

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Iara Carolini Pinheiro

**ANÁLISE DE *PRIMERS* UNIVERSAIS NA IDENTIFICAÇÃO DE
ESPÉCIES EM CAMARÕES PROCESSADOS COMERCIALIZADOS
EM SANTA CATARINA**

**Florianópolis
2019**

Iara Carolini Pinheiro

**ANÁLISE DE *PRIMERS* UNIVERSAIS NA
IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES EM CAMARÕES
PROCESSADOS COMERCIALIZADOS EM SANTA
CATARINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para cumprimento da disciplina TCC II (BIO7016) do currículo do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientadora Prof.^a Dr.^a. Andrea Rita Marrero
Co-orientadora Me. Leandra Formentão

Florianópolis, 2019

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.**

Pinheiro, Iara Carolini

Análise de Primers Universais na Identificação de Espécies em Camarões Processados Comercializados em Santa Catarina / Iara Carolini Pinheiro ; orientadora, Andrea Rita Marrero , coorientadora, Leandra Formentão , 2020.

37 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2020.

1. Ciências Biológicas. 2. Barcode. 3. Identificação Genética. 4. Conservação. 5. DNA Barcoding
I. Rita Marrero, Andrea. II. Formentão, Leandra. III. Universidade Federal de Santa Catarina.
Graduação em Ciências Biológicas . IV. Título

ANÁLISE DE *PRIMERS* UNIVERSAIS NA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES EM CAMARÕES PROCESSADOS COMERCIALIZADOS EM SANTA CATARINA

Iara Carolini Pinheiro

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Licenciado em Ciências Biológicas”, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Andrea Rita Marrero
Orientadora

Gabriel Machado Matos, MSc.
Universidade Federal de Santa Catarina -
UFSC

Josiane Ribolli, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina -
UFSC

Norma Machado, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina -
UFSC

Florianópolis, 16 de Dezembro de 2019

Dedico esse trabalho a minha família e amigos por me ajudarem a tornar esse sonho possível.

AGRADECIMENTOS

Deixo aqui meus mais sinceros agradecimentos a todos que ajudaram na elaboração deste trabalho. À Universidade Federal de Santa Catarina, aos professores que tive o prazer de conhecer, aos servidores e funcionários terceirizados que fazem a manutenção da Universidade, permitindo que as atividades ocorram diariamente.

Agradeço à minha orientadora Andrea Rita Marrero por me aceitar no grupo e principalmente por ter mantido os alunos, mesmo depois de tantos cortes na educação, tendo que muitas vezes tirar dinheiro do próprio bolso para financiar nossas pesquisas. Muito obrigada!

À minha co-orientadora Leandra Formentão, pessoa que vi crescer dentro do laboratório, teve os primeiros ensinamentos de eletroforese comigo e hoje é parte fundamental na construção desse trabalho. Obrigada por todo suporte acadêmico e pelas conversas de apoio e incentivo, sejam elas dentro do laboratório ou nas nossas caminhadas até o RU.

Aos membros da banca, Gabriel Machado Matos, Josiane Ribolli e Norma Machado, por aceitarem o convite. Tenho certeza que as contribuições de vocês serão enriquecedora para o trabalho.

Ao grupo LAPOGE, do qual tenho muito orgulho de ter participado durante esses anos, por todo aprendizado e pelos amigos que fiz aqui. Em especial à Sophia Cassol por todos os momentos que passamos juntas desde que entramos no laboratório. À professora Yara Costa Netto Muniz, por todo suporte, tirando minhas dúvidas sempre que precisei e, principalmente, por sempre se preocupar comigo e com meu trabalho.

Ao meu amigo Bernardo Cima por todo suporte durante esses semestres árduos, me auxiliando não só no TCC, mas em todas as disciplinas que cursamos. Obrigada por todos os cafés e por ter tornado a graduação muito mais fácil e divertida. Aos amigos Gabriel Vaisam Castro e Vanessa Shadeck Deconto, sou muito grata por ter encontrado vocês no meio de tanta gente. Obrigada por tanto.

À minha família por ter me dado a melhor educação possível, fazendo com que eu me tornasse a mulher que sou hoje. Obrigada por todo suporte financeiro e emocional, permitindo a conclusão do curso.

“O que não provoca minha morte faz com que eu fique mais forte.”

Friedrich Nietzsche

RESUMO

O consumo de pescados vem crescendo nos últimos anos no Brasil e, entre os grupos comercializados, o camarão é o mais consumido. A carcinicultura vem ganhando destaque nacional, sendo que Santa Catarina é o estado com maior produção de camarão da região Sul. O camarão é comercializado em mercados e peixarias de Santa Catarina tanto na forma congelada, como *in natura*, e são vendidos inteiros ou processados em bandejas. Ainda que o produto não esteja processado, o reconhecimento da espécie é difícil para uma pessoa leiga. A identificação molecular por DNA tem se mostrado eficiente no reconhecimento correto das espécies. A técnica DNA *barcoding* surge como uma alternativa eficaz. O método foi proposto em 2003 e visa avaliar uma região gênica mitocondrial que possui pouca variação entre indivíduos da mesma espécie e grande variabilidade entre indivíduos de espécies diferentes. A identificação adequada ajuda a preservar a biodiversidade, além de evitar fraudes combatendo a comercialização ilegal de espécies que estão no período de defeso. Para este trabalho foram adquiridas 5 (cinco) bandejas de camarão congelado para análise. O N amostral foi realizado com base no tamanho dos camarões presentes nas bandejas. Ao total, foram selecionadas 26 (vinte e seis) amostras para identificação. A extração de DNA foi realizada com protocolo baseado no princípio *salting out*. O DNA extraído foi submetido à técnica de PCR (*Polymerase chain reaction*), utilizando o par de *primers* universal para invertebrados, LCO1490 e HCO2198. Após a amplificação das amostras, o resultado foi visualizado em gel de agarose 1%. As amostras amplificadas, foram sequenciadas e as sequências resultantes comparadas com o banco de dados *BOLD*, a fim de realizar a identificação das amostras corretamente. Foram aceitos os resultados com similaridade acima de 98%. Das 26 (vinte e seis) amostras, foram obtidos sequências de apenas 7 (sete), sendo que dessas, apenas 6 (seis) deram compatibilidade com espécies presentes no banco de dados. Os *primers* LCO1490 e HCO2198 não se mostraram eficientes na identificação genética de camarões. Além da identificação molecular, foram analisados os rótulos das embalagens, verificando se as informações seguiam as normas da ANVISA e se a nomenclatura presente correspondia com a encontrada na identificação genética. As 5 (cinco) bandejas analisadas apresentavam as informações obrigatórias previstas por Lei. Em relação a nomenclatura dos rótulos, foi encontrado erro em 3 (três) bandejas, apontando para a necessidade de fiscalização nos rótulos de camarões comercializado. Apesar da ineficiência dos *primers*, estudos como este são importantes para definir o que é eficiente, ou não, para que a aplicação forense em conservação seja rápida e confiável.

Palavras-chave: Conservação. COI. DNA Barcode. Fraude. Segurança Alimentar.

ABSTRACT

The consumption of seafood is growing in the past years in Brazil, among the commercialized groups, shrimp is the most consumed one. Shrimp farming is growing nationally and Santa Catarina is the biggest producer of the South Region of Brazil. Shrimp is commercialized in supermarkets and fish markets in Santa Catarina, both frozen and fresh, and besides, they are sold whole, in pieces or even processed. Even though the product is not processed, it is hard for a layperson to recognize the species of it. The molecular identification through DNA is being successful in correctly recognize the species. DNA barcoding is an efficient alternative for this. The identification method was proposed in 2003 and aims to assess a genic-mitochondrial region which has little variation among individuals of the same species and great variability among individuals of different species. The correct identification helps to preserve biodiversity and to avoid fraud, combating the illegal commercialization of species during closed season. 5 (five) packages of frozen shrimp were bought for analysis in this paper. The sample was based on the size of the shrimp inside the package. In total, 26 (twenty-six) samples were selected for identification. The DNA extraction protocol was based on the "salting out" principle. The extracted DNA was submitted to PCR (Polymerase chain reaction) technique, using the pair of "primers", universal for invertebrates, LCO1490 and HCO2198. After the sample amplification, the result was visualized on 1% agarose gel. The amplified samples were sequenced and the results were compared with BOLD data bank in order to correctly identify the samples. The results with similarity above 98% were accepted. From the 26 (twenty-six) samples, only 7 (seven) sequences were obtained; from these, only 6 (six) were compatible with species from the data bank. The primers LCO1490 and HCO219 were not efficient in the genetic identification of shrimp. Besides the molecular identification, the labels of the packages were analyzed in order to verify whether the information followed AVISA code and whether the nomenclature found on the package corresponded to the genetic identification. The 5 (five) analyzed packages presented all the information required by law. In relation to the nomenclature, however, 3 (three) packages presented mistakes. The labels of the shrimp packages, therefore, need to be fiscalized. Despite the primers inefficiency, studies as this one are important to point out what is efficient and what is not in order to make the forensic application in conservation fast and reliable.

Keywords: Conservation. COI. DNA Barcode. Fraud. Food Safety.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem representativa das espécies A) <i>Farfantepenaeus paulensis</i> e B) <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	16
Figura 2 – Imagem representativa das espécies A) <i>Artemesia longinaris</i> e B) <i>Xiphopenaeus kroyeri</i>	16
Figura 3 – Imagem representativa das espécies A) <i>Litopenaeus schmitt</i> e B) <i>Pleoticus muelleri</i>	17
Figura 4 – Representação dos camarões utilizados neste estudo e a comparação de tamanho entre eles. A) Bandeja 2 Empresa B, B) Bandeja 1 Empresa C, C) Bandeja 1 Empresa B, D) Bandeja 2 Empresa A e E) Bandeja 1 Empresa A.	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela mostrando as espécies encontradas após comparação no banco de dados com seu percentual de similaridade e tamanho do fragmento utilizado para comparação.	30
Tabela 2 – Comparação entre as nomenclaturas encontradas nos rótulos das empresas com as espécies identificadas moleculamente	34

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 – Quadro apresentando a quantidade de amostras retiradas de cada bandeja, conforme o tamanho dos camarões, formando o N amostral. 23
- Quadro 2 – Amostras utilizadas no estudo e suas respectivas identificações. O nome das amostras seguem o seguinte padrão A1.1, onde A = empresa / 1 = bandeja / 1 = amostra. 25
- Quadro 3 – Quadro apresentando as nomenclaturas popular e científicas encontradas nas bandejas e suas respectivas empresas. 33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BOLD	Barcode of Life Database
COI	Citocromo C Oxidase I
cm	Centímetros
cm ³	Centímetros Cúbicos
DMSO	Sulfóxido de Dimetilo
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>)
LAMEB	Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia
M	Molar
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
mL	Mililitro
mM	Milimolar
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
ng	Nanograma
pb	Pares de Bases
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês, <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
SC	Santa Catarina
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
V	Volts
μL	Microlitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivo Geral	21
2.2	Objetivos Específicos	21
3	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1	Seleção das amostras	23
3.2	Coleta e processamento das amostras	23
3.3	Extração e dosagem do DNA	25
3.4	Amplificação das amostras	25
3.5	Sequenciamento	26
3.6	Análise das sequências	27
3.7	Análise dos rótulos	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Análises moleculares	29
4.2	Análise dos rótulos	32
4.3	Análise dos rótulos X Análises moleculares	34
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

O termo pescado abrange peixes, crustáceos, anfíbios, moluscos e quelônios, habitantes de meios aquáticos, tanto de água salgada quanto de água doce (SARTORI; AMANCIO, 2012). Esses possuem uma ampla gama de micronutrientes essenciais como vitaminas, minerais, ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-3 e proteínas de alto valor biológico em contraponto com baixa quantidade de gorduras saturadas, colesterol e carboidratos. Devido a essas características, atualmente o pescado é sinônimo de bem-estar e redução dos riscos de doenças, como aquelas relacionadas ao sistema cardiovascular (BORGHESI et al., 2013).

Em 2016, a pesca e aquicultura mundial arrecadaram cerca de 171 milhões de toneladas de pescado, das quais 151,2 milhões foram destinadas para o consumo humano. Deste total, a pesca mundial arrecadou 90,9 milhões de toneladas, apresentando uma queda em relação aos dois anos anteriores, 2014 e 2015, quando o rendimento foi de 91,2 e 92,7 milhões de toneladas, respectivamente. Entretanto, a produção de pescados provenientes da aquicultura vem crescendo exponencialmente durante os anos (Food and Agriculture Organization, 2018).

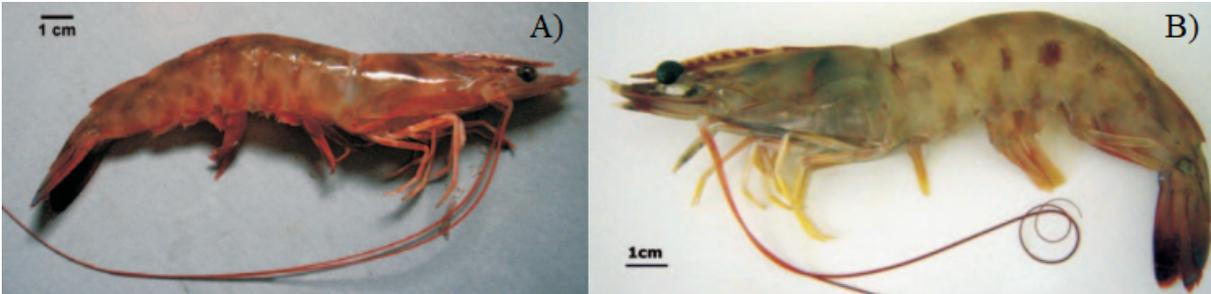
A família Penaeidae, composta inteiramente por camarões, representa um dos recursos pesqueiros mais abundantes no mundo e com maior valor comercial. Os peneídeos apresentam ampla distribuição geográfica, encontrando-se em todos os oceanos, principalmente em regiões subtropicais e tropicais. Essa família é constituída por 33 gêneros, somando um total de 215 espécies e subespécies (MARQUES, 2015; PINHEIRO; BOOS, 2016).

Segundo Dias-Neto e Dias (2015), os camarões encontrados nas regiões Sul e Sudeste são o camarão-rosa, que corresponde a duas espécies: *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis*, o camarão-sete-barbas, cientificamente chamado de *Xiphopenaeus kroyeri*, camarão-branco, que corresponde ao *Litopenaeus schmitti*, camarão-barba-ruça, que representa o *Artemesia longinaris*, e o camarão-santana, equivalente ao *Pleoticus muelleri*. A maioria das espécies são peneídeos, apenas o camarão *Pleoticus muelleri* pertence à família Solenoceridae.

As espécies, *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis* (Figura 1), possuem ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde a costa leste dos Estados Unidos, até o sul do Brasil. Ambas espécies se reproduzem durante ano inteiro, porém com dois picos de maior intensidade, um de abril a junho, e outro de setembro a novembro. O período de recrutamento ocorre com maior intensidade duas vezes no ano, o primeiro de fevereiro a abril, e o segundo de outubro a dezembro (DIAS-NETO;

DIAS, 2015).

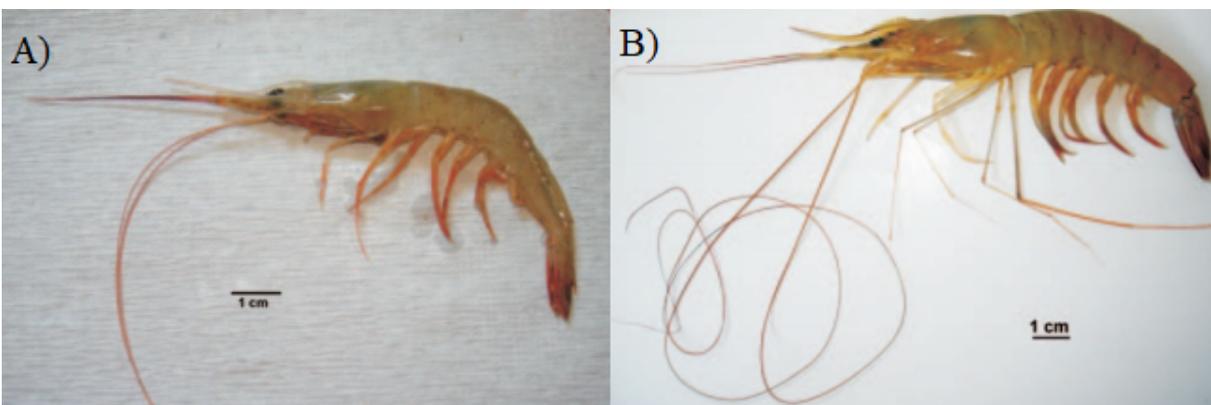
Figura 1 – Imagem representativa das espécies A) *Farfantepenaeus paulensis* e B) *Farfantepenaeus brasiliensis*.



Fonte: Adaptado de (NETO, 2011)

O camarão *Xiphopenaeus kroyeri* (Figura 2A) possui ampla distribuição geográfica, estando presente desde os Estados Unidos até o sul do Brasil. No litoral brasileiro, há indícios de que a espécie trata-se, na verdade, de duas espécies crípticas. Esses camarões habitam áreas com profundidade superior a 100 metros, mas são mais comuns em regiões rasas, como 30 metros de profundidade. No Sul e Sudeste, seu pico de reprodução ocorre entre outubro e fevereiro e seu ciclo de vida é de 2 anos. O camarão *Artemesia longinaris* (Figura 2B) possui distribuição diferente dos demais, estando localizado apenas entre o litoral do estado do Rio de Janeiro até Puerto Rawson, na Argentina. Essa espécie é morfologicamente parecida com *Xiphopenaeus kroyeri*, diferenciando-se apenas pela quantidade e forma dos espinhos rostrais dorsais (DIAS-NETO; DIAS, 2015).

Figura 2 – Imagem representativa das espécies A) *Artemesia longinaris* e B) *Xiphopenaeus kroyeri*.

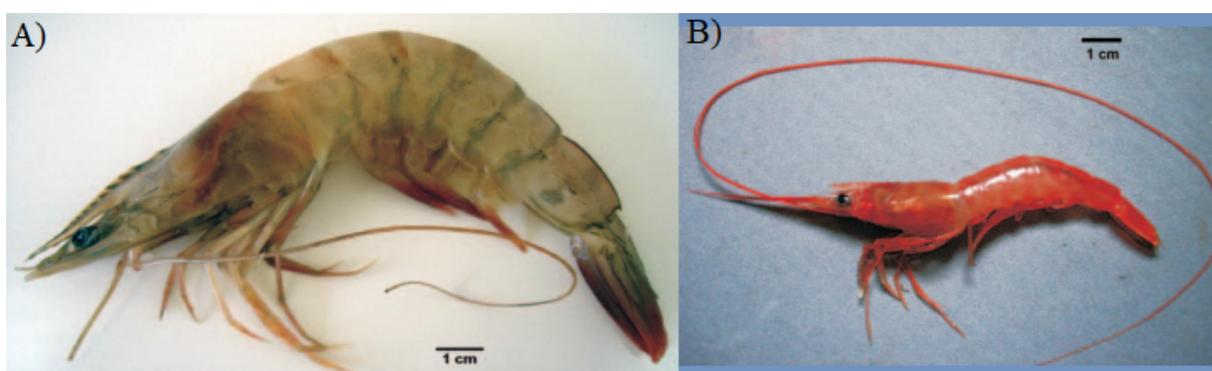


Fonte: Adaptado de (NETO, 2011)

A espécie *Litopenaeus schmitti* (Figura 3A) ocorre desde Cuba até o sul do Brasil. Assim como o gênero *Farfantepenaeus*, esses camarões, quando no seu estrato

juvenil, permanecem em estuário e na fase adulta migram para alto mar. Na região sul do Brasil ocorre apenas um pico de reprodução de outubro a novembro (DIAS-NETO; DIAS, 2015). A espécie *Pleoticus muelleri* (Figura 3B) ocorre desde o Espírito Santo até a Província da Santa Cruz, na Argentina. É caracterizado pela sua cor avermelhada e rostro curto. Esses camarões concluem todo seu ciclo de vida em águas marinhas, porém não há muitos estudos sobre seu ciclo de vida. Índícios apontam que a mesma população que habita o Sul do Brasil, habita o Uruguai e o Norte da Argentina (DIAS-NETO; DIAS, 2015).

Figura 3 – Imagem representativa das espécies A) *Litopenaeus schmitti* e B) *Pleoticus muelleri*.



Fonte: Adaptado de (NETO, 2011)

Todas as espécies citadas anteriormente são abordadas na legislação de pesca de Santa Catarina, portanto sua pesca é legalizada. Porém, no estado de Santa Catarina, o período de defeso protege apenas o camarão-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis*) e o camarão-branco (*Litopenaeus schmitti*). As demais espécies podem ser pescadas durante todo o ano.

Mundialmente, a pesca destes camarões ocorre intensamente durante todo o ano devido a sua importância comercial. Esses são pescados tanto no seu estrato juvenil, em baías e estuários, quanto na sua forma adulta, em mar aberto. Com a intensidade da pesca nos dois estratos de vida, é difícil para estes organismos conseguirem fechar seu ciclo de vida e, assim, perpetuar a população, gerando um declínio no número de indivíduos (PINHEIRO; BOOS, 2016).

A Instrução Normativa-IN MMA nº 5, publicada dia 21 de maio de 2004 pelo Ministério do Meio Ambiente, aponta as espécies *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Farfantepenaeus paulensis*, *Farfantepenaeus subtilis*, *Litopenaeus schmitti* e *Xiphopenaeus kroyeri* como invertebrados aquáticos sobreexplotados ou ameaçados de sobreexploração. A normativa definiu como sobreexplotados espécies que estão sendo capturadas excessivamente em uma ou várias fases do ciclo de vida, gerando uma diminuição na biomassa e baixo potencial de desova, conseqüentemente reduzindo a quantidade das

pescas futuras (NETO, 2011).

A má gestão de recursos pesqueiros e controle da pesca extrativista têm causado prejuízos ao meio ambiente. Um ótimo exemplo é o caso da sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) que já foi historicamente a espécie com maior contribuição na produção anual brasileira, chegando a 230.000t em 1973. Porém, no decorrer dos anos e com adoção de medidas de gestão atenuadas, a produção chegou a 17.000t no ano 2000 (NETO, 2010).

Além da comercialização de camarões obtidos da pesca extrativista, são comercializados camarões provenientes da criação em cativeiro, também conhecida como carcinicultura. O comércio de camarão cultivado começou em Santa Catarina por volta de 1984 com a implementação de fazendas no estado. Em 1985, a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) iniciou pesquisas de reprodução e cultivo de camarão. O cultivo começou com as espécies *Farfantepenaeus paulensis* e *Litopenaeus schmitti*, porém não obtiveram resultados satisfatórios. Apenas em 1988, a UFSC, juntamente com a EPAGRI, introduziram no Estado a espécie *Litopenaeus vannamei*, conhecida popularmente como camarão-branco-do-pacífico. Essa espécie já tinha apresentado resultados expressivos nos cultivos do Nordeste do Brasil e vem sendo usada até hoje na criação de camarão em cativeiro em diversos Estados (FILHO; RONÇANI, 2004; Banco Reagional de Desenvolvimento do Extremo Sul, 2004).

Os camarões são comercializados de duas formas: frescos ou congelados. Segundo o Regulamento Técnico de Identidade (RTIQ), publicado dia 10 de setembro de 2010, PORTARIA 456 e 457, são considerados frescos os camarões que forem obtidos de matéria prima fresca, que passaram por um processo de lavagem adequado e que sejam conservados em temperaturas próximas a do gelo fundente. Os produtos que passaram pelo processo de congelamento e depois foram descongelados, não são considerados produtos frescos. Os camarões que são comercializados congelados podem ser oriundos de matéria prima fresca ou de produtos que já passaram por algum tipo processamento, como é o caso dos camarões cozidos.

O reconhecimento adequado das espécies que estão sendo capturadas é de extrema importância para o manejo dos estoques pesqueiros. Primeiro porque a estimativa de desembarque pode estar sub ou superestimada, devido a presença de espécies crípticas. Segundo que a identificação correta torna as práticas de manejo mais eficientes para a população, visto que diferentes espécies apresentam diferentes características biológicas (HILSDORF et al., 2006).

A identificação das espécies comercializadas através de características morfológicas nem sempre pode ser realizada com facilidade, pois muitas vezes as espécies são bastante similares ou vendidas altamente processadas, como: cozidas, congeladas,

salgadas, entre outros exemplos, retirando características morfológicas essenciais para a sua identificação (GALIMBERTI et al., 2013). Portanto, a identificação molecular a partir de DNA pode ser extremamente útil para a identificação correta das espécies (PAVAN; MONTEIRO, 2014).

A técnica de DNA *barcoding*, proposta por Hebert et al. (2003), tem como objetivo utilizar uma região padronizada para a identificação de espécies. Essa região do genoma é conhecida como “DNA *barcode*”, a qual pode ser um gene, pedaço de um gene ou uma região intra-gene. Para grande parte dos metazoários é utilizado um fragmento do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase I (COI), que possui em torno de 655 pares de base (pb), iniciando na base 58 da extremidade 5'. Essa região apresenta pouca variação entre indivíduos da mesma espécie e grande variação entre espécies diferentes, sendo um bom marcador para a identificação molecular de espécies. Isso ocorre pois há um alto índice de substituições de nucleotídeos de terceira posição. Essas mutações são, frequentemente, sinônimas e permitem que um gene altamente vital tenha variações entre espécies e aumente a taxa de mutação, o que, conseqüentemente, distancia uma espécie de outra (HEBERT et al., 2003; GONÇALVES, 2009).

Devido à facilidade e rapidez na identificação de espécies, a utilização de DNA *barcodes* vem se mostrando uma ferramenta de grande importância na conservação da biodiversidade, permitindo a identificação rápida de organismos por outros pesquisadores além do taxonomista. A aplicação do método tem apresentado resultados expressivos na identificação de espécies crípticas, na descoberta de novas espécies e até mesmo de novos táxons (LI et al., 2017; W et al., 2014; MARQUES, 2015).

A conservação tem como objetivo entender os efeitos causados pelo homem nas espécies e ecossistemas, amenizar esse impacto gerado, desenvolver estratégias para prevenir a extinção e, se possível, reintegrar as espécies ameaçadas ao seu ecossistema natural. Esse trabalho se torna complexo quando não há informações suficientes de alguma espécie ou quando ela sequer é conhecida (PRIMACK; RODRIGUES, 2006). Portanto, a identificação correta destas espécies de camarões comercializados é primordial tanto para estudos biológicos, como para estudos populacionais, ecológicos e de impactos da sobrepesca, além de auxiliar na estimativa do desembarque pesqueiro (COSTA et al., 2003).

Além da dificuldade na identificação morfológica das espécies comercializadas, outro ponto que prejudica o reconhecimento correto destas espécies é a rotulagem inadequada dos produtos. Segundo a legislação brasileira, sob a RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC N 26, DE 2 DE JULHO DE 2015, considera-se rotulagem: “toda inscrição, legenda, imagem ou toda matéria descritiva ou gráfica,

escrita, impressa, estampada, gravada, gravada em relevo ou litografada ou colada sobre a embalagem do alimento”. A resolução lista ainda as seguintes informações obrigatórias que devem estar presentes no rótulo: “denominação de venda do alimento; lista de ingredientes; conteúdos líquidos; identificação da origem; nome ou razão social e endereço do importador, no caso de alimentos importados; identificação do lote; prazo de validade; instruções sobre o preparo e uso do alimento, quando necessário”. Além disso, dispõe sobre o idioma e padronização da escrita, deixando claro que: “a informação obrigatória deve estar escrita no idioma oficial do país de consumo com caracteres de tamanho, realce e visibilidade adequados, sem prejuízo da existência de textos em outros idiomas”. A rotulagem tem como objetivo identificar a origem do produto, características nutricionais e composição, além de permitir o rastreamento destes (CÂMARA et al., 2008).

A identificação adequada das espécies comercializadas atua diretamente na conservação, visando preservar a biodiversidade e combater a comercialização ilegal dessas espécies durante o período de defeso. O consumidor também é beneficiado com a rotulagem correta dos produtos, tanto na área econômica, pois estes possuem valores expressivos, como no âmbito da saúde, visto que algumas espécies podem causar alergias e outros problemas indesejados.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência de um par de *primers* universais de invertebrados na identificação genética da(s) espécie(s) presente(s) nas bandejas de camarões congelados comercializadas no Estado de Santa Catarina e analisar se a identificação encontrada corresponde com a presente nos rótulos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a eficiência do par *primer* universal na identificação de espécies de camarão comercializados em Santa Catarina.
- Identificar corretamente a(s) espécie(s) presente(s) nas bandejas de camarões comercializadas no Estado de Santa Catarina.
- Analisar se a(s) espécie(s) comercializada(s) possui(em) ocorrência no litoral catarinense.
- Analisar se a identificação da espécie(s) presente(s) no rótulo corresponde com a espécie(s) que se encontra na bandeja, tanto no nome científico, quanto no nome popular.
- Averiguar se a rotulagem segue as normas previstas pela legislação vigente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Após levantamento das empresas que comercializam camarões congelados em embalagens fechadas no estado de Santa Catarina, foram selecionadas 3 (três) empresas para análise. Essas foram nomeadas **A**, **B** e **C** a fim de preservar suas identidades.

Empresa A: Segundo informações divulgadas pela empresa, esta trabalha com os seguintes camarões: camarão sete barbas e camarão rosa.

Empresa B: Com base em informações publicadas no site da empresa, a companhia trabalha com os seguintes camarões: cinza, rosa, laguna e sete barbas.

Empresa C: Conforme informações divulgadas no site da empresa, sua matéria-prima é obtida da pesca extrativista. Os camarões que a companhia cita são: vannamei e camarão sete-barbas.

3.2 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

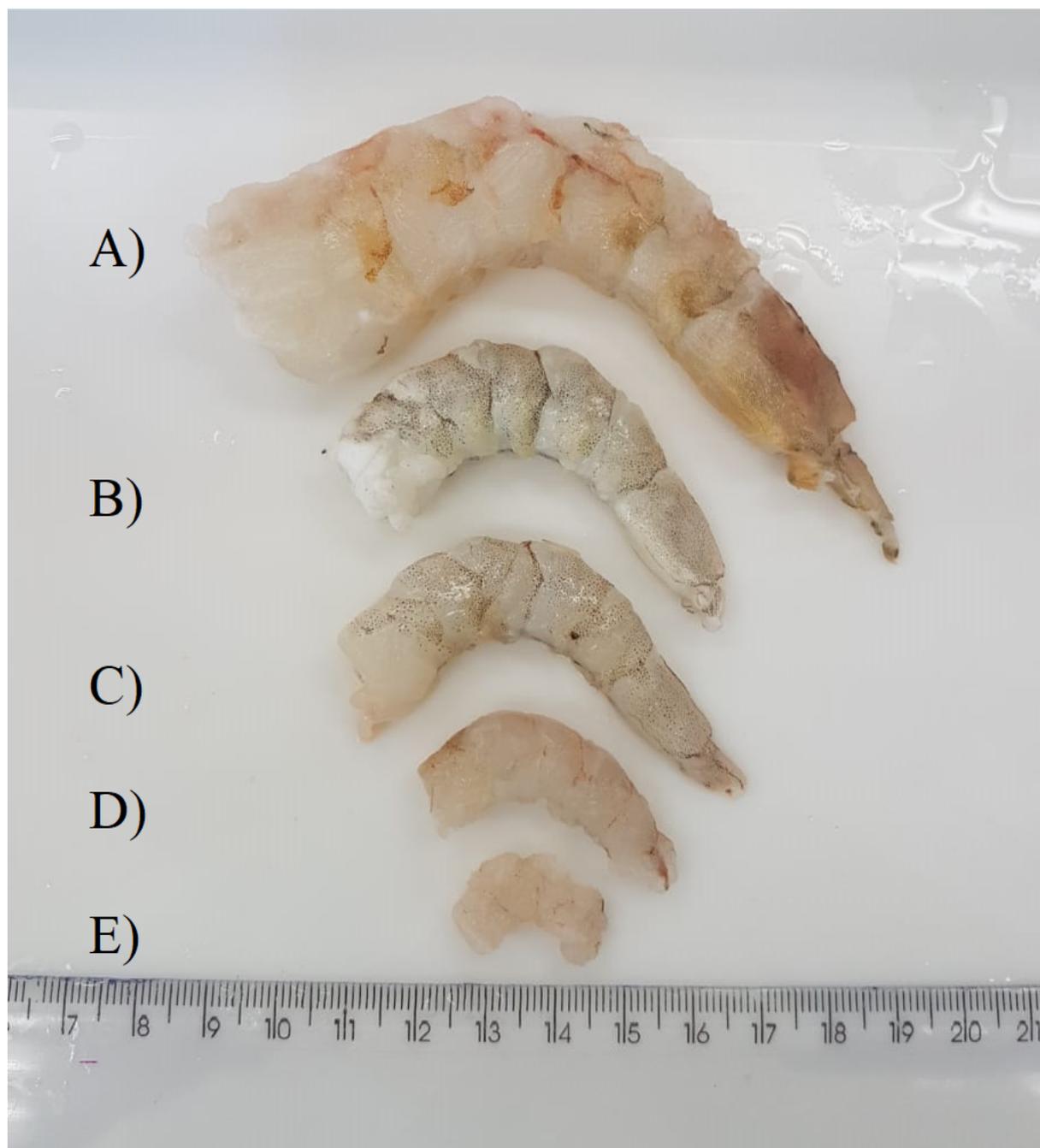
As embalagens de camarão foram obtidas em diferentes supermercados e peixarias de Florianópolis/SC. No total foram coletadas 5 (cinco) bandejas para análise. Para as empresas **A** e **B** foram adquiridas 2 (duas) bandejas e para empresa **C**, foi adquirida apenas 1 (uma) bandeja. Os camarões apresentavam três tamanhos, pequeno (entre 3 e 5 cm de comprimento), médio (em média 8 cm de comprimento) e grande (aproximadamente 13 cm de comprimento).

Quadro 1 – Quadro apresentando a quantidade de amostras retiradas de cada bandeja, conforme o tamanho dos camarões, formando o N amostral.

Empresa	Bandeja	Tamanho	Quantidade de amostra
Empresa A	A1	Pequeno	8
Empresa A	A2	Pequeno	8
Empresa B	B1	Médio	4
Empresa B	B2	Grande	2
Empresa C	C1	Médio	4

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4 – Representação dos camarões utilizados neste estudo e a comparação de tamanho entre eles. A) Bandeja 2 Empresa B, B) Bandeja 1 Empresa C, C) Bandeja 1 Empresa B, D) Bandeja 2 Empresa A e E) Bandeja 1 Empresa A.



Fonte: Elaborado pela autora.

O N amostral de cada bandeja foi determinado com base no tamanho dos camarões presentes, como mostra o Quadro 1, somando um total de 26 (vinte e seis) amostras para análise (Quadro 2). Os camarões usados para a obtenção das amostras foram escolhidos aleatoriamente e fragmentadas em pedaços de aproximadamente 1 cm³. Estes foram acondicionados em microtubos tipo Eppendorf® de 1,5 mL, identificados e armazenados a -20C°. Para todas as amostras foram conservadas

duplicatas.

Quadro 2 – Amostras utilizadas no estudo e suas respectivas identificações. O nome das amostras seguem o seguinte padrão A1.1, onde A = empresa / 1 = bandeja / 1 = amostra.

Empresa	Bandeja	Amostra	Empresa	Bandeja	Amostra
Empresa A	A1	A1.1	Empresa A	A2	A2.1
Empresa A	A1	A1.2	Empresa A	A2	A2.2
Empresa A	A1	A1.3	Empresa A	A2	A2.3
Empresa A	A1	A1.4	Empresa A	A2	A2.4
Empresa A	A1	A1.5	Empresa A	A2	A2.5
Empresa A	A1	A1.6	Empresa A	A2	A2.6
Empresa A	A1	A1.7	Empresa A	A2	A2.7
Empresa A	A1	A1.8	Empresa A	A2	A2.8
Empresa B	B1	B1.1	Empresa C	C1	C1.1
Empresa B	B1	B1.2	Empresa C	C1	C1.2
Empresa B	B1	B1.3	Empresa C	C1	C1.3
Empresa B	B1	B1.4	Empresa C	C1	C1.4
Empresa B	B2	B2.1	-	-	-
Empresa B	B2	B2.2	-	-	-

Fonte: Elaborada pela autora.

3.3 EXTRAÇÃO E DOSAGEM DO DNA

O DNA genômico foi extraído com base no protocolo proposto por Aljanabi e Martinez (1997), com modificações feitas por Scaranto (2017). Após o processo de extração, as amostras foram analisadas por espectrofotometria no aparelho NanoVue™ (GE Healthcare Life Sciences) a fim de mensurar a concentração e pureza do DNA. Com base nos resultados da espectrofotometria, as amostras foram diluídas em água ultrapura para concentração de 20 ng/ μ L.

3.4 AMPLIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A amplificação de um fragmento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI), foi realizada com os *primers* LCO1490 5' GGT CAA ACA AAT CAT AAA GAT ATT GG 3' (*Forward*) e HCO2198 5' TAA AAT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA 3' (*Reverse*), descritos por Folmer et al. (1994).

O protocolo de reagentes utilizado na amplificação das amostras foi proposto por Bilgin et al. (2015), usando o volume final de 25 μ L e foi utilizado em todos os protocolos de temperatura testados. As temperaturas de amplificação foram adaptadas de Costa et al. (2007b) e Alam et al. (2019). O programa consistiu em uma temperatura inicial de desnaturação de 94°C por 5 minutos, seguida de 5 ciclos de 94°C por 30 segundos, 45°C por 30 segundos e 72° por 45 segundos. Sucessivamente, 30 ciclos

de 94°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos e 72°C por 45 segundos, terminando com uma extensão final de 72°C por 3 minutos.

As amostras que não amplificaram com as condições anteriores foram testadas em um segundo protocolo de temperatura proposto por Spielmann et al. (2018). O programa consistiu em uma temperatura inicial de desnaturação de 94°C por 2 minutos, seguido de 5 ciclos de 94° por 30 segundos, 47°C por 40 segundos e 72°C por 1 minuto. Posteriormente, 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 52°C por 40 segundos e 72°C por 1 minutos, finalizando com uma extensão final de 72°C por 10 minutos.

As amostras que não apresentaram resultados em nenhum dos protocolos anteriores, foram testadas em um terceiro protocolo proposto por Oliveira (2015). O programa consistiu em uma etapa de desnaturação inicial de 94°C por 1 minuto, seguido por 5 ciclos de 94°C por 1 minuto, 45°C por 40 segundos e 72°C por 1 minuto. Sucessivamente, 35 ciclos de 94° por 1 minuto, 51° por 40 segundos e 72° por 1 minuto, terminando com uma extensão final de 72°C por 5 minutos. A reação de amplificação de todos os diferentes teste de temperatura, ocorreu no Flexid Mastercycler (Eppendorf) utilizando a concentração de DNA de 20 ng/ μ L.

Além dos diferentes protocolos de temperaturas, foram testados o uso de DMSO 3% junto à reação de amplificação e 5 (cinco) concentrações diferentes de cloreto de magnésio na reação de amplificação: 2,5 mM, 3,0 mM, 3,5 mM, 4,0 mM e 5,0 mM. A concentração final de magnésio indicada na bula é de 2,5 mM.

Os produtos da reação de amplificação foram visualizados em gel de agarose 1%, em corridas de 40 minutos a 90V. Os geis foram visualizados através do *software* GelCapture, no fotodocumentar MiniBIS Pro (DNR Bio-Imaging Systems).

3.5 SEQUENCIAMENTO

As amostras foram sequenciadas no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia da Universidade Federal de Santa Catarina (LAMEB/UFSC) pela profissional responsável pelo equipamento, a partir de protocolos patronizados¹ pelo próprio LAMEB, no sequenciador ABI3500 *Genetic Analyzer* (Applied Biosystems®)

¹ Disponíveis em: <<http://lameb.ccb.ufsc.br/files/2016/03/POP-031-Rea%C3%A7%C3%A3o-para-sequenciamento-no-Sequenciador-Automatizado-de-DNA-ABI3500.pdf>> e <<http://lameb.ccb.ufsc.br/files/2016/03/POP-032-Rea%C3%A7%C3%A3o-de-precipita%C3%A7%C3%A3o-com-etanol.EDTA-para-sequenciamento-no-Sequenciador-Automatizado-de-DNA-ABI3500.pdf>>.

3.6 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS

Os eletroferogramas foram analisados no software Chromas versão 2.6.5. As sequências geradas foram editadas no BioEdit Sequence Alignment Editor versão 7.0.5.3, exportadas em formato FASTA e comparadas com sequências já existentes no banco de dados *online BOLD Systems* (www.boldsystems.org).

3.7 ANÁLISE DOS RÓTULOS

A análise dos rótulos das 5 (cinco) bandejas utilizadas nesse estudo, foi realizada com base na Instrução Normativa Nº 22, de 24 de Novembro de 2005, onde encontram-se as normas para rotulagem de produtos de origem animal embalados, e na Portaria Nº 457, de 10 de setembro de 2010, que prevê os regulamentos de identidade e qualidade para camarões congelados. As espécies identificadas molecularmente nesse trabalho também foram utilizadas para a análise dos rótulos afim de comparar as informações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES MOLECULARES

O primeiro programa de temperatura de amplificação adaptado de Costa et al. (2007b) e Alam et al. (2019), resultou na amplificação das seguintes amostras: B1.1, B1.4, B2.1, B2.2, C1.1, C1.2 e C1.3. Os protocolos Spielmann et. al. (2018) e Oliveira, (2015), resultaram na amplificação de apenas uma amostra, a C1.1. O uso de DMSO 3% e o teste de concentração de cloreto de magnésio, não tiveram nenhum resultado positivo na amplificação das amostras. Todos os três protocolos de temperatura de amplificação foram testados diversas vezes. Portanto, todas as amostras que foram para sequenciamento, foram obtidas através do protocolo adaptado de Costa et al. (2007b) e Alam et al. (2019).

O par de *primers* LCO1490 e HCO2198 têm como objetivo a amplificação de um fragmento de aproximadamente 710 pb do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI) em invertebrados. O estudo que propôs estes *primers*, conseguiu amplificar mais de 80 espécies em 11 filos diferentes (FOLMER et al., 1994). Entretanto, estudos mais recentes têm mostrado que os *primers* Folmer não são tão universais assim. O par de *primers* têm apresentado dificuldades na amplificação do fragmento em diversos táxons de invertebrados. Uma das causas apontadas para esse problema foi a incompatibilidade nas posições de anelamento (mismatches) (GELLER et al., 2013; MIODUCHOWSKA et al., 2018; SHARMA; KOBAYASHI, 2014).

A utilização de *primers* universais é empregada para identificar amostras que não se sabe ao certo de qual espécie se trata, porém essa técnica pode conter alguns problemas. Em invertebrados e vertebrados, os *primers* universais conseguem amplificar vários táxons, porém o reconhecimento de espécies dentro de um determinado táxon se torna mais difícil usando apenas *primers* universais, especialmente quando são universais de taxóns tão abrangentes (FORAN et al., 2015; EVANS; PAULAY, 2012).

Houdt et al. (2010) encontraram baixa taxa de amplificação do fragmento COI em amostras da família Tephritidae (mosca-da-fruta) com a utilização dos *primers* Folmer. Das 45 (quarenta e cinco) amostras testadas, apenas 7 (sete) foram para sequenciamento, porém não foi possível realizar a leitura dos eletroferogramas devido aos ruídos. As outras 38 amostras não apresentaram produto de PCR.

Algo semelhante aconteceu no presente estudo, onde das 26 (vinte e seis) amostras de camarão analisadas, só foi possível enviar para sequenciamento 7 (sete),

uma vez que as outras 19 (dezenove) amostras não apresentaram produto de PCR. Das 7 (sete) amostras que foram para sequenciamento, apenas 5 (cinco) eletroferogramas estavam aptos para identificação. Essas amostras foram: B1.4, B2.1, B2.2, C1.2 e C1.3. Os resultados estão na Tabela 1, assim como o tamanho dos fragmentos utilizados para a identificação das espécies no banco de dados (*BOLD*) e a porcentagem de similaridade obtida.

Tabela 1 – Tabela mostrando as espécies encontradas após comparação no banco de dados com seu percentual de similaridade e tamanho do fragmento utilizado para comparação.

Amostra	Espécie	Similaridade %	Fragmento (pb)
B1.4	<i>Penaeus vannamei</i>	100	414
B2.1	<i>Artemesia longnaris</i>	98,86	352
B2.2	<i>Artemesia longnaris</i>	98,76	405
C1.2	<i>Enteroctopus megalocyathus</i>	100	151
C1.3	<i>Enteroctopus megalocyathus</i>	100	119

Fonte: Elaborado pela autora

A utilização de mini-*barcodes*¹ foi necessária em 2 (duas) amostras (C1.2 e C1.3) devido ao grau de ruídos nos eletroferogramas. Segundo Meusnier et al. (2008), o uso de um fragmento de apenas 100 pb pode conter substituições de nucleotídeos necessárias para a identificação a nível de espécie. Portanto, o desenho de *primers* mini-*barcode* surge como uma alternativa para a identificação de camarões, visto que o reconhecimento a nível de espécie foi possível com fragmentos menores que 200 pb.

Além disso, a associação do par de *primers* HCO2198 e LCO1490 com outros *primers* têm sido uma possibilidade na indentificação de crustáceos. Costa et al. (2007a) amplificaram o gene COI em amostras da ordem Decapoda utilizando o primer HCO2198 (*reverse*) em combinação com 3 (três) diferentes *primers forward*, sendo eles, LCO1490, CrustF1 e CrustF2. Essa combinação também foi utilizada no estudo Radulovici et al. (2009) em amostras de Crustáceos, conseguindo amplificar 82 das 87 amostras testadas.

Foi realizada uma busca no *GenBank*, na plataforma NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) com todas as possíveis espécies² constantes nas bandejas a fim de analisar os *primers* utilizados para a amplificação do gene COI. Os *primers* LCO1490 e HCO2198 foram utilizados em amostras das espécies: *Artemesia longnaris*, *Farfantepenaeus subtilis* e *Farfantepenaeus brasiliensis*. Para as demais

¹ Mini-*barcodes* provenientes de edições em sequências obtidas de aproximadamente 650 pb.

² As possíveis espécies são *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Farfantepenaeus paulensis*, *Xiphopenaeus kroyeri*, *Litopenaeus schmitti*, *Artemesia longnaris* e *Pleoticus muelleri* que são encontradas em Santa Catarina e as espécies *Litopenaeus vannamei* e *Farfantepenaeus subtilis* por estarem descritas nos rótulos das empresas.

foram utilizados outros *primers*, não testados nesse estudo, para amplificação do marcador COI.

A espécie *Artemesia longinaris* foi identificada nesse estudo, corroborando com os dados encontrados no NCBI. Portanto, acredita-se que as espécies *F. subtilis* e *F. brasiliensis*, não estavam presentes nas amostras coletadas das bandejas, caso contrário, a amplificação seria possível. A não utilização dos *primers* Folmer na amplificação do gene COI nas demais espécies de camarão encontradas na plataforma NCBI fortalece a hipótese de que os *primers* não são eficientes para a amplificação desse marcador.

Devido aos resultados encontrados nas amostras C1.2 e C1.3, foi realizado uma nova extração de DNA só com as amostras C1. Nessa extração, os fragmentos foram retirados bem do interior da amostra, tentando não pegar pedaços externos. Após o processo de extração, as amostras foram submetidas ao programa de temperatura adaptado de Costa et al. (2007b) e Alam et al. (2019) e o protocolo de reagentes proposto por Bilgin et al. (2015). Essas amostras não apresentaram nenhuma amplificação, mesmo depois de repetidos testes.

A espécie de polvo *Enteroctopus megalocyathus*, identificada nas amostras C1.2 e C1.3, pertence à família Octopodidae, possui distribuição geográfica ao longo de toda a costa da América do Sul, tanto no Oceano Pacífico, quanto no Oceano Atlântico. Esses polvos são encontrados desde regiões entre marés, até profundidades de 140 metros (IBÁÑEZ; CHONG, 2008).

No Boletim Estatístico da Pesca Industrial de Santa Catarina - Ano 2012 não há registros da espécie *Enteroctopus megalocyathus*. As únicas espécies indicadas de polvo são *Octopus vulgaris* e *Eledone Massyae*. Porém, há uma nota do lado do item Polvo que diz: “ Mistura: Várias espécies sem valor comercial ou, quando de valor comercial, desembarcadas em quantidades muito baixas, sem discriminação por espécies.”, o que indica que podem haver outras espécies de polvos. No estado de Santa Catarina o período de defeso não protege a espécie *Enteroctopus megalocyathus* (UNIVALI, 213).

Durante o processo de separação e extração de DNA das amostras foi possível observar que todas as amostras presentes nas embalagens eram morfologicamente camarões. Portanto, acredita-se que houve contaminação da amostra durante o procedimento de limpeza e embalagem do produto na empresa. Os *primers* Folmer são universais para invertebrados e durante a PCR possivelmente apresentaram mais afinidade pelo DNA disponível do polvo. No estudo de Cassol (2018), foram realizadas amostras com mistura intencional, onde 85% da amostra era carne de siri (*Callinectes sapidus*) e apenas 15% eram carne de lula (*Dosidicus gigas*) e o resultado do

sequenciamento identificou *Callinectes sapidus* com 100% de similaridade, mostrando também que o primer teve mais afinidade pela lula, mesmo esse DNA estando em menor quantidade.

A identificação dessa espécie de polvo em produtos comercializados em Santa Catarina e a ausência da mesma em registros de desembarque pesqueiro e normativas de período de defeso, aponta a necessidade de estudos e fiscalização, visto que uma espécie pode estar sendo retirada do mar sem que haja algum controle. A pesca predatória tem sido umas das principais causas de extinção de espécies e estoque pesqueiros sobreexplorados (MELO; BARROS, 2006).

4.2 ANÁLISE DOS RÓTULOS

A Instrução Normativa Nº 22, de 24 de Novembro de 2005, apresenta como informações obrigatórias nos rótulos das embalagens de produtos de origem animal as seguintes informações: denominação (nome); lista de ingredientes; conteúdos líquidos; identificação da origem (nome ou razão social e endereço do estabelecimento, carimbo oficial da Inspeção Federal e CNPJ); conservação do produto; marca comercial do produto; identificação do lote; data de fabricação; e prazo de validade.

Todas as embalagens possuíam as informações obrigatórias previstas pela normativa. O item 2 (lista de ingredientes) não está presente em nenhum rótulo, pois a listagem de ingredientes não é necessária em caso de produtos de origem animal com apenas um ingrediente, que é o caso dos camarões.

Segundo o Art.14, Inciso I da Portaria Nº 457, de 10 de Setembro de 2010, a identificação das espécies deve ser composta do nome científico da espécie e da sua forma de apresentação, como congelado, descascado, cozido, entre outros. O nome comum da espécie pode ser empregado em substituição ao termo "camarão", ou seja, o nome comum não é obrigatório, mas caso seja utilizado, esse deve ter referências em literatura técnica.

Os rótulos da **empresa A** não continham nome científico da espécie, apenas o nome popular, como mostra o Quadro 3, estando fora das normas prevista por Lei. A bandeja **A1** estava identificada como camarão sete-barbas, nome este que representa popularmente a espécie *Xiphopenaeus kroyeri* e é referenciado em diversos artigos científicos (RODRIGUES et al., 2018) (SEVERINO-RODRIGUES et al., 2018). Já a bandeja **A2**, estava identificada como camarão rio grande, nomenclatura que não foi associada com nenhuma espécie na literatura técnica. Essa bandeja está desrespeitando duas normas, não apresentando o nome científico e o nome comum não possui referências.

Quadro 3 – Quadro apresentando as nomenclaturas popular e científicas encontradas nas bandejas e suas respectivas empresas.

Empresa	Bandeja	Nome Popular	Nome Científico
Empresa A	A1	Sete-barbas	-
Empresa A	A2	Rio grande	-
Empresa B	B1	Camarão cinza	<i>Litopenaeus vannamei</i>
Empresa B	B2	Camarão rosa	<i>Farfantepenaeus subtilis</i>
Empresa C	C1	Vannamei	-

Fonte: Elaborada pela autora.

Muitas vezes a identificação incorreta das espécies não é intencional. A utilização exata dos nomes tem sido uma tarefa difícil devido a falta de denominação específica e, principalmente, com o aparecimento espécies exóticas (ARMANI et al., 2015).

A **empresa B** apresentou rótulos com nome popular e científico, como mostra o Quadro 3. A bandeja **B1** estava identificada como camarão cinza e nome científico *Litopenaeus vannamei*. O nome popular camarão cinza é associado na literatura técnica a espécie *Litopenaeus vannamei* (SANTOS; MENDES, 2007; SILVA et al., 2017). A bandeja **B2** estava identificada como camarão rosa e nome científico *Farfantepenaeus subtilis*. Como já citado nesse trabalho, o nome popular camarão rosa em Santa Catarina corresponde a 2 (duas) espécies, *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis*. A espécie *Farfantepenaeus subtilis* também é conhecida como camarão rosa, porém essa espécie é do Norte do país (DIAS-NETO; DIAS, 2015).

Segundo dados divulgados pela **empresa B**, suas capturas são em estoques pesqueiros de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, portando, o nome científico presente no rótulo da bandeja **B2** pode estar empregado de maneira errônea ou realmente esta espécie pode ser encontrada no Sul do Brasil, porém não foram encontrados registros oficiais.

O rótulo da **empresa C** apresentou como identificação o nome vannamei e não possuía nome científico (Quadro 3). Não fica claro se a empresa tenta se referir a espécie *Litopenaeus vannamei*, o que pode confundir o consumidor na hora da compra do produto.

A má identificação dos rótulos prejudica diretamente os consumidores, visto que esses podem estar sendo ludibriados, intencionalmente ou não, pelas empresas que comercializam o produto. Independentemente da substituição ser intencional ou não, os danos serão os mesmos. Além da questão econômica, a rotulagem incorreta dos produtos pode causar problemas de saúde quando espécies tóxicas são comercializadas com outros nomes (ARMANI et al., 2015).

4.3 ANÁLISE DOS RÓTULOS X ANÁLISES MOLECULARES

Foi possível identificar geneticamente camarões das duas bandejas da **empresa B**. Em relação a bandeja **B1**, a identificação molecular corroborou com a encontrada no rótulo da empresa, como mostra a Tabela 2. As nomenclaturas *Litopenaeus vannamei* e *Penaeus vannamei*, são sinônimas (National Center for Biotechnology Information, 2019). O camarão *Litopenaeus vannamei* é natural da costa do Pacífico e é conhecido popularmente por camarão-branco-do-pacífico, camarão-cinza ou camarão-cinzento. Essa espécie não possui distribuição geográfica no Brasil e sua introdução no país se deu através da carcinicultura. Entretanto, já foi relatada a ocorrência dessa espécie no litoral brasileiro. (NETO, 2011) (Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul, 2004).

Como as bandejas desse estudo foram compradas em supermercados da cidade de Florianópolis - SC, não há como ter certeza se esses camarões são provenientes de pesca extrativista ou de tanques. É importante que haja um estudo com coleta própria, a fim de analisar a presença dessa espécie em Santa Catarina. O possível aparecimento dessa espécie no Estado, indica a presença de uma espécie exótica. Espécies exóticas são aquelas que foram introduzidas em outro habitat, que não o seu natural, adaptaram-se e conseguiram se reproduzir, gerando uma nova população. Uma das principais causas da perda da biodiversidade é a presença de espécies exóticas que, por não terem predadores, podem levar outras espécies a extinção. No Brasil, as espécies exóticas são responsáveis por 39% das extinções (SAMPALIO; SCHMIDT, 2013) (MMA, 2016) (MMA, 2009).

Tabela 2 – Comparação entre as nomenclaturas encontradas nos rótulos das empresas com as espécies identificadas moleculamente

Bandeja	Identificação Rótulo	Identificação Molecular
B1	<i>Litopenaeus vannamei</i>	<i>Penaeus vannamei</i>
B2	<i>Farfantepenaeus subtilis</i>	<i>Artemesia longnaris</i>

Fonte: Elaborado pela autora

Leão et al. (2011) identificou a presença da espécie *Litopenaeus vannamei* em 5 (cinco) estados do Nordeste do Brasil, apresentando alto risco de invasão. A espécie foi descrita como provável transmissora da Síndrome da Necrose Idiopática Muscular (NIM), que representa graves risco para os crustáceos nativos, e possível portadora do vírus da mancha branca.

Desta forma, fica clara a necessidade de estudos no litoral de Santa Catarina a fim de mensurar a atual situação dos camarões *Litopenaeus vannamei* no estado, visto que esses podem causar problemas futuros nos estoques pesqueiros de camarões e

outros crustáceos.

Já na bandeja **B2**, o nome encontrado no rótulo não corresponde a espécie identificada geneticamente. A identificação molecular mostrou a presença da espécie *Artemesia longinaris*, como mostra a Tabela 2. No Brasil, os camarões *Artemesia longinaris* estão distribuídos nos seguintes estados: Rio de Janeiro, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Essa espécie prefere águas mais frias e concentra mais de 77% da sua biomassa no Rio Grande do Sul e é conhecida popularmente como camarão-barbaruça (DIAS-NETO; DIAS, 2015). Portanto, ambos os nomes indicados no rótulo da bandeja **B2** (camarão rosa e *Farfantepenaeus subtilis*) estão incorretos e apresentam informações erradas para os consumidores.

A pesca de *Artemesia longinaris* iniciou como uma alternativa para suprir a demanda do mercado, devido a um aumento nas frotas de pescas e a diminuição nas toneladas capturadas dos camarões tradicionalmente pescados como *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Farfantepenaeus paulensis*, *Litopenaeus schmitti* e *Xiphopenaeus kroyeri* (COSTA et al., 2005). A razão para o início da pesca de *Artemesia longinaris* aponta para uma queda nos estoques pesqueiros, que pode ter ocorrido devido a medidas de conservação brandas e/ou falha na fiscalização do período de defeso.

A troca da nomenclatura de camarão-barbaruça por camarão-rosa no rótulo da **empresa B** pode ser intencional, devido a falta de camarão-rosa nos estoques pesqueiros, ou não intencional, devido à semelhança morfológica entre as espécies. De qualquer forma, a substituição do nome da espécie caracteriza fraude alimentícia. A fiscalização se faz necessária, pois a substituição do nome pode estar relacionada com a troca de uma espécie de alto valor comercial, por uma de menor valor, mas também pode estar empregada para comercializar espécies capturadas ilegalmente (ARMANI et al., 2015).

Di Muri et al. (2018) mostraram que os rótulos de pescados europeus também não estão de acordo com a Lei. Das amostras utilizadas no estudo, 18% não apresentavam rótulos e 77% não continham o nome científico da espécie, informação essa que também é prevista por Lei nos países Europeus. Um dos problemas apontado pelo estudo em consequência a má rotulagem dos pescados, principalmente ao uso errôneo do nome das espécies, é a má informação para a população em relação aos estoques pesqueiros, podendo indicar um falso senso de disponibilidade das espécies. Essa informação equivocada vai contra as medidas de conservação tomadas pelos governos e divulgadas para a população.

Esse problema pode estar ocorrendo em Santa Catarina, visto que a bandeja **B2** apresentou em seu rótulo a identificação camarão-rosa, espécie essa que está em condição de sobreexploração no Estado, porém sua identificação molecular não

corroborou com a nomenclatura encontrada no rótulo. Portanto, além de estar levando outra espécie pra casa, a população de Santa Catarina pode não estar sabendo da real situação dos estoques pesqueiros.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A não amplificação de diversas amostra de camarão neste estudo, mesmo após diversos testes, nos leva a crer que o par de *primers* universal de invertebrados LCO1490 e HCO2198 não é eficiente na identificação genética de espécies de camarões. As alternativas propostas para esse problema são, o desenho de primers mini-barcodes para a identificação molecular dessas espécies ou a associação dos *primers* Folmer com outros *primers* para invertebrados já disponíveis na literatura técnica.

Dos rótulos analisados neste estudo, 60% não seguiam as normas previstas pelas instruções normativas. Os problemas de rotulagem em pescados parecem estar presente em diversos países, causando danos aos consumidores e ao meio ambiente. A detecção de fraude alimentícia em uma bandeja deste estudo, indica ainda mais a necessidade de fiscalização dessas rotulagens.

A má gestão dos estoques pesqueiros juntamente com a inapropriada informação para a população, pode acarretar na extinção de algumas espécies. A genética da conservação é um dos procedimentos biotecnológicos utilizados para amenizar os impactos antrópicos causados ao meio ambiente, atuando no monitoramento e diagnóstico de processos genéticos e ecológicos ligados à extinção e pode auxiliar na resolução de problemas futuros.

REFERÊNCIAS

- ALAM, M.; ANDRIYONO, S.; EUNUS, A.; KIM, H. The molecular identification and phylogenetic reconstruction of palaemonid and penaeid shrimp from the southern part of bangladesh. In: IOP PUBLISHING. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. [S.l.], 2019. v. 236, n. 1, p. 012037.
- ALJANABI, S. M.; MARTINEZ, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 22, p. 4692–4693, 1997. ISSN 13624962. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/25.22.4692>>.
- ARMANI, A.; GUARDONE, L.; La Castellana, R.; GIANFALDONI, D.; GUIDI, A.; CASTIGLIEGO, L. DNA barcoding reveals commercial and health issues in ethnic seafood sold on the Italian market. **Food Control**, Elsevier Ltd, v. 55, p. 206–214, 2015. ISSN 09567135. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.030>>.
- Banco Reagional de Desenvolvimento do Extremo Sul. Cultivo de Camarão em Santa Catarina: panorama geral, reprodução e larvicultura. 2004.
- BILGIN, R.; UTKAN, M. A.; KALKAN, E.; KARHAN, S.; BEKBOLET, M. DNA barcoding of twelve shrimp species (Crustacea: Decapoda) from Turkish seas reveals cryptic diversity. **Mediterranean Marine Science**, v. 16, n. 1, p. 36–45, 2015. ISSN 17916763.
- BORGHESI, R.; HISANO, H.; SUCASAS, L. D. A.; OETTERER, M. et al. Influencia da nutrição sobre a qualidade do pescado: especial referência aos ácidos graxos. **Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)**, Corumbá: Embrapa Pantanal, 2013., 2013.
- CÂMARA, M. C. C.; MARINHO, C. L. C.; GUILAM, M. C.; BRAGA, A. M. C. B. A produção acadêmica sobre a rotulagem de alimentos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 23, n. 1, p. 52–58, jan 2008. ISSN 1020-4989. Disponível em: <http://www.scielo.org/pdf/rpsp/v23n1/a07v23n1http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892008000100007&lng=pt&nrm>.
- CASSOL, S. Identificação Molecular por DNA Barcoding de Espécies Comercializadas em Casquinhas de Siri no Estado de Santa Catarina. 2018.
- COSTA, F.; DEWAARD, J.; BOUTILLIER, J.; RATNASINGHAM, S.; DOOH, R.; HAJIBABAEI, M.; HEBERT, P. Biological identifications through dna barcodes: The case of the crustacea. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 64, p. 272–295, 02 2007.
- COSTA, F. O.; DEWAARD, J. R.; BOUTILLIER, J.; RATNASINGHAM, S.; DOOH, R. T.; HAJIBABAEI, M.; HEBERT, P. D. Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 64, n. 2, p. 272–295, 2007. ISSN 0706-652X. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/f07-008>>.

COSTA, R. C.; FRANSOZO, A.; CASTILHO, A. L.; FREIRE, F. A. Annual, seasonal and spatial variation of abundance of the shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda: Penaeoidea) in south-eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 85, n. 1, p. 107–112, 2005. ISSN 00253154.

COSTA, R. C. da;; FRANSOZO, A.; MELO, G. A. S.; MORAIS, F. A. de;. Chave Ilustrada para Identificação dos Camarões Dendrobranchiata do Litoral Norte do Estado de São Paulo, Brasil. 2003.

Di Muri, C.; VANDAMME, S. G.; PEACE, C.; BARNES, W.; MARIANI, S. Biodiversity defrosted: unveiling non-compliant fish trade in ethnic food stores. **Biological Conservation**, Elsevier, v. 217, n. November 2017, p. 419–427, 2018. ISSN 00063207. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.11.028>>.

DIAS-NETO, J.; DIAS, J. d. F. O. **O Uso da Biodiversidade Aquática no Brasil: uma avaliação com foco na pesca**. [S.l.: s.n.], 2015. 288 p. ISBN 9788573003796.

EVANS, N.; PAULAY, G. DNA Barcoding Methods for Invertebrates. In: KRESS, W. J.; ERICKSON, D. L. (Ed.). **DNA Barcodes Methods and Protocols**. [S.l.]: Humana Press, 2012. p. 32.

FILHO, A. G.; RONÇANI, L. D. CARCINICULTURA EM SANTA CATARINA: DA EUFORIA DESREGULADA À CRISE GENERALIZADA. p. 1–18, 2004.

FOLMER, O.; BLACK, M. B.; VRIJENHOEK, R. C. DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. n. November, 1994.

Food and Agriculture Organization. **World Fisheries and Aquaculture Sofia Report**. [s.n.], 2018. 1–230 p. ISBN 9789251072257. Disponível em: <www.fao.org/publications>.

FORAN, D. R.; FISCHER, A. B.; STOLOFF, M. E. A Comparison of Mitochondrial DNA Amplification Strategies for Species Identification. **Journal of Forensic Investigation**, v. 3, n. 2, 2015.

GALIMBERTI, A.; MATTIA, F. D.; LOSA, A.; BRUNI, I.; FEDERICI, S.; CASIRAGHI, M.; MARTELLOS, S.; LABRA, M. Dna barcoding as a new tool for food traceability. **Food Research International**, Elsevier, v. 50, n. 1, p. 55–63, 2013.

GELLER, J.; MEYER, C.; PARKER, M. Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. p. 851–861, 2013.

GONÇALVES, P. F. M. O potencial do DNA barcode na identificação de espécies de aves neotropicais. 2009.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313–321, 2003. ISSN 0962-8452. Disponível em: <<http://rspb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rspb.2002.2218>>.

- HILSDORF, A. R.; MARQUES, D. et al. Genética e conservação de estoques pesqueiros de águas continentais no Brasil: situação atual e perspectivas. **Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)**, Corumbá: Embrapa Pantanal. 2006., 2006.
- HOUDT, J. K. J. van; BREMAN, F. C.; VIRGILIO, M.; MEYER, M. de. Recovering full DNA barcodes from natural history collections of Tephritid fruitflies (Tephritidae, Diptera) using mini barcodes. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 459–465, 2010. ISSN 1755098X.
- IBÁÑEZ, C. M.; CHONG, J. V. Feeding ecology of *Enteroctopus megalocyathus* (Cephalopoda: Octopodidae) in southern Chile. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 88, n. 4, p. 793–798, 2008. ISSN 00253154.
- LEÃO, T. C. C.; ALMEIDA, W. R. D.; DECHOUM, M. d. S.; ZILLER, S. R. **Espécies Exóticas Invasoras no Nordeste do Brasil**. [S.l.: s.n.], 2011. ISBN 9788564352001.
- LI, J.; CUI, Y.; JIANG, J.; YU, J. Applying DNA barcoding to conservation practice : a case study of endangered birds and large mammals in China. **Biodiversity and Conservation**, Springer Netherlands, v. 26, n. 3, p. 653–668, 2017. ISSN 1572-9710.
- MARQUES, C. G. Relações Genéticas em Espécies de Camarões Peneídeos (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) de Ocorrência no Litoral Brasileiro. 2015.
- MELO, A. S. S. d. A.; BARROS, A. D. de. Pesca predatória da lagosta no Brasil: um modelo insustentável. 2006.
- MEUSNIER, I.; SINGER, G. A. C.; LANDRY, J.-f.; HICKEY, D. A.; HEBERT, P. D. N.; HAJIBABAEI, M. A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. v. 4, p. 4–7, 2008.
- MIODUCHOWSKA, M.; CZYZ, M. J.; GOŁDYN, B.; KUR, J.; SELL, J. Instances of erroneous DNA barcoding of metazoan invertebrates: Are universal *cox1* gene primers too “universal”? **PLoS ONE**, v. 13, n. 6, p. 1–16, 2018. ISSN 19326203.
- MMA, M. d. M. A. **Informe sobre as Espécies Exóticas Invasoras Marinhas no Brasil**. [S.l.: s.n.], 2009. ISBN 9788577381203.
- MMA, M. d. M. A. **Espécies Exóticas Invasoras de Águas Continentais no Brasil**. [S.l.: s.n.], 2016. ISBN 9788577381760.
- National Center for Biotechnology Information. ***Penaeus vannamei***. 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=6689>>.
- NETO, J. D. Pesca no Brasil e seus aspectos institucionais-um registro para o futuro. **Revista CEPSUL-Biodiversidade e Conservação Marinha**, v. 1, n. 1, p. 66–80, 2010.
- NETO, J. D. **Proposta de Plano Camarões Marinhos no Brasil**. [S.l.: s.n.], 2011. ISBN 9788573003444.
- OLIVEIRA, R. V. ANÁLISE DA DIVERSIDADE MORFOGENÉTICA TEMPORAL DE *Xiphopenaeus kroyeri* (DECAPODA: PENAIDAE). **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2015. ISSN 1098-6596.

PAVAN, M. G.; MONTEIRO, F. A. Técnicas moleculares aplicadas à sistemática e ao controle vetorial. **Vetores da doença de chagas no Brasil**, p. 241–260, 2014. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/mw58j/pdf/galvao-9788598203096-13.pdf>>.

PINHEIRO, M.; BOOS, H. **Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil Avaliação 2010 - 2014**. [s.n.], 2016. 9–72 p. ISBN 9788593003004. Disponível em: <<https://docgo.org/acero-a36-oRUNNMf>>.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. Biologia da conservação. In: **Biologia da conservação**. [S.l.: s.n.], 2006.

RADULOVICI, A. E.; SAINTE-MARIE, B.; DUFRESNE, F. Dna barcoding of marine crustaceans from the estuary and gulf of st lawrence: a regional-scale approach. **Molecular ecology resources**, Wiley Online Library, v. 9, p. 181–187, 2009.

RODRIGUES, E. S.; PITA, J. B.; LOPES, R. da G.; COELHO, J. A. P.; PUZZI, A. Aspectos biológicos e pesqueiros do camarão-sete-barbas (*xiphopenaeus kroyeri*) capturado pela pesca artesanal no litoral do estado de são paulo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 19, n. único, p. 67–81, 2018.

SAMPAIO, A. B.; SCHMIDT, I. B. Espécies Exóticas Invasoras em Unidades de Conservação Federais do Brasil. p. 32–49, 2013.

SANTOS, B. L. da S.; MENDES, P. de P. Análise estatística das variáveis de cultivo do camarão-cinza *litopenaeus vannamei* (boone, 1931). **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 2, n. 1, p. 128–142, 2007.

SARTORI, A. G. de O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no brasil. **Segurança alimentar e nutricional**, v. 19, n. 2, p. 83–93, 2012.

SCARANTO, B. M. S. Caracterização genética do jundiá (*Rhamdia*) por meio do DNA barcode e marcadores microssatélites. 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/177876>>.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; GUERRA, D.; GRAÇA-LOPES, R. Carcinofauna acompanhante da pesca dirigida ao camarão-sete-barbas (*xiphopenaeus kroyeri*) desembarcada na praia do perequê, estado de são paulo, brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 28, n. 1, p. 33–48, 2018.

SHARMA, P.; KOBAYASHI, T. Are “universal” dna primers really universal? **Journal of Applied Genetics**, v. 55, n. 4, p. 485–496, 2014. ISSN 12341983.

SILVA, N.; BIAZIO, G. de; SILVA, N. da; NEPOMUCENO, A.; CAETANO, A.; IANELLA, P. Comparação de diferentes métodos de extração do dna genômico de músculo de camarão-cinza (*litopenaeus vannamei*). **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017., 2017.

SPIELMANN, G.; GERDES, L.; MILLER, A.; VERHAELLEN, K.; SCHLICHT, C.; SCHALCH, B.; HASZPRUNAR, G.; BUSCH, U.; HUBER, I. Molecular biological species identification of animal samples from asian buffets. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, Springer, v. 13, n. 3, p. 271–278, 2018.

UNIVALI, U. d. V. d. I. Boletim Estatístico da Pesca Industrial de Santa Catarina - Ano 2012. **Programa de Monitoramento e Avaliação da Atividade Pesqueira Industrial no Sudeste e Sul do Brasil**, v. 13, n. 1, p. 97, 213. ISSN 2237-3268.

W, J. K.; GARCÍA-ROBLEDO, C.; URIARTE, M.; ERICKSON, D. L. DNA barcodes for ecology , evolution , and conservation. n. November, 2014.