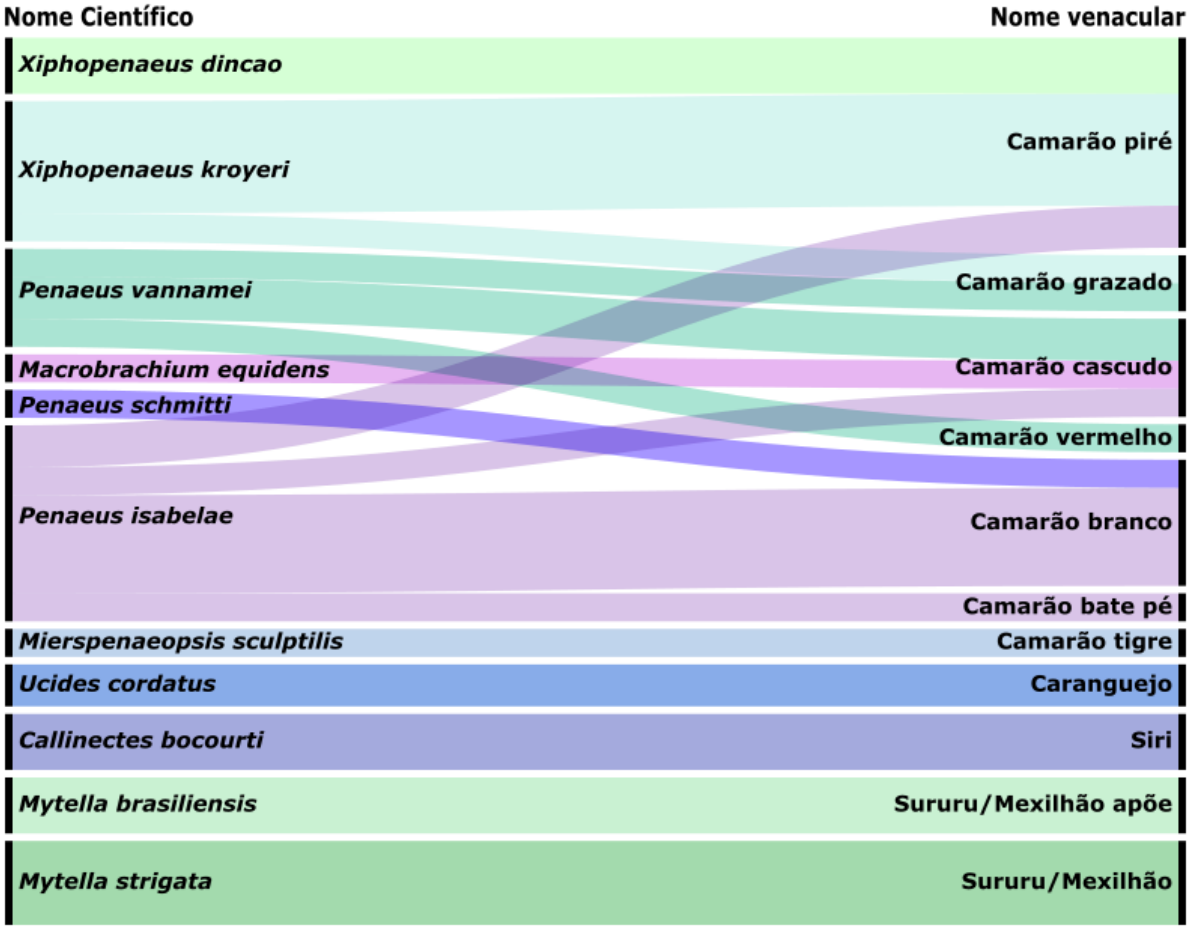


Figura 2. Diagrama aluvial para representação das 12 espécies comercializadas e os nomes vernaculares correspondentes. No lado esquerdo encontra-se os nomes científicos e no lado direito os nomes vernaculares. A relação é ilustrada pela mesma coloração para as espécies e designações comerciais. A frequência das designações é representada pela espessura da relação. O diagrama foi gerado em RAWGraphs.

Dentre as espécies vendidas na Feira Livre, notou-se a presença de oito espécies nativas : *P. schmitti, P. isabelae, X. dincao, X. kroyeri, U. cordatus C. bocourti, M. brasiliensis* e *M.*

strigata, e três espécies exóticas: *P. vannamei*, *M. sculptilis*, e *M equidens*. Além disso, tivemos a ocorrência de duas espécies recém descritas na literatura, *P. isabelae* e *X. dincao.*

As árvores de Agrupamento de Vizinhos (NJ) e Inferência Bayesiana (IB) geraram topologias similares, recuperando monofilia recíproca para os mesmos grupos, representando cada espécie. A partir disso, escolhemos a árvore NJ para ilustrar as espécies, com valores elevados de suporte tanto de IB quanto NJ. A árvore NJ de caranguejo e siri formaram dois grupos reciprocamente monofilético **(Figura 3**). A média de distância genética entre as espécies *Ucides cordatus* e *Callinectes bocourti* foi de 20,2%, e a média de distância dentro das espécies foram 0,1% e 0,5%, respectivamente.

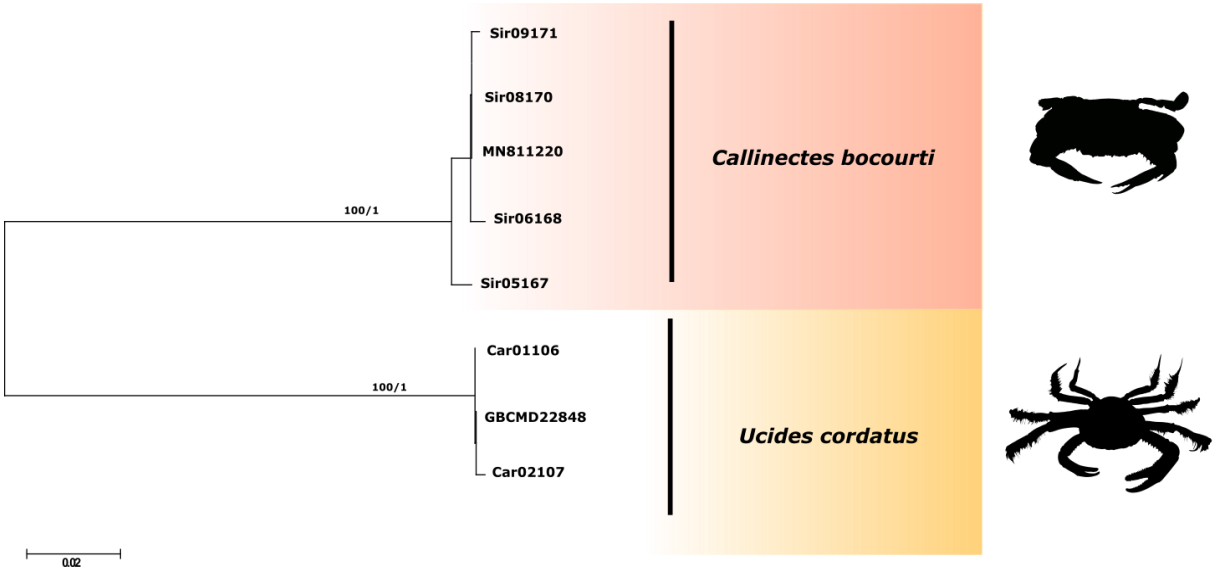


Figura 3. Árvore de agrupamentos de vizinho referente os haplótipos de caranguejo e siri obtida a partir do fragmento da primeira porção do gene COI, com sequências dos bancos públicos. Valores sobre os ramos indicam o suporte estatístico de *Bootstrap* (NJ) e probabilidade *posteriori* (IB). Cada coloração e silhueta representa uma espécie.

A topologia de agrupamento de vizinhos para camarões evidência a separação de sete clados, divididos em duas famílias e quatro gêneros (**Figura 4**). Dentre as espécies que apresentaram haplótipos com maiores distâncias, está a *M. sculptilis*, com a amostra "Cts01" (1,9%) e *X. dincao* com a amostra "Cpi1335" (1,2%) (**Apêndice 1.1**).

Na árvore NJ de sururu/mexilhão (**Figura 5**), observou-se a presença de três grupos. A espécie *Mytella brasilienses* apresentou apenas um clado, porém *Mytella strigata* apresentou dois clados distintos. Um agrupamento referiu-se somente a amostra "Sur21154", os dois clados divergiram 6,30% (**Apêndice 1.2**). Com base na sequência do NCBI, trata-se de outra linhagem mitocondrial matrilinear para essa espécie.

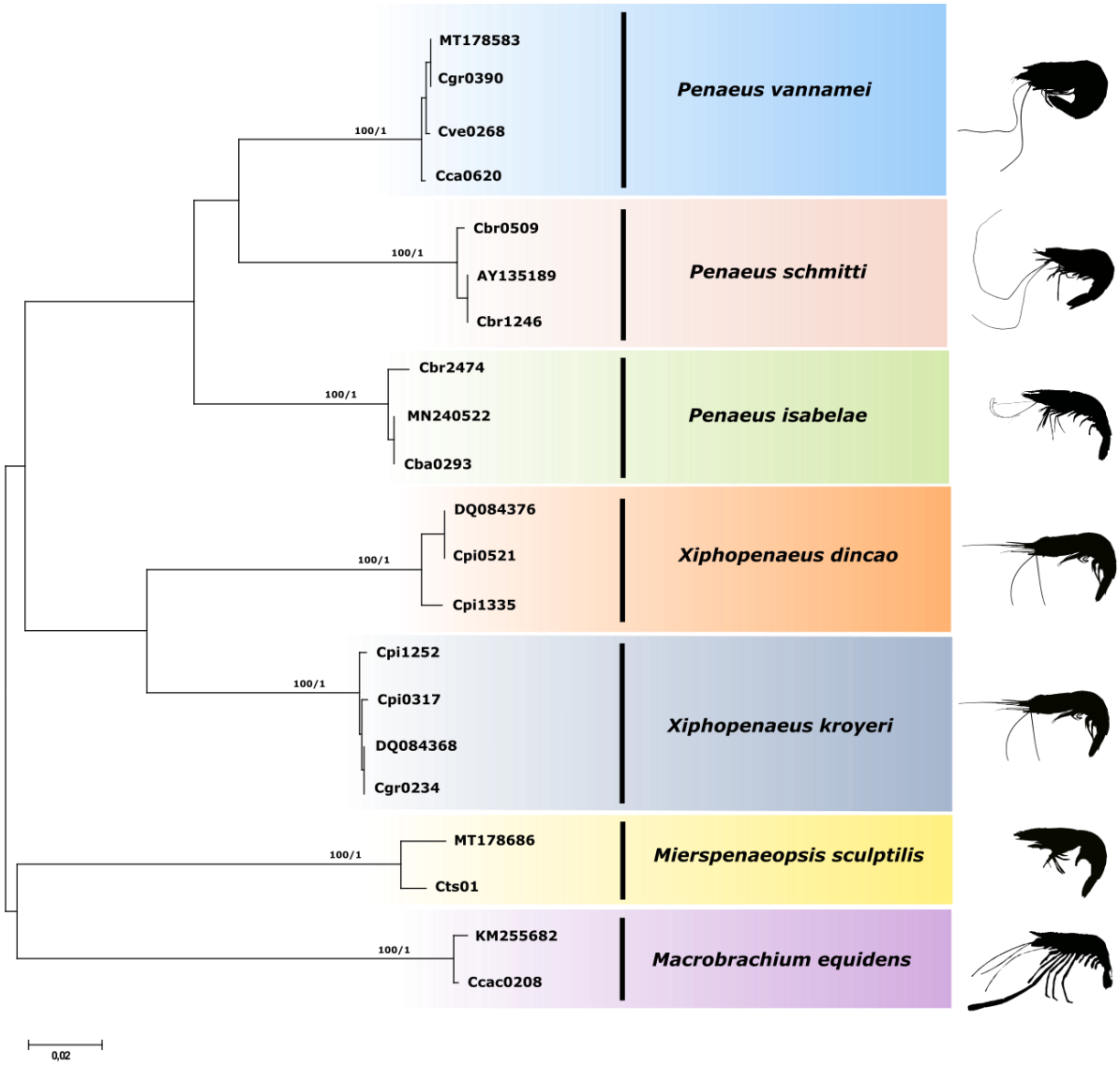


Figura 4. Árvore de agrupamentos de vizinho referente aos haplótipos de Camarões obtida a partir do fragmento da segunda porção do gene COI, com sequências do NCBI. Valores sobre os ramos indicam o suporte estatístico de *Bootstrap* (NJ) e probabilidade *posteriori* (IB). Cada coloração e silhueta representa uma espécie.

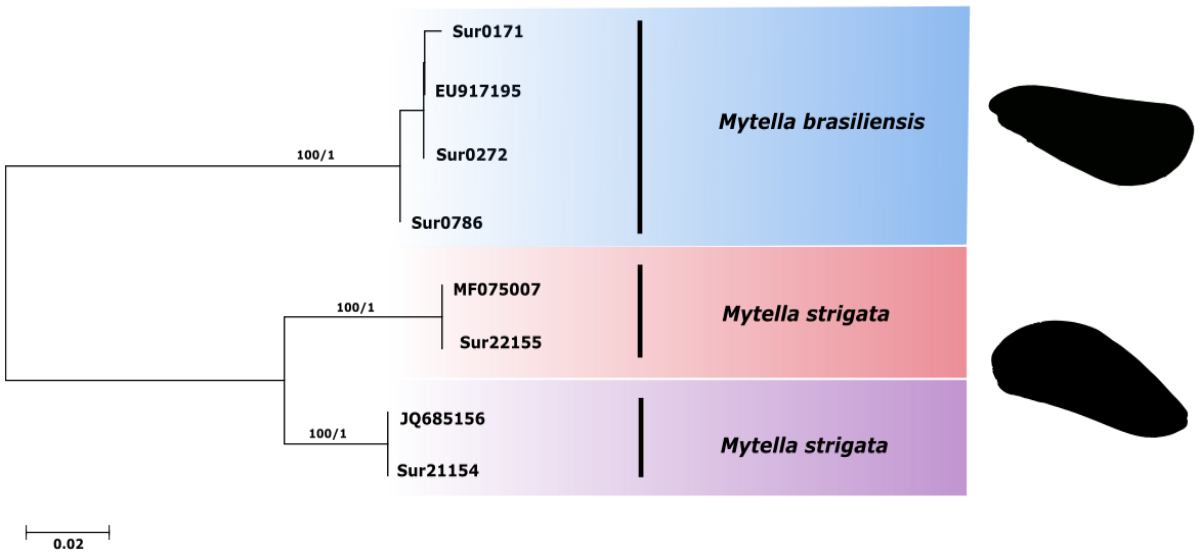


Figura 5. Árvore de agrupamentos de vizinho referente aos haplótipos de moluscos obtida a partir do fragmento da primeira porção do gene COI, com sequências do NCBI. Valores sobre os ramos indicam o suporte estatístico de *Bootstrap* (NJ) e probabilidade *posteriori* (IB). Cada coloração representa um clado e a silhueta representando uma espécie.

4. DISCUSSÃO

No presente trabalho, retratamos o registro pioneiro de utilização da ferramenta molecular para avaliar a diversidade de crustáceos e moluscos, a partir da dinâmica de comercialização na Feira Livre de Bragança, região costeira amazônica. Tivemos o registro de 11 espécies sendo comercializadas através das categorias crustáceos e moluscos, no qual observamos uma diversidade ocultada pela extensa nomenclatura adotada no comércio. Além da presença de espécies exóticas, também relatamos a ocorrência de espécies descritas nos últimas anos na literatura.

Identificação Molecular das espécies com a região COI

A região mitocondrial COI mostrou eficiência para discriminação e identificação das espécies de crustáceos e moluscos, sendo este trabalho o primeiro a trazer essa ferramenta molecular na verificação precisa dessas espécies vendidas na Feira Livre de Bragança. Outros trabalhos foram realizados no local para identificação do pescado a partir da região *Barcode*, mas foram restritas para as espécies de peixes comercializadas (MARTINS et al., 2021; SANTANA, 2020).

A identificação nos bancos públicos foi possível para todas as espécies, tendo em vista que as taxas de similaridades ficaram na faixa de 98 - 100%, o que também é encontrada e utilizada em outros trabalhos para esses grupos (DWIYITNO et al., 2022; PRAKASH et al., 2015; TINACCI et al., 2018). Os táxons de camarão não obtiveram correspondência no BOLD, o que já era esperado já que a região usada para identificar as espécies não foi a tradicionalmente conhecida como região *Barcode*. Entretanto, apoiadas pelas sequências presentes na plataforma NCBI, a segunda porção da COI mostrou-se eficiente nas identificações das espécies de camarão, corroborando com sua utilização para o reconhecimento de espécies de pescado, servindo como um marcador de DNA espécie-específico (COLLIN et al., 2020; FRANÇA et al., 2021; VENEZA et al., 2014).

Diversidade de crustáceos e moluscos comercializados

Observou-se a presença de duas famílias e sete espécies de camarão; uma família e uma espécie de caranguejo, uma família e uma espécie de siri e uma família e duas espécies de sururu/mexilhão. Com exceção das espécies *Penaeus subtilis, Macrobrachium surinamicum, Macrobrachium amazonicum* e *Callinectes danae*, todas as espécies e famílias encontradas por Freire et al. (2011) também foram registradas no presente estudo na Feira Livre de Bragança. No entanto, apesar da ausência dessas espécies, o presente trabalho recuperou uma diversidade maior de espécies comercializadas.

Para a família Mytilidae, Freire et al. (2011) encontrou apenas uma espécie (*Mytella* sp), enquanto em Santana et al. (2020) foi relatado a venda de duas espécies, conforme as análises morfológicas feitas pelos autores, que foram registradas como *Mytella falcata e Mytella guyanensis*, que são os nomes científicos equivalente para *Mytella strigata* e *Mytella brasiliensis*, respectivamente (LIM et al., 2018), sendo essas espécies encontradas em nosso estudo. Em crustáceos, as espécies *P. schmitti*, *U. cordatus* e *C. bocourti* já tinham sido relatadas na literatura (FREIRE et al., 2011; SANTANA et al., 2020).

Quando comparamos os dados obtidos com as espécies de crustáceos e moluscos desembarcadas em Bragança, observa-se que nem todas as espécies registradas no desembarque da cidade foram comercializadas na Feira Livre durante o período de estudo, como por exemplo a ostra (ESPÍRITO SANTO; ISAAC, 2012).

Por outro lado, algumas espécies foram registradas na Feira Livre e ausentes no desembarque por Espírito Santo e Isaac (2012) que foram justamente as espécies exóticas e as descritas na literatura nos últimos anos. Santana et al. (2020) relatou que em período de baixa produtividade, os vendedores passam a comprar e comercializar camarões de cativeiro, o que

talvez justifique a presença de *P. vannamei* no comércio e não no desembarque, por ser uma espécie amplamente cultivada. No entanto, para as espécies registradas tanto na Feira livre quanto no desembarque foram *X. kroyeri, P. schmitti, U. cordatus* identificadas a nível de espécie e *Macrobrachium* sp, *Callinectes sp* e *Mytella sp*, identificadas até nível de gênero.

Registro de Comércio de espécies exóticas

Foi observado a ocorrência de três espécies exóticas de camarão sendo comercializadas e registradas pela primeira vez no local, a primeira é *P. vannamei* que é nativa do pacífico oriental e foi introduzida no Brasil na década de 1970 para fins de aquicultura, devido à alta adaptabilidade às variações hidroquímicas (LOEBMANN et al., 2010). Essa espécie já foi encontrada na Feira Livre de São Luís- MA (MOUCHREK et al., 2018) e em Feira de Santana-BA (SANTOS, 2017). Não se sabe ao certo se esses exemplares que foram comercializados vieram todos de carcinicultura ou capturados em ambientes naturais.

Outra espécie registrada foi *Mierspenaeopsis sculptilis*, trata-se do primeiro registro no Brasil. Essa espécie é de origem Indo-pacífico, tendo ocorrência natural no Sudeste Asiático e Taiwan (HURZAID et al., 2020), Malásia (JAMALUDDIN et al., 2019), Singapura (UPANOI, 2015) e ocorrência invasiva em Moçambique (SUPINHO, 2018). No oceano atlântico, ainda não existem trabalhos que retratam ocorrência dessa espécie na região.

Macrobrachium. equidens, que é nativa da região indo-pacífico, foi registrada pela primeira vez na costa amazônica do Brasil por Maciel et al. (2011). Além disso, os autores relataram que essa espécie está bem estabelecida na região e habita o mesmo ambiente que *M. amazonicum* e *M. acanthurus*, sendo muito semelhante à este último. Ainda não se sabe ao certo de como ou quando essa espécie exótica foi introduzida no Brasil (GOMES et al., 2014).

Ocorrência de espécies descritas nos últimos anos

No presente trabalho registramos a comercialização da espécie *Penaeus isabelae*, sendo descrita por Tavares e Gusmão (2016). Anteriormente, essa espécie era considerada como um dos morfotipos de *Penaeus subtilis*, mais precisamente (Morfotipo I), identificado no trabalho de Gusmão et al. (2000). O outro morfotipo (Morfotipo II) permaneceu sendo chamado de *Penaeus subtilis*, e não foi encontrado no presente estudo.

Essas duas espécies irmãs possuem uma morfologia muito similar, tendo em vista que a distância genética entre elas retrata uma diversificação recente, justificando a baixa diferença morfológica (FRANÇA et al., 2021).

A outra espécie, *Xiphopenaeus dincao*, foi descrita no trabalho de Carvalho-Batista et al., (2019). Essa espécie anteriormente era chamada *Xiphopenaeus sp. II*, identificada pela primeira vez por Gusmão et al. (2006), no qual apontou a existência de duas espécies crípticas em *Xiphopenaeus kroyeri* no oceano atlântico. A outra variante, *Xiphopenaeus sp. I*, permaneceu com o nome *Xiphopenaeus kroyeri*, e ambas as espécies foram encontradas no comércio de Bragança.

Nomenclatura Comercial: relação entre nome científico e vernacular

Ao analisarmos a correspondência dos nomes comerciais com as espécies identificadas, foi possível observar uma falta de padronização na nomenclatura comercial, isso pode estar associado ao fato que no Brasil ainda não existe uma instrução normativa que determine a correlação entre os nomes comuns e os respectivos nomes científicos para crustáceos e moluscos (BECKER, 2018). Atualmente, existe apenas a instrução normativa MAPA Nº 53 de 01/09/2020, restrita para as espécies de peixes de interesse comercial.

Em Bragança, o comércio de camarão não apresenta padronização no emprego dos nomes populares, tendo em vista a extensa diversidade das denominações. Uma espécie foi encontrada por vários nomes comerciais e uma mesma designação de venda referiu-se a mais de uma espécie, acarretando a imprecisão das verdadeiras espécies comercializadas, isso foi evidenciado também em Espírito Santo e Isaac (2012) e Santana et al. (2020).

Em outras regiões a espécie *P. vannamei* é conhecida por camarão branco do pacífico, camarão branco ou camarão cinza (PINHEIRO, 2019; SANTOS, 2017), já na Feira Livre de Bragança nenhum desses nomes foi encontrado para essa espécie. A espécie *P. schmitti* é conhecida principalmente por camarão branco (BARBOSA, 2013), o que também foi registrado para essa espécie no comércio. Para *M. equidens*, foi encontrado a designação por camarão cascudo, o que também é encontrado na literatura para esse gênero (ESPÍRITO SANTO et al., 2005).

As espécies do gênero *Xiphopenaeus*, que incluem *X. kroyeri* e a recém nomeada *X. dincao*, são amplamente conhecidos como camarão sete barbas (BRANCO et al., 1999) ou camarão *seabob* (GUSMÃO et al., 2006), porém em Bragança os feirantes nomeiam esse grupo como camarão piré ou piticaia (SANTANA et al., 2020). A partir dos resultados desse trabalho, com exceção de um exemplar que teve a designação como camarão grazado em *X. kro*yeri, os outros tiveram a designação camarão piré para essas espécies.

Para espécie *P. isabelae*, tradicionalmente agrupada e sendo espécie críptica de *Penaeus subtilis*, é a mais capturada e a de maior valor na região Norte (ARAGÃO et al., 2016), sendo

conhecida popularmente como camarão rosa (PAIVA, 2012; TIMM et al., 2019), juntamente com as espécies do antigo gênero *Farfantepenaeus* (Burukovsky, 1997), porém no local de estudo essa designação comercial não foi registrada para *P. isabelae*, que foi vendida por outros nomes comerciais de menor valor no mercado, como camarão piré (SANTANA et al., 2020).

A denominação comercial para *M. sculptilis* foi de camarão tigre, sendo esse nome atribuído para as espécies *Penaeus monadon* e *Penaeus esculentus* (BENZIE et al., 1995). *M. sculptilis* é denominado em muitos países como camarão arco-íris (ALAM; PÁLSSON, 2021; UPANOI, 2015), mas também pode ser chamando de camarão casca dura em alguns locais (JAMALUDDIN et al., 2019).

Já *U. cordatus* é chamada em muitas regiões do Brasil por caranguejo-uçá, e *C. bocourti* por siri vermelho (BENTES et al., 2013; OLIVEIRA, 2017) no local de estudo, entretanto, as especificidades ("uçá" e "vermelho") das duas denominações não foram registradas, apenas com os nomes mais abrangentes. Esse ocorrido pode estar relacionado a predominância dessas espécies na região e no comércio, o que negligencia essas especificidades pelos feirantes.

Em moluscos, a espécie *Mytella strigata* (= *Mytella falcata*) é encontrada sendo comercializada pelo nome mexilhão / sururu, que segundo os feirantes são os bivalves capturados dentro do estuário, enquanto *Mytella brasiliensis* (= *Mytella guyanensis*) é comercializada como mexilhão apõe / sururu apõe, que é a designação usada para o molusco capturado no mangue (SANTANA et al., 2020).

Comercialização das espécies: Implicações para gerenciamento e conservação

A identificação molecular revelou que a diversidade comercializada é subestimada com a utilização das designações comerciais. Este trabalho faz registro de uma diversidade antes ocultada pelo comércio local, que não foi catalogada em trabalhos anteriores (FREIRE et al., 2011; SANTANA et al., 2020). Nesse estudo, tivemos a presença de novas espécies no comércio de Bragança, no qual foram as espécies exóticas e descritas nos últimos anos, em que a nomenclatura de comercialização não revelaria com exatidão. Certamente, com uso da designação comercial, as espécies *P. isabelae e X. dincao* não seriam catalogadas como espécies nova, mas sim registradas como suas espécies irmãs *P. subtilis* e *X. kroyeri*, respectivamente, por terem um registro histórico maior na região (ESPÍRITO SANTO; ISAAC, 2012; FREIRE et al., 2011).

Dentre das espécies comercializadas, algumas possuem o período de defeso criados pelos órgãos nacionais, que se estende ao estado do Pará, como *Ucides cordatus* conforme INI MPA/MMA nº 6/2017, com período de defeso de janeiro a março, além dos camarões

Penaeidae como *X. kroyeri*, *P. subtilis* e *P. schmitti* conforme a Portaria Interministerial MDIC/MMA Nº 15/2018, com período de defeso de dezembro a fevereiro. Sendo essas espécies consideradas sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação conforme a última lista (anexo II da IN MMA, nº 5/2004). Entretanto, Segundo Santana et al., (2020), esses mariscos, principalmente *U. cordatus*, são vendidos na Feira Livre durante todo ano, mesmo durante o período de defeso, o que se configura uma atividade ilegal. No entanto, essa prática torna-se preocupante, pois a captura ilícita durante o período reprodutivo pode contribuir para redução de estoques deste recurso (LIMA; ANDRADE, 2021; SANTANA et al., 2020; SILVA, 2014).

Em relação ao *status* de conservação, nenhuma espécie comercializada na Feira Livre apresentou *status* de ameaçadas de extinção conforme a IUNC e Portaria MMA Nº14 / 2022. No entanto, *U. cordatus*, *X. kroyeri* e *P. schmitti* tem apresentado indícios de redução populacional, que devido a deficiência de dados estatísticos, não consegue avaliar com exatidão essas reduções na estrutura populacional dos estoques dessas espécies (PINHEIRO; BOOS, 2016). Entretanto, fatores como a sobreexplotação, captura em período reprodutivo e vulnerabilidade de habitats, pode comprometer a estrutura populacional dessas espécies no ambiente natural, e consequentemente, a oferta desses recursos no comércio.

Ocorrência de duas linhagens mitocôndrias matrilineares em moluscos

As amostras de *Mytella strigata* (= *Mytella charruana*) apresentaram duas linhagens mitocondriais matrilineares, em que o valor da divergência genética entre elas (6,30%), é muito próxima daquelas encontrados por Souza et al. (2015), em torno de 6,24%. Eles também relataram a presença de duas linhagens nessa espécie de molusco, denominadas como haplogrupo A e haplogrupo B.

No entanto, segundo os autores, foi encontrado somente uma linhagem na região Norte do Brasil (haplogrupo A), enquanto na região Nordeste e Leste do país foram encontradas as duas linhagens (haplogrupo A e B), com predominância do haplogrupo B. Souza et al. (2015) sugerem que os indivíduos do haplogrupo B não sobrevivem nos manguezais do Norte, devido à alta descarga de água doce e alta variação da salinidade. Todavia, nesse estudo foi encontrada as duas linhagens mitocondriais matrilineares habitando a região Norte do Brasil.

5. CONCLUSÕES

A ferramenta molecular de identificação, baseada em fragmentos do gene COI, mostrou bastante eficiência na discriminação das espécies de caranguejo, siri, sururu e camarão

comercializados na Feira Livre de Bragança. Foi possível fazer a identificação de nove espécies de crustáceos e dois de moluscos. Tivemos os registros de sete designações comerciais para camarão, em quanto caranguejo e siri tiveram um cada, e em moluscos, uma designação para cada espécies. Em camarão, três espécies tiveram mais de uma designação comercial, e quatro designações foram compartilhadas entres as espécies, o que implica na despadronização com os nomes científicos, gerando imprecisão sobre a espécie vendida. Dentre as espécies, três foram registradas pela primeira vez sendo comercializadas na Feira Livre, e duas foram recém descritas na literatura. Em moluscos, foi possível notar a presença de duas linhagens mitocondriais matrilineares de *M. strigata*, não só na Feira Livre, mas também na própria região.

6. REFERÊNCIAS

ALJANABI, S. M.; MARTINEZ, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techiques. Nuclei acids research, 25(22), 4692-4693.

ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SCHAFFER, A. A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D. J. (1997) Gapped BLAST and PSIBLAST: a new generation of protein~ç] database search programs. **Nucleic Acids Res**., 25, 3389–3402.

ARAGÃO, J. A. N; CINTRA, I. H. A.; DE ARAÚJO SILVA, K. C. Situação da pesca de camarões na plataforma continental amazônica/Current situation of shrimp fishery on the amazon continental. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 3, n. 2, p. 61-76, 2016.

ARDURA, A. et al. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. **Biological Conservation**, v. 143, n. 6, p. 1438-1443, 2010.

BARBOSA, L. J. Qualidade microbiológica de camarões resfriados e comercializados em feiras-livres do município de São Paulo/SP. Universidade Estadual Paulista – Unesp Campus de Jaboticabal. 97 pg. 2013.

BARROS, M. P.; SILVA, L. M. A. Registro de introdução da espécie exótica *Macrobrachium rosenbergil* (de man, 1879) (crustacea, decapoda, palaemonidae), em águas do Estado do Pará, Brasil. BoL. Mus. Para. Emílio Goe/di, sér. Zoa/. J3(J), 1997.

BEASLEY, C.R.; FERNANDES, C.M. et al. 2005. Molluscan diversity and abundance among coastal habitats of Northern Brazil. **Ecotropica**, 11: 9-20.

BECKER, M. L. Avaliação da aplicabilidade da técnica DNA barcoding em invertebrados marinhos após processamento culinário. Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências. Florianópolis. 113 pg. 2018.

BENTES, A. B.; PEREIRA, L.; PEREIRA J.; CRUZ, P.; MARQUES, C.; BENTES, B. Estimativa da abundância e estrutura da população de portunidae (Crustacea: Decapoda) em um estuário da costa norte do Brasil. **Biota Amazônia**. Macapá, v. 3, n. 2, p. 138-148, 2013.

BENZIE, J.A.H., KENWAY, M., BALLMENT, E., FRESHER, S., TROTT, L. 1995. Interspecific hybridization of the tiger prawns Penaeus monodon and Penaeus esculentus. **Aquaculture** 133, 103–111.

BEZENG, B. S.; BANK H. F. V. DNA barcoding of southern African crustaceans reveals a mix of invasive species and potential cryptic diversity. **Feng ZHANG, Nanjing Agricultural University**, CHINA. 2019.

BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS, G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura/Current scenario of fish production in the world, Brazil and Pará State: emphasis on aquaculture. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, p. 50-58, 2016.

BRAGA, C.; ESPÍRITO SANTO R. V.; GIARRIZZO T. A Considerações sobre a comercialização do pescado no município de Bragança - PA. Boletim Técnico-Científico do CEPNOR, v. 6, p. 105-120, 2006.

BRANCO, J. O.; LUNARDON-BRANCO, M. J.; SOUTO, F. X.; GUERRA, C. R. 1999. Estrutura populacional do camarão sete-barbas Xiphonenaeus kroyeri (Heller, 1862), na foz do Rio Itajaí-Açú, Itajaí, SC, Brasil. Brazil. Arch. Biol. Technol., 42(1):115-126.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. RIISPOA: Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto nº 120.691. Brasília, 1984.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA. Censo aquícola nacional, ano 2011. Brasília: MPA, 2013. 336 p.

CARVALHO-BATISTA, A., M. TEROSSI, F. J. ZARA, F. L. MANTELATTO & R. C. COSTA, 2019. A multigene and morphological analysis expands the diversity of the seabod shrimp Xiphopenaeus Smith, 1869 (Decapoda: Penaeidae), with descriptions of two new species. Sci. Rep., 9: 15281. https://doi.org/10.1038/s41598-019-51484-3

COLLIN, R., VENERA-PONTON, D.E., DRISKELL, A.C., MACDONALD, K.S., GEYER, L.B., LESSIOS, H.A., & BOYLE, M.J. (2020). DNA barcoding of echinopluteus larvae uncovers cryptic diversity in neotropical echinoids. Invertebrate Biology: e12292. https://doi.org/10.1111/ivb.12292.

DARRIBA, D.; TABOADA, G.L.; DOALLO, R.; POSADA, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nat. Methods 9, 772.

DRUMMOND, ALEXEI J. AND ANDREW RAMBAUT. “BEAST: Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees.” BMC Evolutionary Biology 7:214. 2007

DRUMMOND, A. J., SUCHARD, M. A., XIE, D., & RAMBAUT, A.. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular biology and evolution**, v. 29, n. 8, p. 1969-1973, 2012.

DWIYITNO, D.; HOFFMAN, S.; PARMENTIER, K.; KEER, C. V. Universal primer design for crustacean and bivalve-mollusc authenticity based on cytochrome-b gene. B IO D I V E R S I T A S 23 (1): 17-24, 2022.

ESPÍRITO SANTO, R.D., ISAAC. V.J., SILVA, L. M.A., MARTINELLI, J.M., HIGUCHI, H., E SAINT-PAUL, U. Peixes e camarões do litoral bragantino, Pará, Brasil. **Belem: Madam,** 2005.

ESPÍRITO-SANTO, R. V.; ISAAC, V. J. Desembarques da pesca de pequena escala no município de Bragança – pa, brasil: esforço e produção. **Boletim do laboratório de hidrobiologia**, p. 31-48, 2012.

FERREIRA, G. C.; SILVA, C. N.; PAULA, C. Q.; LIMA, R. A. P. (IN) OU (EX) cluibilidade sócio territorial na pesca da Amazônia brasileira: uma análise geográfica. V. 10, nº19, ISSN 2176-9559. 2019.

FERREIRA, E. S.; JUNIOR, C. N. C. S.; MONTEIRO, N. C.; CÂMERA, M. A. G.; SILVA, A. K. A. Análise socioambiental da feira livre do município de Bragança- pa. III Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental Goiânia/GO.2012.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture. p. 224, 2020. Disponível em: http://www.fao.org/3/ca9229en/CA9229EN.pdf .Acessado em: 16 de junho de 2020.

FOLMER, O.; BLACK, M.B.; HOCH, W.; LUTZ, R.A; VRIJEHOCK, R.C. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 3: 294–299.

FRANÇA, N. F. C., A. B. MORAES, A. CARVALHO-BATISTA, M. C. R. B. MELO, F. J. ZARA, F. L. MANTELATTO & F. A. M. FREIRE, 2021. An integrative approach using DNA barcode and scanning electron microscopy for the effective identification of sympatric species of the genus Farfantepenaeus Burukovsky, 1997. Reg. Stud. Mar. Sci., 43: 1–13. https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101670 GILLETT, R., 2008. **Global study of shrimp fisheries**. 475.

FREIRE, J. L.; SILVA, B. B.; SOUZA, A. S. Aspectos Econômicos e Higiênico-Sanitários da Comercialização do Pescado no Município de Bragança (PA). Macapá, v. 1, n. 2, p. 17-28, 2011.

FURTADO JÚNIOR, I.; TAVARES M. C. S.; E BRITO C. S. F. Estatísticas das produções de pescado estuarino e marítimo do estado do Pará e políticas pesqueiras. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciênc**, v. 1, 2006.

GIRÃO, M. V. D. et al. Condições higiênico-sanitárias na comercialização de pescados em Sobral – CE. Vigil. Sanit. p. 136-140, 2015.

GOMES, J. N.; ABRUNHOSA, F. A.; COSTA, A. K.; MACIEL, C. R. Feeding and larval growth of an exotic freshwater prawn *Macrobrachium equidens* (Decapoda: Palaemonidae), from Northeastern Pará, Amazon Region. **A. Acad. Bras. Ciênc**. Vol.86 no.3 Rio de Janeiro September 2014 Epub August 12, 2014.

GUSMÃO, J.; LAZOSKI, C.; MONTEIRO, F. A.; SOLÉ-CAVA, A. M. Cryptic species and population structuring of the Atlantic and Pacific seabob shrimp species, *Xiphopenaeus kroyeri* and *Xiphopenaeus rivetii*. *Mar. Biol.* **149**, 491–502 (2006).

GUSMÃO, J.; LAZOSKI, C.; SOLÉ-CAVA, A.M. (2000) A new species of Penaeus (Crustacea: Penaeidae) revealed by allozyme and cytochrome oxidase I analyses. Marine Biology, 137, 435–446. http://dx.doi.org/10.1007/s002270000365.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In: Nucleic acids symposium series. p. 95-98, 1999.

HARRIS, D. J.; ROSADO, D.; XAVIER, R. DNA barcoding reveals extensive mislabeling in seafood sold in Portuguese supermarkets. **Journal of Aquatic Food Product Technology**. 2016.

HEBERT, P. D. N., CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; WAARD, J. R. Biological identifications through DNA Barcode. Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences, 270: 313-332, 2003.

HIPOLITO M, GENOVEZ M.E. Doenças transmitidas pela ingestão de pescados. Revista CRMV-SP. 2019.

HURZAID, A., CHAN, T. Y., MOHD NOR, S. A., MUCHLISIN, Z. A., & CHEN, W. J. (2020). Molecular phylogeny and diversity of penaeid shrimps (Crustacea: Decapoda) from South-East Asian waters. **Zoologica Scripta**, 49 (5), 596–613. https://doi.org/10.1111/zsc.12428

JACYNTHO, J. M.; PICOLI, M. E. F.; MINAZAKI, C. K. ANANIAS, F. Importância da Técnica de DNA Barcoding na Detecção de Fraudes em Pescados. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.6, p. 61988-62002 jun. 2021.

JAMALUDDIN JAF, MOHAMMED AKIB NA, AHMAD SZ, ABDUL HALIM SAA, ABDUL HAMID NK, MOHD NOR SA (2019). DNA barcoding of shrimps from a mangrove biodiversity hotspot. **Mitochondrial DNA** Part A 30: 618–625. https://doi.org/10.1080/24701394.2019. 1597073.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Mol. Biol. Evol. 35(6):1547–1549. 2018.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DNASP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, p. 1451-1452, 2009.

LIMA, S. A. O.; ANDRADE, H. A. 2021. Modelagem matemática aplicada às capturas das principais lagostas desembarcadas em Pernambuco. **Biotemas**, 34 (2): 1-11. http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2021.e77381.

LOEBMANN, D; MAI, A. C. G.; LEE, J. T. The invasion of five alien species in the Delta do Parnaíba Environmental Protection Area, **Northeastern Brazil**. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 58 (3): 909-923, September, 2010.

LIM J.Y., TAY T.S., LIM C.S., LEE S.S.C., TEO SL-M, TAN K.S. (2018) Mytella strigata (Bivalvia: Mytilidae): an alien mussel recently introduced to Singapore and spreading rapidly. **Molluscan Research** 38: 170–186, https://doi.org/10.1080/13235818.2018.1423858.

MACIEL, C.; QUADROS, M.; ABRUNHOSA, F.; BASTOS, S.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. Occurrence of the Indo-Pacific freshwater prawn Macrobrachium equidens Dana 1852 (Decapoda, Palaemonidae) on the coast of Brazilian Amazonia, with notes on its reproductive biology. **An Acad Bras Cienc** 83: 533-544. 2011.

MARCENIUK, A. P., ROTUNDO, M. M., CAIRES, R. A., CORDEIRO, A. P. B., WOSIACKI, W. B., OLIVEIRA, C., & MUNIZ, M. R. The bony fishes (Teleostei) caught byindustrial trawlers off the Brazilian North coast, with insights into its conservation. **Neotropical Ichthyology**, v. 17, n. 2, 2019.

MARQUES, C. G. "Relações Genéticas em Espécies de Camarões Peneídeos (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) de Ocorrência no Litoral Brasileiro". Universidade Federal De São Carlos. Programa De Pós-Graduação Em Genética E Evolução. 137 pg. 2015.

MARTINS, T.S. Inventário da ictiofauna comercializada na Feira Livre do município de Bragança-PA, região costeira amazônica**.** Trabalho de conclusão de curso (TCC) –Universidade Federal do Pará (UFPA), *campus* Bragança. 66 pg., 2018.

MARTINS, T. S. DNA *Barcode* para rastrear o comércio de Elasmobrânquios na região costeira amazônica. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal do Pará - *Campus* Universitário de Altamira. Pg. 72. 2020.

MOUCHREK, A. N.; TELES, A. M.; EVERTON, G. O.; MENDES FILHO N. E.; SERRA, J.L.; OLIVEIRA, E. S. Avaliação microbiológica de sururu (*Mytella Falcata*), sarnambi (*Lucina Pectinata*) e c amarão (*Litopenaeus Vannamei*) *in natura* comercializadas em Feiras Livres de São Luís- Ma. 6º simpósio de segurança alimentar. 2018.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim estatístico de pesca e aquicultura 2011. p.60, 2013.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. 2014. Disponível em: http://formsus.datasus.gov.br/novoimgarq/16061/2489520_218117. pdf acessado em: 07/04/2022.

OLIVEIRA, D. S. N. Crescimento e estado de explotação do siri-vermelho *Callinectes bocourti* A. Milne-Edwards, 1879 em estuários da Amazônia. Programa De Pós-Graduação Em Aquicultura E Recursos Aquáticos Tropicais. 80 pg. 2017.

PAIVA, K. S.; Quantificação e carcinofauna acompanhante do camarão-rosa *Farfantepenaeus subtílis* (pérez farfante, 1967) em pescarias industriais na plataforma continental amazônica Belém. Universidade Federal Rural Da Amazônia, Instituto Socioambiental e dos Recursos Hídricos Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais. 61 pg. 2012.

PALUMBI, S.; BENZIE, J. (1991). Large mitocondrial DNA differences between morphologically similar Penaeid shrimp. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 1, 27 e 34.

PEJOVIC, I.; ARDURA, A.; MIRALLES, L; ARIAS, A.; BORRELL, Y. J.; GARCIA-VAZQUEZ, E. DNA barcoding for assessment of exotic molluscs associated with maritime ports in northern Iberia, **Marine Biology Research**, 12:2, 168-176. 2016.

PINHEIRO, I. C. Análise de primers universais na identificação de espécies em camarões processados comercializados em Santa Catarina. Universidade Federal de Santa Catarina. 50 pg. 2019.

PINHEIRO, M.; BOOS, H. Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014.

PRAKASH S., AJITHKUMAR T.T., THANGARAJ M. DNA Barcoding of sharp tail sunfish Masturus lanceolatus Lienard, 1840 (Tetraodontiformes: Molidae). **Proc Zool Soc Ind**., 69 (4): 1-4, 2015.

RAMBAUT, A. E DRUMMOND, A.J. Tracer v1.5. 2009, 2012.

RAMBAUT, A. FigTree v1. 4.4, a Graphical Viewer of Phylogenetic Trees. 2014. Java. 2018.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D.W. 2006. The Condensed Protocols from Molecular Cloning: a Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 74, p. 5463-5467, 1977.

SANTANA, P. DNA Barcode Para Avaliar A Diversidade De Peixes Comercializada No Nordeste Paraense, Amazônia Costeira. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal do Pará- Campus Universitário de Altamira. Pg. 71. 2020.

SANTANA. P.; BRÍGIDA, N. S.; SILVA, R.; GONÇALVES, J.; VENEZA, I.; CORREA, R.; MARTINS, T.; EVANGELISTA-GOMES, G. Prospecção de Crustáceos e Moluscos comercializados na Feira livre de Bragança, Pará, Amazônia costeira. Ciência e Tecnologia do Pescado: Uma Análise Pluralista. 307-328. 2020.

SANTOS, B. S.; FARIAS, G. B. L.; CARDOSO S. R. P. As transformações socioambientais da atividade de catação do Caranguejo uçá (*Ucides cordatus*), na Vila do Treme em Bragança/pa. IX Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental São Bernardo do Campo/SP – 26 a 29/11/2018.

SANTOS, T. N. A comercialização de pescado nas feiras livres de Feira de Santana- BA: concentração de elementos traços em camarões (*litopenaeus vannamei)* oriundos da baía de todos os santos. Universidade Estadual De Feira De Santana, Programa De Pós-Graduação Em Modelagem Em Ciências da Terra E do Ambiente-PPGM. 103 pg. 2017.

SHEN, Y., KANG, J., CHEN, W., & HE, S. (2016). DNA barcoding for the identification of common economic aquatic products in Central China and its application for the supervision of the market trade. **Food Control**, 61, 79–91.

SILVA, M. T. G. A Política De Seguro Defeso: intenções e avaliação de resultados; o caso de São José da Coroa Grande (PE). Monografia de Graduação apresentada ao Departamento de Economia da UFRN como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Economia. Pg. 69. 2014.

SILVEIRA, M. A. M. Observações gerais sobre a biologia, ecologia, e reprodução em cativeiro do camarão pitu, Macrbbrachium carcinus (linnaeus, 1758) (crustacea decapoda, pallemonidae). Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal Do Ceara Centro De Ciências Agrarias Departamento De Engenharia De Pesca. Pg. 39. 1982.

SOARES, L. M. S, ALVES, C. B. M., MELO, F. A. G., MORAE, L. E., LIMA, S. M. Q., & RAMOS, T. P. A. Ictiofauna das ecorregiões de água doce e marinhas do nordeste brasileiro. **Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia**, v. 122, p. 16-35, 2017.

SOUZA FILHO, P. W. M. 2005. Costa de manguezais de macromaré da Amazônia: cenários morfológicos, mapeamento e quantificação de áreas usando dados de sensores remotos. Revista Brasileira de Geofísica 23: 427-435.

SOUZA, T. O.; ALVES, F. A. S.; BEASLEY, C. R.; SIMONE, L. R. L.; MARQUES-SILVA, N. S.; SANTOS-NETO G. C.; TAGLIARO, C. H. Population structure and identification of two matrilinear and one patrilinear mitochondrial lineages in the mussel *Mytella charruana*. Estuar Coast Shelf Sci. Elsevier Ltd; 156: 165-174. 2015.

SUCHARD, M.A., LEMEY, P., BAELE, G., AYRES, D.L., DRUMMOND, A.J., RAMBAUT, A. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. **Virus Evol**. 2018.

SUN, S., LI, Q., KONG, L. et al. DNA barcoding reveal patterns of species diversity among northwestern Pacific molluscs. Sci Rep 6, 33367. 2016.

SUPINHO, T. J. Avaliação dos impactos do uso da arte de pesca *chicocota* na pescaria artesanal. Monografia para obtenção de Grau de Licenciatura em Oceanografia. Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras. 45 pg. 2018.

TAVARES, C.; GUSMÃO, J. (2016). Description of a new Penaeidae (Decapoda: Dendrobranchiata) species, *Farfantepenaeus isabelae* sp. nov. **Zootaxa** 4171 (3): 505–516. http://doi.org/10.11646/zootaxa.4171.3.6.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS D. G.; GIBSON T. J (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of alties and weight matrix choice**. Nucleic Acids Research.** Vol. 22, No. 22 4673-4680.

TIMM, L., BROWDER, J. A., SIMON, S., JACKSON, T. L., ZINK, I. C., & BRACKEN-GRISSOM, H. D. (2019). A tree money grows on: The first inclusive molecular phylogeny of the economically important pink shrimp (Decapoda: Farfantepenaeus) reveals cryptic diversity. Invertebrate Systematics, 33(2), 488–500. https://doi.org/10.1071/ IS18044.

TINACCI, L., STRATEV, D., VASHIN, I., CHIAVACCINI, I., SUSINI, F., GUIDI, A., et al. (2018). Seafood labelling compliance with European legislation and species identification by DNA barcoding: A first survey on the Bulgarian market. **Food Control**, 90, 180–188. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.03.007

UDAYASURIYAN R.; SARAVANA B. P.; VADIVALAGAN C.; RAJKUMAR G. Efficiency of different COI markers in DNA barcoding of freshwater prawn species. **Journal of Entomology and Zoology Studies**; 3 (3): 98-110. 2015.

UPANOI, T (2015). The penaid prawns of the Straits of Johor: Preliminary results. In: Tan KS, Goh L (eds), The Comprehensive Marine Biodiversity Survey: Johor Straits International Workshop (2012). **The Raffles Bulletin of Zoology Supplement** 31: 169–181.

VENEZA, I., FELIPE, B., OLIVEIRA, J., SILVA, R., SAMPAIO, I., SCHNEIDER, H., et al. (2014). A barcode for the authentication of the snappers (Lutjanidae) of the western Atlantic: rDNA 5S or mitochondrial COI. **Food Control**, 38, 116e123.

WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; HEBERT, P. D. N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, 360, 1847e1857.

Apêndice 1.1. Tabela de distância genética (K2P) dos haplótipos das espécies de camarões comercializada na Feira Livre. Sequências do NCBI foram inseridos a lista.

N	Haplótiplos	Distância Genética																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	AY135189 *P. schimitti*																				
2	Cbr1246 *P. schimitti*	0,0%																			
3	Cbr0509 *P.schimitti*	0,5%	0,5%																		
4	MT178583 *P. vannamei*	11,3%	11,3%	11,3%																	
5	Cgr0390 *P. vannamei*	11,3%	11,3%	11,3%	0,0%																
6	Cve0268 *P. vannamei*	11,6%	11,6%	11,6%	0,2%	0,2%															
7	Cca0620 *P. vannamei*	11,3%	11,3%	11,3%	0,5%	0,5%	0,2%														
8	MN240522 *P. isabelae*	12,3%	12,3%	12,3%	11,8%	11,8%	12,1%	12,1%													
9	Cba0293 *P. isabelae*	12,3%	12,3%	12,3%	11,8%	11,8%	12,1%	12,1%	0,0%												
10	Cbr2474 *P. isabelae*	13,2%	13,2%	13,2%	12,1%	12,1%	12,4%	12,4%	0,7%	0,7%											
11	DQ084376 *X. dincao*	25,0%	25,0%	25,0%	21,9%	21,9%	21,6%	21,3%	22,2%	22,2%	22,5%										
12	Cpi0521 *X. dincao*	25,0%	25,0%	25,0%	21,9%	21,9%	21,6%	21,3%	22,2%	22,2%	22,5%	0,0%									
13	Cpi1335 *X. dincao*	24,3%	24,3%	24,3%	21,9%	21,9%	21,6%	21,3%	21,9%	21,9%	21,5%	1,2%	1,2%								
14	DQ084368 *X. kroyeri*	20,9%	20,9%	20,9%	20,3%	20,3%	19,9%	19,6%	19,7%	19,7%	20,6%	13,8%	13,8%	14,1%							
15	Cpi1252 *X. kroyeri*	20,9%	20,9%	20,9%	20,3%	20,3%	19,9%	19,6%	19,7%	19,7%	20,6%	14,1%	14,1%	14,4%	0,2%						
16	Cgr0234 *X. kroyeri*	20,9%	20,9%	20,9%	20,3%	20,3%	19,9%	19,6%	19,7%	19,7%	20,6%	13,8%	13,8%	14,1%	0,0%	0,2%					
17	Cpi0317 *X. kroyeri*	20,9%	20,9%	20,9%	20,6%	20,6%	20,3%	19,9%	20,0%	20,0%	20,9%	13,5%	13,5%	13,8%	0,2%	0,5%	0,2%				
18	MT178686 *M. sculptilis*	23,6%	23,6%	23,6%	24,1%	24,1%	24,1%	23,8%	22,7%	22,7%	23,1%	21,9%	21,9%	21,9%	21,9%	22,2%	21,9%	21,5%			
19	Cts01 *M. sculptilis*	23,3%	23,3%	23,3%	23,4%	23,4%	23,4%	23,1%	22,1%	22,1%	22,4%	22,0%	22,0%	22,0%	20,9%	21,3%	20,9%	20,6%	1,9%		
20	KM255682 *M. equidens*	26,8%	26,8%	26,1%	24,5%	24,5%	24,2%	23,8%	22,2%	22,2%	22,2%	24,4%	24,4%	25,8%	23,9%	23,9%	23,9%	23,5%	23,7%	23,1%	
21	Cca0208 *M. equidens*	26,2%	26,2%	25,5%	24,6%	24,6%	24,2%	23,9%	22,2%	22,2%	22,2%	24,1%	24,1%	25,5%	23,2%	23,2%	23,2%	22,9%	24,0%	23,4%	0,5%

Apêndice 1.2. Tabela de distância genética (K2P) dos haplótipos das espécies de sururu/mexilhão comercializadas na Feira Livre. Sequências do NCBI foram inseridos à lista.

N	Haplótipos	Distância Genética						
		1	2	3	4	5	6	7
1	EU917195 *M. brasiliensis*							
2	Sur0171 *M. brasiliensis*	0,4%						
3	Sur0786 M. *brasiliensis*	0,6%	1,0%					
4	Sur0272 *M. brasiliensis*	0,0%	0,4%	0,6%				
5	MF075007 *M. strigata*	20,5%	21,0%	19,9%	20,5%			
6	Sur22155 *M. strigata*	20,5%	21,0%	19,9%	20,5%	0,0%		
7	JQ685156 *M. strigata*	19,2%	19,7%	18,7%	19,2%	6,3%	6,3%	
8	Sur21154 *M. strigata*	19,2%	19,7%	18,7%	19,2%	6,3%	6,3%	0,0%

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho reuniu informações importantes sobre a diversidade de espécies de crustáceos e moluscos comercializadas na Feira Livre de Bragança, região costeira amazônica, contendo dados obtidos a partir da identificação molecular com fragmentos do gene COI.

Este estudo é o primeiro a utilizar técnicas moleculares para identificação de espécies de crustáceos e moluscos comercializadas nesta Feira, sendo de grande relevância para caracterização da cadeia de comercialização desses invertebrados de interesse comercial. Mediante a essa pesquisa, concluímos que:

- A ferramenta molecular mostrou-se eficiente na identificação espécie-específica, o que poderá auxiliar na geração de dados a serem utilizados na elaboração de planos de gestão dos recursos pesqueiros.

- A Feira livre apresentou a comercialização de quatro famílias, sete gêneros e nove espécies para crustáceos e apenas uma família, dois gêneros e duas espécies para moluscos.

- A designação comercial, principalmente para camarões, é bastante ampla e não é padronizada com os nomes científicos, isso causa imprecisão sobre a espécie vendida.

- Em camarão, três espécies tiveram mais de uma designação comercial, e quatro designações foram compartilhadas entres as espécies.

- Dentre as espécies comercializadas, três são exóticas e foram registradas pela primeira vez na Feira Livre de Bragança (*P. vannamei*, *M. sculptilis* e *M equidens*). Além disso, duas foram recém descritas na literatura (*X. dincao* e *P. isabelae*).

- Em moluscos, foi observado a presença de uma segunda linhagem mitocondrial matrilinear em *M. strigata*, habitando a região Norte e sendo encontrada no comércio.