



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO MARAJÓ BREVES
FACULDADE DE CIÊNCIAS NATURAIS

ANDRESSA SANTOS GONÇALVES

O uso do DNA *Barcoding* para análise de substituição do peixe *Brachyplatystoma filamentosum*, PIMELODIDAE (Filhote) comercializadas *In Natura* no município de Breves, Ilha do Marajó.

BREVES-PA
2017

ANDRESSA SANTOS GONÇALVES

O uso do DNA *Barcoding* para análise de substituição do peixe *Brachyplatystoma filamentosum*, PIMELODIDAE (Filhote) comercializadas *In Natura* no município de Breves, Ilha do Marajó.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Naturais da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciada em Ciências Naturais.

Orientador: Dr. João Bráullio de Luna Sales.

BREVES
2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

- G635u Gonçalves, Andressa Santos.
 O uso do DNA Barcoding para análise de substituição do peixe
 Brachyplatystoma filamentosum, PIMELODIDAE (Filhote)
 comercializadas In Natura no município de Breves, Ilha do Marajó
 / Andressa Santos Gonçalves, . — 2017.
 36 f. : il. color.
- Orientador(a): Prof. Dr. João Bráullio de Luna Sales
 Trabalho de Conclusão (Graduação) - Universidade Federal do Pará,
 Campus Universitário de Breves, Faculdade de Ciências Naturais, Breves,
 2017.
1. DNA barcoding. 2. Filhote. 3. *Brachyplatystoma filamentosum*. I.
 Título.

CDD 571.17

ANDRESSA SANTOS GONÇALVES

O uso do DNA *Barcoding* para análise de substituição do peixe *Brachyplatystoma filamentosum*, PIMELODIDAE (Filhote) comercializadas *In Natura* no município de Breves, Ilha do Marajó.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Naturais da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciada em Ciências Naturais, aprovada com o conceito__.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. João Bráullio de Luna Sales
FACIN – CUMB, UFPA (Orientador).

Dra. Gleiciane Leal Pinheiro
FACIN-CUMB, UFPA (Titular).

Msc. Tiago Magalhães Freitas
CUMB, UFPA (Titular).

Breves (PA), 10 de novembro de 2017.

AGRADECIMENTOS

Assim como muitas pessoas já tiveram esse momento, eu serei mais uma que tentará expressar a gratidão que guardo no peito por todos que de alguma forma contribuíram para me tornar quem sou e conquistar mais essa vitória na minha vida. Mesmo que sendo difícil irei ressaltar alguns autores presente nesse percurso. Poderia muito bem começar agradecendo a Deus, só que isso eu faço desde que aprendi a rezar, sei que nunca é demais, mas mesmo que entre as linhas meus agradecimentos sempre serão expressos a Ele.

Primeiramente quero agradecer a Universidade Federal do Pará, a Faculdade de Ciências Naturais por todo apoio que a mim e aos meus colegas foram direcionados durante essa caminhada e também ao laboratório de filogenômica do Campus de Bragança, pela grandiosa colaboração para este trabalho.

Agradeço a todos os professores que já tive na vida e em especial para o meu professor e orientador Dr. João Bráullio de Luna Sales, que desde a primeira disciplina na nossa turma depositou em mim, uma confiança que nem eu mesma tinha (se não tivesse acontecido esse convite talvez estivesse até agora sem saber o que fazer e sem conhecer tudo que eu aprendi nesse trabalho) e não mediu esforços para me ajudar e os agradecimentos não vão apenas por isso, mas pelo fato dele ter suportado as minhas infinitas perguntas sobre tudo que não conseguia encontrar respostas convincentes.

Agradeço ao Senhor Raul que mesmo com o seu trabalho exaustivo no dia a dia sempre estava com um enorme sorriso no rosto me disponibilizando as amostras para que esse trabalho pudesse ser realizado.

Agradeço a minha família, que me carregou nos braços apesar de todas as dificuldades que apareceram nesse percurso, sem duvidas também são merecedores dessa vitória e agradeço aos poucos amigos que tenho por me distraírem sempre que não suportava mais estudar sobre esse tema, mas acabava sendo uma tentativa frustrada.

Por ultimo, e não menos importante, agradeço aos meus amigos Cleiane Gomes, Sirley Farias, Rainara Pereira e Ingleds Almeida (essa já conheço há muitos anos), que conquistei dentro da universidade, poderia usar o termo colegas, mas eu os considero como amigos, pois eles sempre estavam na mesma equipe com meu gênio insuportável.

*“Águas são muitas; infindas. E em tal maneira
é graciosa que, querendo-a aproveitar, dar-se-
á nela tudo, por bem das águas que tem”.*

Pero Vaz de Caminha

RESUMO

O Brasil é o país com maior potencial hídrico do planeta, apresentando cerca de 13,7% da água doce do mundo. A economia da região amazônica, especialmente das comunidades ribeirinhas, depende em grande parte dos recursos do rio, o controle da pesca nessa região acaba sendo escasso. O código de barras de DNA (DNA *barcoding*) mostra-se como um aliado nessa tarefa, pois é uma técnica que utiliza sequências curtas de DNA, como diagnóstico molecular para a identificação ao nível de espécies e faz com que estas informações sejam obtidas de forma rápida e barata. Este estudo pretende avaliar com o uso do DNA *barcoding* a possível substituição de peixes comercializados *in natura* sob o nome popular de filhote (*Brachyplatystoma filamentosum*) e por quais espécies estão sendo substituídos, apontando suas possíveis causas. Foram coletadas 12 amostras de *B. filamentosum*, provenientes da feira municipal de peixe de Breves, Ilha do Marajó e 12 amostras provenientes da cidade de Mocajuba, região do Rio Tocantins, totalizando 24 amostras. O DNA genômico total foi extraído com o Kit de extração DNA Wizard Genomics (Promega Inc), os DNA foram migrados em eletroforese submarina em gel de agarose low melt de 1% para quantificação da qualidade dos mesmos. A partir da extração, foram realizadas as amplificações, através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) do gene Citocromo Oxidase subunidade I – COI. Os resultados obtidos apontaram uma baixa taxa de substituição do peixe *B. filamentosum*, não indicando caráter de substituição intencional, mas faz-se necessário um monitoramento do pescado na região amazônica e a implementação de Leis para o pescado, mas em especial ao filhote, para ele não seja sobre explorado.

Palavras-chave: Filhote, *Brachyplatystoma filamentosum*, DNA *barcoding*.

ABSTRACT

Hydrological potential of Brazil is one of the largest of the planet, presenting about 13.7% of the world's fresh water. The economy of the Amazon region, especially of the riverside communities, strongly depends on the resources from the rivers, mainly of the fisheries. However, giving the river area of the region, the control of the fishing in this region ends up being scarce. DNA barcoding is an ally in this task because it is a technique that uses short DNA sequences as molecular diagnostics for identification at the species level and this information are obtained in a very fast and cheap way. This study intends to evaluate the possible substitution of commercially fresh fish popular named of "filhote" (*Brachyplatystoma filamentosum*) with the use of DNA barcoding, and for which species are being substituted, pointing out their possible causes. 12 samples of *B. filamentosum* were collected from Breves fish market, Marajó Island and 12 samples from the city of Mocajuba from Tocantins River, totaling 24 samples. Total genomic DNA was extracted with the Wizard Genomics DNA extraction kit (Promega Inc.) and were migrated in 1% low melt agarose gel underwater electrophoresis to quantify their quality. From the extraction, amplifications were performed through the Polymerase Chain Reaction (PCR) of the Cytochrome Oxidase subunit I - COI gene. The results obtained indicated a low replacement rate of the *B. filamentosum* fish, not indicating an intentional substitution character, but it is necessary to monitor the fish in the Amazon region and the implementation of Laws for the fish, but especially the that both he are not over-exploited.

Keywords: Filhote, *Brachyplatystoma filamentosum*, DNA barcoding.

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Mostra a captura do pescado em toneladas pelo Brasil no ano de 2005 a 2014.....	10
Tabela 1 -	As informações referentes ao ano de 2007.....	17

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Mapa demonstrando os locais de onde as amostras de Filhote (<i>B. filamentosum</i>) do presente estudo são provenientes.....	21
Figura 2 -	Árvore de Máxima Verossimilhança das amostras utilizadas no presente estudo.....	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	A PESCA NA ECONOMIA BRASILEIRA.....	10
1.2	PESCA NA REGIÃO AMAZÔNICA.....	11
1.3	DIFICULDADES ENCONTRADAS PARA O MONITORAMENTO DA PESCA.....	12
1.4	IMPORTÂNCIAS DA ROTULAGEM.....	13
1.5	PROBLEMAS OCASIONADOS PELA ROTULAGEM INADEQUADA.....	14
1.6	Brachyplatystoma filamentosum LICHTENSTEIN, 1819.....	15
1.7	FERRAMENTAS MOLECULARES E SUA APLICABILIDADE NO CONTROLE DE ROTULAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE FRAUDES COMERCIAIS.....	18
2	JUSTIFICATIVA	19
3	OBJETIVOS	20
3.1	OBJETIVO GERAL.....	20
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
4	MATERIAIS E METODOS	20
4.1	AMOSTRAGEM.....	20
4.2	EXTRAÇÃO DE DNA, PCR'S E SEQUÊNCIAMENTO.....	21
4.3	ALINHAMENTOS DE DNA E ANÁLISES MOLECULARES.....	22
5	RESULTADOS	22
6	DISCUSSÃO	24
7	CONCLUSÃO	26
	REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

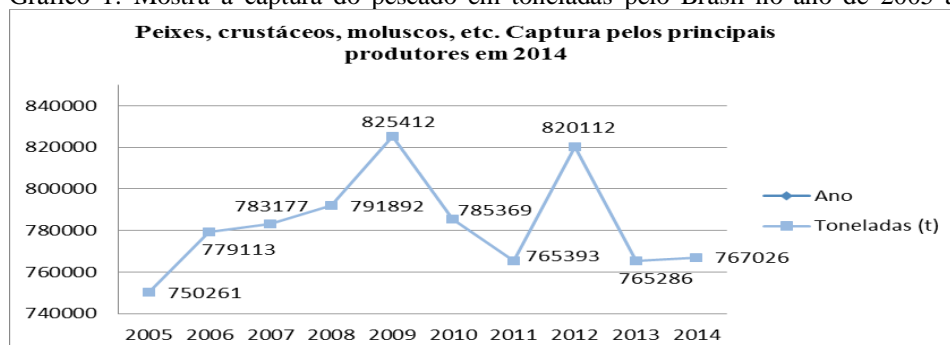
1.1 A PESCA NA ECONOMIA BRASILEIRA

Tendo em vista a significativa relevância no cenário econômico, social e ambiental, a atividade pesqueira no Brasil é de extrema importância e por apresentar cerca de 13,7% da água doce do mundo é considerado o país com maior potencial hídrico do planeta (Pinheiro *et al.*, 2014; Ministério do Meio Ambiente, 2017). Entretanto, mesmo com uma representatividade econômica elevada, nos anos de 1998-2007 a atividade pesqueira registrou um declínio no número de captura (IBAMA, 2007; IBGE, 2014), mas a partir de 2007 a produção do pescado começou a ter um aumento e em 2009 essa produção atingiu 1.240.813 t (BOLETIM ESTATÍSTICO DO IBAMA/MMA, 2007).

A Região Norte, que em 2013 ficou à frente apenas da Região Sudeste, despontou na liderança da participação entre as grandes regiões e esse crescimento foi impulsionado, sobretudo pelo Estado de Rondônia, que subiu para a primeira posição do *ranking* das Unidades da Federação, com a despesca de 75,02 mil toneladas de peixes. O Estado do Mato Grosso, por sua vez, caiu para a segunda posição, com a despesca de 60,95 mil toneladas (IBGE, 2014). Já em 2014, a produção total da piscicultura brasileira foi de 474,33 mil toneladas em 2014, onde representou um aumento de 20,9% em relação à registrada no ano anterior (IBGE, 2014).

Dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) mostram que o Brasil está na lista dos 57 principais produtores de pescado no mundo, se analisar na lista dos “Peixes, crustáceos, moluscos, etc. Captura pelos principais produtores em 2014” e fazer um gráfico adicionando apenas os dados do Brasil dos anos de 2005 a 2014. Obteve-se o gráfico 1 da seguinte forma:

Gráfico 1: Mostra a captura do pescado em toneladas pelo Brasil no ano de 2005 a 2014.



Fonte: FAO 2014.

Podemos analisar que o Brasil no ano de 2012 teve um aumento considerável na captura em relação ao ano anterior, mas no ano seguinte ocorreu uma queda de 820.112 t para 765.286 t e ano com a maior captura de pescados foi o ano de 2009. No ano de 2014 o Brasil importou 1 558 567 t de pescado (FAO, 2014). No mundo 87,5% da produção pesqueira são destinados para o consumo humano, sendo que dessa porcentagem 39,95% é consumido fresco e 26,1% é consumido congelado (FAO, 2014).

1.2 PESCA NA REGIÃO AMAZÔNICA

A Amazônia abriga uma população humana diversificada distribuída em algumas grandes cidades e em milhares de comunidades quase isoladas. A economia local dessas regiões, especialmente das comunidades ribeirinhas, depende em grande parte dos recursos do rio, a pesca desempenha um papel importante na região como fonte de: alimento (algumas espécies de peixes são a principal proteína na dieta dos habitantes locais), emprego e para o desenvolvimento econômico (GRAM *et al.*, 2001; BATISTA & PETRERE, 2007; DÓREA, 2003; SANTOS & SANTOS, 2005). Estima-se que na Amazônia cerca de 130.000 pessoas estão empregadas na pesca ou em atividades relacionadas com o setor da pesca, onde a extração do peixe acaba sendo o principal motor para a economia local (GRAM *et al.*, 2001). Entretanto, a atividade pesqueira quando não está sendo corretamente regulamentada e controlada, pode ameaçar a biodiversidade ambiental, principalmente em regiões como o bioma Amazônico, ao qual, apresenta um equilíbrio extremamente delicado, pois a pesca extrativista continental na região, está em um processo expansivo e alguns recursos hidrobiológicos mostram sinais de exploração excessiva (QUEIROZ & SARDINHA, 1999).

A bacia amazônica possui a maior biodiversidade de peixes de água doce do mundo, com um número estimado de aproximadamente 5.000 espécies, sendo que 43% dos peixes pertencem à ordem Characiformes, 39% à ordem Siluriformes, 3% a ordem Gymnotiformes e o restante dividido entre 14 famílias de diferentes ordens (SANTOS & FERREIRA, 1999). As frotas pesqueiras sediadas no Ecossistema Amazônico exploram a sazonalidade da abundância do pescado nas: águas interiores, no estuário, na costa e no oceano, em diferentes períodos ao longo do ano, mantendo o fornecimento regular do pescado (Isaac & Barthem, 1995), basicamente essa exploração do pescado é feita pela população ribeirinha. Os juvenis de algumas espécies podem ser encontrados em estuários, enquanto os adultos sexualmente maduros no alto Amazonas, no Brasil, Colômbia e Peru, com isso indicando grande migração reprodutiva que pode chegar a 3500 Km. A calha do rio Amazonas serve como via de

dispersão natural das larvas e juvenis, o estuário serve como ambiente onde os adultos e subadultos encontram suas presas (RUFFINO, 2000). O desempenho da pesca extrativa marinha na região Norte apresentou um decréscimo de 15,8%; de uma produção de 85.603,0 t, em 2006, passou para 72.036,5 t, em 2007. O valor total estimado da produção foi de R\$ 288.486.280,00 (IBAMA, 2007). Mas acredita-se que a pesca na região amazônica poderá ter um enorme potencial econômico para as comunidades brasileiras locais se for aberta para os mercados internacionais (ARDURA *et al.*, 2010).

1.3 DIFICULDADES ENCONTRADAS PARA O MONITORAMENTO DA PESCA

O controle da pesca em um sistema de água doce, sendo este tão vasto e intrincado como a Amazônia que contém mais da metade da floresta tropical e é o principal ecossistema onde as populações humanas geralmente são isoladas ao longo dos afluentes (VIANA *et al.*, 2004; BEETS *et al.*, 2008). Muitas vezes estão a centenas de quilômetros de distância uma das outras e sem qualquer comunicação a não ser o transporte fluvial, o que acaba representando um desafio muito grande para fiscalização de captura e comércio das espécies de peixes de grande importância comercial, que muitas vezes encontram-se em risco de sobre pesca devido a sua procura em demasia, problema este alertado por QUEIROZ & SARDINHA (1999) e Malhi *et al.* (2008). Na prática, a regulamentação da pesca restritiva esta limitada a algumas áreas declaradas de reservas naturais, como por exemplo, a captura limitada do pirarucu (*Arapaima gigas*) em Mamirauá (VIANA *et al.*, 2004).

Um dos problemas mais básicos para controle da pesca é a identificação correta das espécies de peixe comercializadas, em muitos casos é ainda mais comprometida devido o uso do nome vernácula das espécies de peixes (CAWTHORN *et al.*, 2011, CARVALHO *et al.*, 2017). As espécies de peixes amazônicos, assim como outras espécies ao redor do mundo, são comercializadas em feiras e supermercados com nomes vernaculares, podendo estes, variar entre as regiões ao longo de cidades, municípios, estados ou até mesmo na própria cidade. Em outros casos, o mesmo nome genérico como o pacu (*Mylossoma duriventre*), é aplicado em pelo menos sete espécies pertencentes a diferentes gêneros e famílias (ARDURA *et al.*, 2015).

Os erros de rotulagem podem ser causados de forma não intencional, como no caso de espécies de peixes que apresentam morfologia muito similar uns dos outros (podendo ser pertencentes há um mesmo gênero ou família); ou também, pode surgir devido ao fato de que diferentes espécies de peixes receberem o mesmo nome vernacular em uma mesma região, ou até mesmo, pelo fato de uma espécie receber diferentes nomes vernaculares em diferentes

regiões (BUCK, 2009; ARDURA *et al.*, 2010; HEYDEN *et al.*, 2009; CAWTHORN *et al.*, 2011; ARDURA *et al.*, 2015). Como é o caso de identificar sete espécies comercializadas sob o mesmo nome (acarás), mediante a essa situação surge uma questão importante, que em um futuro a nomenclatura científica venha a ser fundamental na venda e o monitoramento pode servir para individualizar a gestão da pesca, permitindo a utilização de registros de mercado para monitorar espécie-específicas de tendências no comércio e estimar a exploração de taxas sobre uma base por espécie, como o proposto para os tubarões (ABERCROMBIE *et al.*, 2005; ARDURA *et al.*, 2015).

A utilização de nomes vernaculares ou genéricos para agrupar várias espécies de peixes, não transmite ao consumidor nenhuma informação para evitar que eles façam compras mal informadas, com isso, ele pode acabar adquirindo espécies ameaçadas, por serem comercializadas com um nome exótico, e assim, acabam sendo enganados e prejudicando a conservação daquela espécie assegurada por lei (CAWTHORN *et al.*, 2011). As ambiguidades existentes na nomenclatura de espécies animais comercializados, indicam claramente a necessidade de padronização dos nomes utilizados em rotulagem, bem como a utilização do nome das espécies em Latim, fato este que aumentaria a identificação correta das espécies comercializadas, minimizando possíveis erros de rotulagem e fraudes comerciais (GERSON *et al.*, 2008). Mas a substituição também pode ser de forma intencional visando intensificar os lucros (BARBUTO *et al.*, 2009; HEYDEN *et al.*, 2009; GALAL-HALL *et al.*, 2014).

1.4 IMPORTÂNCIAS DA ROTULAGEM

A ausência de uma ferramenta para a identificação e autenticação de produtos comerciais de peixe, isto é, o simples quem é quem em mercados amazônicos, a quantificação dos valores reais de captura extrativista se torna impossível e as taxas de exploração não sendo estimado. A identificação das espécies é necessária para a exploração sustentável dos recursos de pesca, como tachar pode esconder a exploração de espécies ameaçadas (MARKO *et al.*, 2004).

A rotulagem do pescado ganhou recentemente uma atenção considerável, como um meio para fornecer tanto as informações específicas do produto, como reduzir a incerteza da qualidade, bem como a partir de um ponto de vista regulamentar (VERBEKE *et al.*, 2009; MAHER, 2001). É de fundamental importância, saber exatamente quais as espécies estão sendo comercializadas sob um determinado nome local e proporcionar uma ferramenta para a

autenticação de produtos de peixe com valor comercial que não podem ser identificadas morfológicamente, como fatias, pedaços salgados e outras variantes de marisco comerciais (ARDURA *et al.*, 2015).

Ferramentas para identificação de espécies de peixe são necessários para a abertura de mercados locais para os consumidores internacionais (WILSON & BEERS, 2001). A rastreabilidade genética utilizando o ácido desoxirribonucleico (DNA) está sendo cada vez mais empregados (BARBUTO *et al.*, 2010). Os papéis principais das informações de rótulos dos alimentos devem ser: informar os consumidores e para ajudar a vender os produtos. Essa informação transmitida pelos rótulos tem evoluído ao longo do tempo, tendo em vista que os objetivos se tornaram cada vez mais numerosos e complexos, sob a influência de vários grupos de pressão, tais como empresas de alimentos, grupos de varejo, autoridades públicas e organizações de consumidores (CHEFTEL, 2005). Para as etiquetas terem valor para os consumidores, os dados devem ser atendidos e entendido na primeira instância, ou seja, assim que leia, ele compreenda as informações. Estudos indicam que essa condição muitas vezes não é cumprida. (GRUNERT, 2005). Os consumidores indicam que eles enfrentam um grande grau de incerteza de qualidade na avaliação e compra de peixe fresco, apesar da imagem predominantemente saudável (VERBEKE *et al.*, 2006).

1.5 PROBLEMAS OCASIONADOS PELA ROTULAGEM INADEQUADA

A rotulagem inadequada de espécies de peixes pode se manifestar de várias formas, bem como em qualquer fase da cadeia de fornecimento da pesca (LOGAN, *et al.*, 2008). Com isso surgiu a preocupação, pois alguns comerciantes e revendedores podem usar deliberadamente a rotulagem inadequada como um meio para venda de peixes capturados ilegalmente em mercados legítimos, ou simplesmente substituir espécies de elevado valor comercial por outras de baixo valor, para enganar os consumidores com a finalidade de acumular maiores lucros (OGDEN, 2008). Isso acontece devido à carne de muitas espécies de peixes serem semelhantes em aparência, e textura, bem como pelo processo chamado de *finning* conhecido como filetagem o qual retira as características morfológicas de identificação visual das espécies de peixes entre o momento da captura e o tempo em que estes aparecem para venda, tornando relativamente fácil as espécies de elevado valor comercial sofrerem substituição, tanto de forma parcial como total, com espécies de valor comercial mais baixo (SMITH & SMITH, 1966; LOGAN *et al.*, 2008; CAWTHORN *et al.*, 2011). A origem do erro na identificação do pescado parece ser não intencional nas feiras de

peixe da Amazônia, pois causaria grandes prejuízos econômicos (ARDURA *et al.*, 2010).

No entanto, também deve ser notado que a falta de conhecimento ao nível do consumidor em relação ao pescado, abre oportunidades para varejistas desonestos etiquetarem mal os seus produtos, assim aumentando o ganho financeiro (CAWTHORN *et al.*, 2011). Em países como África do Sul, Grécia e União europeia é feita a utilização de nomes de grupo genéricos ou a utilização de nomes mais exóticos para aumentar o preço no mercado, onde esse ato não causa somente impacto na condição financeira do consumidor, mas também pode estar comprometendo a sua saúde. (CAWTHORN *et al.*, 2011; GALIMBERTI *et al.*, 2013). A substituição de algumas espécies de peixes na Grécia acaba ocasionando reações alérgicas nos consumidores, podendo algumas destas se tornar fatais (TRIANTAFYLLIDIS *et al.*, 2010).

A falta de rastreabilidade na cadeia de abastecimento de pesca também fornece uma oportunidade considerável para a rotulagem inadequada. Produtos de peixe, muitas vezes mudam de mãos várias vezes na rota dos navios de pesca até o prato do consumidor, tornando-se difícil identificar o elo da cadeia de abastecimento, onde a fraude ou a substituição ocorreu (THOMPSON *et al.*, 2005). No entanto, os motivos da rotulagem inadequada podem ser o fato de serem mal aplicadas, ou porque as penalizações em caso de fraudes comprovadas são pequenas em comparação com os lucros resultantes da negociação fraudulenta do pescado (BUCK, 2009). A comercialização de pescado rotulado de forma incorreta pode acarretar a substituição de espécies que possuem a pesca permitida, por espécies que estão em período de defeso ou até mesmo sob risco de extinção (JACQUET & PAULY, 2007) acarretando a perda de biodiversidade.

1.6 *Brachyplatystoma filamentosum* LICHTENSTEIN, 1819.

Dando início com BAYLEY & PETRERE (1989) ao qual dividem a ictiofauna da Amazônia em duas grandes categorias e dessas duas irei ressaltar os detalhes em especial apenas da primeira categoria, pois é nela que está presente a ordem da espécie tratada nesse referido trabalho. O primeiro grande grupo inclui as espécies que realizam migrações durante a seca entre o canal do rio, áreas alagadas e tributárias. Esse primeiro grupo é dividido em duas categorias peixes: os bagres migradores (*Siluriformes*) de longas distâncias e os peixes de escama. A segunda grande categoria é a de peixes sedentários.

Os peixes sem escamas (grandes bagres da ordem *Siluriformes*), principalmente da família Pimelodidae, formam um clado constituído por aproximadamente 300 espécies distribuídas nos rios na América do Sul e Central, ilhas do Caribe e sul do México (PINNA,

1998; LUNDBERG & LITTMANN, 2003; NELSON, 2006;). A família Pimelodidae (bagres de bigode longo) se caracteriza corpo liso (sem escamas); Aleta adiposa presente; Três pares de barbos – bigodes (sem barbos nasais); nadadeiras pélvicas e dorsais presentes ou ausentes; Aleta adiposa bem desenvolvida. Seu comprimento máximo de cerca de 2,8 m FL, atingido em *Brachyplatystoma filamentosum*. (NELSON, 2006). Aproximadamente, 95% da captura referem-se a cinco espécies desta família, desta porcentagem, quase 80% é representada pela captura de quatro espécies de um mesmo gênero: *Brachyplatystoma rousseauxi* (dourada) *Brachyplatystoma vaillantii* (Piramutaba), *Brachyplatystoma filamentosum* (filhote) e *Brachyplatystoma capapretum* (Piraíba escura ou filhote capapreta) (BARTHEM & GOULDING, 1997).

Entre as três espécies de grandes bagres do gênero *Brachyplatystoma* mais explorados comercialmente, apenas em torno da Piramutaba (*B. vaillantii*) é que se desenvolveu a indústria do pescado de água doce na Amazônia, sendo feita pela frota de pesca de arrasto (BATISTA *et al.*, 2004). Esse é um peixe de grande importância como item de exportação e é o alvo principal das pescarias, com 30,7% e 24,8% da produção total em 2001 e 2002, respectivamente (PINHEIRO & FRÉDOU, 2004), e em 1986, foi a terceira espécie mais exportada pelo Brasil (Revista CACEX, 1988). Atualmente a pesca da piramutaba apresenta um declínio na região, sendo substituída pela pesca de outras espécies do gênero (RUFFINO *et al.*, 2000).

A espécie *B. filamentosum*, conhecido e comercializado no estado do Pará pelo nome vulgar de filhote, é considerado o maior predador dos canais dos rios amazônicos e frequentemente ultrapassa 100 kg de peso (AQUINO *et al.*, 2009), possui hábitos noturnos e forrageia perto ao fundo dos rios (PETRERE JR *et al.*, 2004) e tem uma ampla distribuição na bacia amazônica, presente entre os canais dos rios principais, incluindo os tributários de águas brancas, preta e clara, nos lagos de várzeas e na parte de água doce da foz amazônica, ocorrendo a partir dos rios costeiros do estado do Amapá até os cursos de água que cortam o sopé da cordilheira dos Andes (SANTOS & JEGU, 2004; SANTOS, 2004; MOJICA, 2012; BARTHEM & GOULDING, 1997). É uma das espécies mais consumidas na região amazônica principalmente pelo seu sabor agradável e rendimento em filé. Considerada como a maior espécie de peixe de couro da América do Sul e uma das maiores do mundo (SANTOS *et al.*, 2006). Essa espécie é caracterizada por apresentar dorso escuro ou cinza claro e ventre claro (BARTHEM & GOULDING, 1997), e em relação ao seu porte, na Amazônia, só é superada somente pelo pirarucu *Arapaima gigas* (CÓRDOBA *et al.*, 2000). Alguns autores (LIMA & RUFFINO, 2003; BARTHEM & GOULDING, 2007) sugerem que o filhote realiza

migrações, embora existam poucos dados disponíveis para detectar seus movimentos sazonais, além de registrarem que as migrações a partir do estuário não têm sido relatadas para essa espécie. Porém, o seu padrão migratório ainda é desconhecido. Desde 1970, já havia dúvidas sobre a existência de uma ou mais espécies entre os peixes que são chamados de filhote (GOULDING, 1979). Onde exemplares comercializados como “filhote” (*B. filamentosum* e *B. capapretum*) apresentam o dorso escurecido e fez-se necessário também à diferenciação genética das espécies (HUERGO, 2009; CORDEIRO, 2013). HUERGO, *et al.*, (2011), verificou que 33,19% correspondentes a 670 toneladas de *B. capapretum* podem ter sido capturadas como *B. filamentosum* nos anos de 2001 e 2004. Logo a seguir a tabela 1 mostra a produção de *B. filamentosum* nos anos de 2007 a 2009.

Tabela 1: As informações referentes ao ano de 2007

TABELA 1: PRODUÇÃO EM TONELADAS DE <i>B. FILAMENTOSUM</i> NA PESCA EXTRATIVA CONTINENTAL.			
ESPECIE	PRODUÇÃO EM TONELADAS		
	2007	2008	2009
FILHOTE	3.472	3.449	3.161

Fonte: Boletim Estatístico do IBAMA/MMA. 2008-2009.

Entretanto, ao longo dos anos seguidos de exploração, o registro de capturas de *B. filamentosum* apresentou índices cada vez menores como descrito por CORDEIRO (2013) e apresentado pelo Boletim Estatístico do IBAMA/MMA, PETRERE JR *et al.*, (2004), apontou que a sobre-exploração pode ter provocado o declínio dessa espécie e isso levou a sua inclusão no estoque pesqueiro, cuja captura tem aumentado desde 1990. Mas também foram levantadas dúvidas sobre a existência de uma ou várias populações do “Filhote”, na bacia amazônica, estimulando à realização de estudos voltados a compreensão da complexidade envolvida com esse recurso, que por sua vez, é de fundamental importância em programas de conservação e manejo da pesca (HUERGO, 2009) e possuem dados de pesquisas anteriores no âmbito do Programa de Estudos da Rede Urbana da Calha Solimões e Amazonas coordenado pelo NEPECAB e do “Projeto PIRADA: genética, manejo e conservação dos grandes bagres migradores na Amazônia” coordenado pelo LFCE e LTBM ambos do INPA. (MORAES & GOMES; 2009). *B. filamentosum* e *B. capapretum*, são duas espécies capturadas e comercializadas sem distinção (HUERGO, 2009). A Piraíba negra (*B. capapretum*) apresenta dentição finamente granulada, presença nos juvenis de manchas acima

da linha lateral mais larga que os olhos, dorso abruptamente escurecido e nadadeira caudal larga e furcada (CORDEIRO, 2013).

A pesca dos bagres é feita com redes de emalhe e espinhel ao longo da calha do rio Amazonas e seus principais afluentes de águas brancas. Devido à rejeição do consumo de peixes de couro pela população da Amazônia Central, sua captura é voltada principalmente para a exportação. (HUERGO, 2009). As espécies de bagres como a dourada, o surubim e o filhote, também não são populares nos mercados locais do estado do Amazonas, entretanto, são apreciados nos estados de Rondônia, Acre e Pará (LIMA & RUFFINO, 2003), sendo capturados pela pesca extrativista em toda a bacia.

1.7 FERRAMENTAS MOLECULARES E SUA APLICABILIDADE NO CONTROLE DE ROTULAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE FRAUDES COMERCIAIS

Métodos de identificação moleculares de espécies, particularmente aqueles com base em análise de DNA, podem servir como ferramentas fundamentais para a indústria de auto regulação, pois oferece um nível superior de precisão para o monitoramento governamental de autenticação do peixe e ao mesmo tempo, proporciona uma ferramenta importante para justificar a emissão de multas e a acusação de práticas ilegais (OGDEN, 2008; CAWTHORN *et al.*, 2011). O código de barras de DNA (DNA *barcoding*) é, essencialmente, uma técnica que utiliza sequências curtas de DNA, como diagnóstico molecular para a identificação ao nível de espécies e faz com que estas informações sejam obtidas de forma rápida e barata (WONG & HANNER, 2008). Em particular, o gene Citocromo oxidase subunidade I (COI) é utilizado como marcador preferencial e vem sendo bastante difundido e utilizado principalmente por representar uma metodologia padrão rápida e eficaz para a identificação de uma diversificada gama de linhagens de animais, incluindo espécies de peixes (HEBERT *et al.*, 2003a; HEBERT *et al.*, 2003b; WARD *et al.*, 2005). Ele vem sendo confirmado como uma técnica extremamente poderosa e amplamente aplicável para fins de identificação de peixes (TOFFOLI *et al.*, 2008; ARDURA *et al.*, 2010; CAWTHORN *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2013; ARDURA *et al.*, 2015).

A principal vantagem do DNA mitocondrial é a maior abundância de cópias deste em comparação ao DNA nuclear (AVISE *et al.*, 1984). Cada célula possui centenas de mitocôndrias e cada mitocôndria dezenas de cópias de seu cromossomo circular. O DNA mitocondrial também apresenta a vantagem de não possuir introns, praticamente não sofre recombinação e é haplóide (SACCONI *et al.*, 1999). A aplicação de marcadores espécie-

específicos para identificação de peixes amazônicos já é aplicada há algum tempo, entretanto a diversidade de espécies as quais já foram alvo de trabalhos moleculares, bem como os locais de amostragem de onde estes indivíduos foram amostrados, ainda são bastante reduzidos em comparação à riqueza de espécies amazônicas, bem como a área total da mesma (FARIAS *et al.*, 2000; ARDURA *et al.*, 2010; CORDEIRO, 2012; BRITO, 2013). Desta forma, a aplicação destas inferências moleculares ao maior número de espécies possíveis é fundamental para o mapeamento genético da diversidade de peixes amazônicos.

Diferentes métodos baseados em DNA têm sido propostos para a rastreabilidade dos peixes (RASMUSSEN & MORRISSEY, 2008). Atualmente, a ampla utilização do código de barras de DNA tem servido como base para estudos genéticos posteriores, onde no caso de espécies em que o polimorfismo genético já tenha sido detectado anteriormente pelo gene COI, os estudos posteriores com estas espécies podem ser realizados no âmbito da genética populacional (ARDURA *et al.*, 2010).

Com isso, o DNA *barcoding* vem sendo utilizado para avaliar a incidência de substituições de espécies de peixes na América do Norte (WONG & HANNER, 2008), Europa (COMI *et al.* 2005; MILLER & MARIANI, 2010; BARBUTO *et al.*, 2010; FILONZI *et al.*, 2010; TRIANTAFYLLIDIS *et al.*, 2010; NICOLE *et al.* 2012) África do Sul (HEYDEN *et al.*, 2009; CAWTHORN *et al.* 2011) América do Sul (HUERGO, 2009; ARDURA *et al.*, 2010; HUERGO *et al.* 2011; BRITO, 2013; CORDEIRO, 2013; ARDURA *et al.*, 2015). Enquanto isso no Brasil, o número de estudos que utilizam dessa ferramenta é escasso, principalmente, tendo-se em mente a riqueza de espécies que são alvo de pesca no país e em especial na região amazônica (GRAM *et al.*, 2001, BATISTA & PETRERE, 2007; CARVALHO *et al.*, 2011; VENEZA *et al.*, 2013). Uma pesquisa de grande importância com o uso dessa ferramenta para identificação de filés rotulados como pescada branca comercializados em grandes redes de supermercados de Belém, Pará, na Amazônia brasileira foi realizado por Brito (2013) e seus resultados revelaram uma alta taxa de substituição.

2 JUSTIFICATIVA

Devido à importância econômica de *B. filamentosum* na região amazônica, faz-se necessário a utilização de ferramentas mais precisas de identificação de espécies, para que os consumidores possam ter uma maior confiabilidade em adquirir à espécie certa. Com o relato da redução no número de captura de *B. filamentosum* na região amazônica, é possível que em alguns casos esta espécie esteja sendo substituídas por outras do gênero que apresentam um

menor valor comercial, fato este que se caracteriza como fraude. Desta forma, o presente estudo é o primeiro trabalho a utilizar a ferramenta de DNA de *barcoding* para identificação genética de *B. filamentosum* comercializado em feiras livres de um importante mercado amazônico.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar com o uso do DNA *barcoding* a possível substituição de peixes comercializados *in natura* sob o nome popular de filhote (*B. filamentosum*) e por qual espécie está sendo substituído, apontando suas possíveis causas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Analisar o uso do gene Citocromo oxidase subunidade I e verificar sua utilidade para a identificação de *B. filamentosum*;
- Indicar os possíveis motivos que podem levar a substituição.

4 MATERIAIS E METODOS

4.1 AMOSTRAGEM

Os espécimes foram identificados *in situ* por suas características morfológicas através de uma inspeção visual feita pelos próprios vendedores e comercializadas com o uso do seu nome vernácula, no caso da espécie em questão no dado trabalho o *B. filamentosum* era comercializado com o nome de filhote. Por questão de controle, foram anotados: o lugar que o peixe foi pescado (informação esta, dada pelo vendedor), o dia e o lugar que a amostra foi adquirida. Após isso cada amostra ganhava seu devido número para uma melhor organização.

Foram coletadas um total de 12 amostras de *B. filamentosum*, provenientes da feira municipal de peixe de Breves, Ilha do Marajó. Essas amostras foram informadas pelo vendedor como sendo: Três do Rio Tajapurú em Breves, quatro da cidade de Oriximiná, Rio Tapajós e outras cinco do Município de Almeirim, Rio Amazonas. Também foram adicionados ao banco de dados 12 amostras de *B. filamentosum* da cidade de Mocajuba,

região do Rio Tocantins, totalizando 24 amostras no presente estudo (Figura 1). O indivíduo Fil1Moca foi comprado inteiro em Mocajuba, servindo como indivíduo voucher do presente estudo.

Figura 1: Mapa demonstrando os locais de onde as amostras de Filhote (*B. filamentosum*) do presente estudo são provenientes



Fonte: google earth (www.google.com/earth).

As amostras foram colocadas em tubos eppendorfs com etanol absoluto e acondicionadas em freezer a 4°C antes das extrações de DNA, que foram realizadas no laboratório de filogenômica do campus de Bragança.

4.2 EXTRAÇÃO DE DNA, PCR'S E SEQUÊNCIAMENTO.

O DNA genômico total foi extraído com o Kit de extração DNA Wizard Genomics (Promega Inc), seguindo o protocolo para tecido muscular (mouse tail). Posteriormente, os DNA foram migrados em eletroforese submarina em gel de agarose low melt de 1% para quantificação da qualidade dos mesmos, antes da realização das reações em cadeia da polimerase. A partir da extração, foram realizadas as amplificações, através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) do gene Citocromo Oxidase subunidade I – COI, utilizando os

seguintes pares de *primers*: FishF1, 5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3' e FishR1, 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3' (WARD *et al.*, 2005). Os PCR's foram realizados com uma concentração final de 25 µl contendo: 0.5 µl de cada primer, 2 µl de MgCl₂, 4 µl de dNTP (1.25mM), 5.0 µl de 5x buffer, 0.2 µl de Taq polimerase (5U/µl) e o restante completado com água ultra pura.

As condições dNTP (1.25mM), 5.0 µl de 's foram as seguintes: 35 ciclos de desnaturação a 92°C por 1 minuto; anelamento de 52°C por 35 segundos; extensão a 72°C por 90 segundos e uma extensão final 5.0 µl de 's foram as 72°C por 5 minutos. Para o sequenciamento dos fragmentos obtidos, as PCR's serão previamente purificadas com a enzima ExoSAP-IT (Amersham Pharmacia Biotech Inc.), e as reações de sequenciamento realizadas com os reagentes do Kit BigDye (AppliedBiosystems) e então sequenciadas no sequenciador automático ABI 3500 (AppliedBiosystems).

4.3 ALINHAMENTOS DE DNA E ANÁLISES MOLECULARES

As sequências obtidas foram alinhadas no programa BioEdit v.5.0.6 (Hall, 1999), através da ferramenta CLUSTALW (Thompson *et al.*, 1997). O critério de identificação estabelecido através da similaridade genética de pelo menos 95% de comparação entre as sequências obtidas e os bancos de dados utilizados. Uma árvore de máxima verossimilhança (ML) foi construída no programa MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016) com o intuito de fornecer uma melhor representatividade dos resultados obtidos no presente estudo. O modelo evolutivo para a construção da árvore filogenética foi estimado no programa jModelTest2 (Darriba *et al.*, 2012), sendo o modelo de HKY+I o modelo selecionado. O suporte para nós foi verificado através de 1000 pseudo réplicas de bootstrap (Felsenstein, 1985).

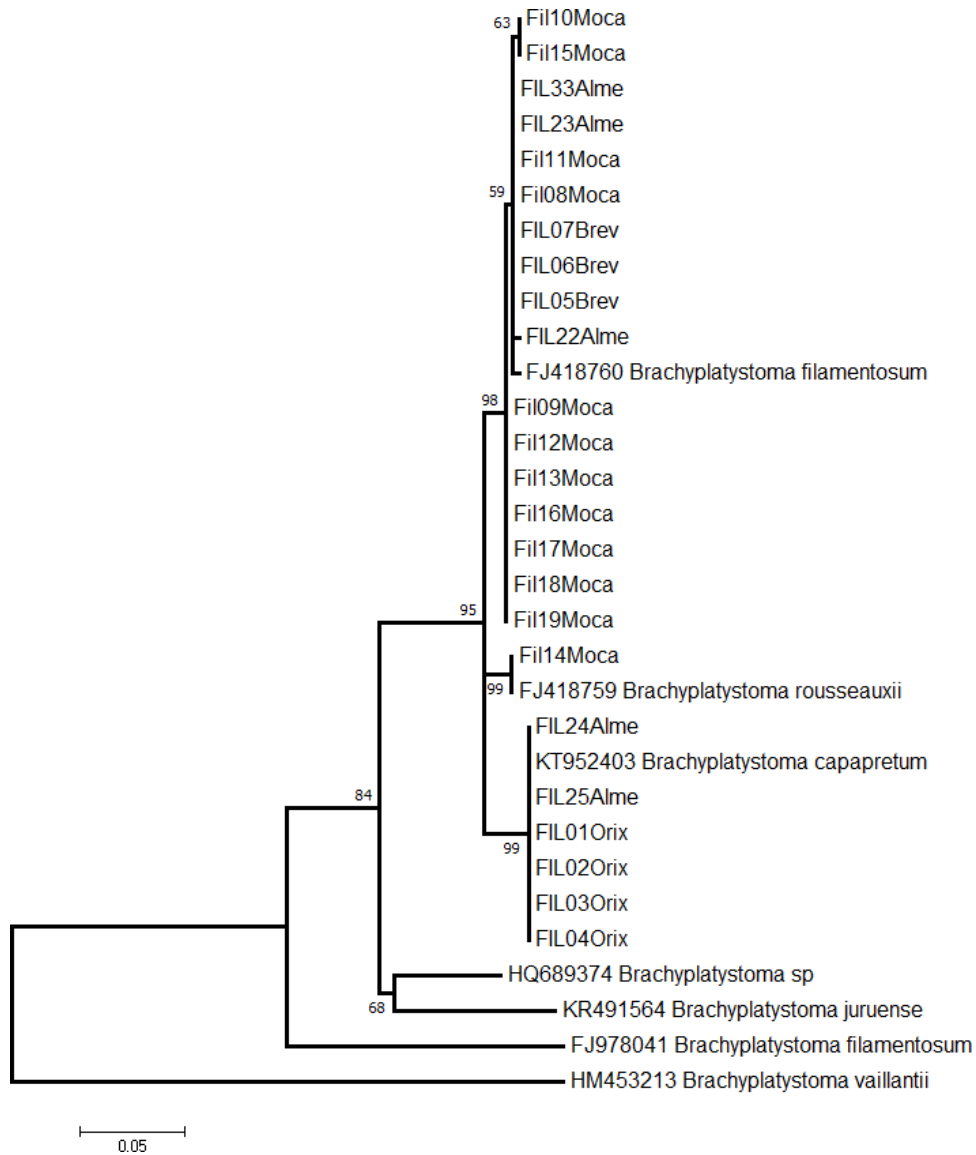
Adicionalmente, sequências de espécies do gênero *Brachyplatystoma* foram baixadas do GenBank e implementadas no banco de dados, podendo desta forma ser comparada as sequências obtidas com sequências provenientes de outros trabalhos, totalizando 31 sequências no banco de dados final.

5 RESULTADOS

Todos os indivíduos amostrados para o presente estudo foram amplificados gerando um fragmento com 643 pb do gene mitocondrial COI. Os resultados obtidos demonstram padrões interessantes sobre os indivíduos comercializados na feira livre de Breves.

Inicialmente, a maior parte dos indivíduos, incluindo nossa amostra controle (Fil11moca) foi identificada geneticamente com a sequência de *B. filamentosum* do *GenBank*, formando um clado monofilético bem suportado (98% de *bootstrap*) (Figura 2).

Figura 2: Árvore de Máxima Verossimilhança das amostras utilizadas no presente estudo. Apenas valores de suporte superiores a 59% são mostrados na árvore.



Fonte: pesquisa de campo.

Este clado foi composto por todas as amostras provenientes de Breves, Almeirim e Mocajuba. Duas estruturas foram encontradas dentro deste clado (indivíduos de Mocajuba) e (Almeirim/Mocajuba/Breves), entretanto com valores de suporte baixos (63% e 59% respectivamente). Adicionalmente, um indivíduo vendido como filhote proveniente de Mocajuba, identificado geneticamente como dourada (*B. rousseauxii*) e com elevado valor de suporte (99%). Duas amostras provenientes de Almeirim e todas as amostras provenientes de Oriximiná correspondiam geneticamente a *B. capapretum* onde foi formado um agrupamento com elevado valor de suporte (99%). Outra sequência de *B. filamentosum* do Genbank não foi recuperada dentro do clado contendo as amostras de filhote do presente estudo, sendo recuperada de forma basal na topologia juntamente com *B. vaillantii* embora, sem valor de suporte significativo.

6 DISCUSSÃO

Os resultados apresentados no presente estudo legitimam a eficiência do uso do DNA *barcoding*, em especial o COI, para a identificação de peixes e comparações das sequências com banco de dados de outras espécies provenientes do GenBank. Os resultados obtidos apontam uma substituição de *B. filamentosum* por outra espécie do gênero, o que pode ocasionar um prejuízo econômico para o consumidor, quando a mesma é substituída por uma espécie de menor valor econômico ou quando essa substituição é realizada em larga escala como mencionados por CAWTHORN *et al.*, (2011) e WARD (2000). Uma das amostras provenientes de Mocajuba foi identificada como sendo *B. rousseauxii* com um valor de suporte de 99%, apesar dessa indicação, a mesma pode ser classificada como uma substituição não intencional, afinal foi apenas um caso isolado.

No caso das amostras vendidas como filhote e identificadas geneticamente como *B. capapretum*, os valores de suporte também foram elevados (99%). Cordeiro (2013) vem afirmar a presença de exemplares de ambas as espécies apresentando o dorso escurecido, dificultando assim a sua identificação morfológica, o que possivelmente pode favorecer esse tipo de substituição. O fato das espécies serem ainda comercializadas muitas vezes de foram processada (eviscerados, sem cabeça ou nadadeiras) também favorece as substituições (HUERGO, 2009). *B. capapretum* apresenta uma dentição finamente granulada (CORDEIRO, 2013) uma das principais características de identificação e quando vendidos sem cabeça, essa característica é removida. A identificação incorreta pode trazer um desequilíbrio na fauna de ambas as espécies levando até mesmo a sobre pesca como encontrada por PETRERE JR *et al.*

(2004), VENEZA *et al.* (2013) e também encontrada sobre as espécies *Macrodon ancylodon* e *Lutjanus purpureus* por BRITO *et al.* (2015).

Brito *et al.* (2015), investigando a comercialização de pedaços de peixe comercializados como “pescada branca” na rede varejista do Pará, encontrou taxas de substituição de 100% (de 137 amostras, nenhuma era a espécie alvo). Possivelmente, o fato das espécies comercializadas como “pescada branca” apresentem o mesmo nome comum, onde existe a espécie marinha (*Cynoscion leiarchus*) e a de água doce (*Plagioscion squamosissimus*) fato este que pode acarretar confusões na hora da comercialização. Entretanto no caso de BRITO *et al.* (2015) as duas espécies possuem características morfológicas muito distintas fato este que atesta a fraude comercial.

Nossos dados apontam que um indivíduo coletado no presente estudo (Fil14Moca) foi identificado geneticamente como *B. rousseauxii*. Mesmo a substituição não aparentando como intencional o valor de mercado entre as duas espécies é relativamente alto. Em grandes centros, como a cidade de Belém, o preço do kg de filhote é R\$ 6.79 superior ao preço praticado para dourada, nos principais supermercados da cidade. Pelo fato de apenas 1 único indivíduo ter sido identificado como uma espécie diferente de *B. filamentosum*, a substituição pode ser caracterizada como não intencional. De acordo com Huergo (2009) em relação ao mercado, como não há distinção entre *B. filamentosum* e *B. capapretum*, inexistente a preferência pela carne ou diferenças de preço entre. Possivelmente, a problemática do uso de nomes vulgares pode ter influenciado nesta identificação errada, o *B. filamentosum* é comercializado com nomes vernáculos diferentes, indivíduos juvenis são conhecidos como “Filhote” enquanto os indivíduos com tamanhos maiores são chamados de Piraíba. Essa denominação também é utilizada em outras regiões do Brasil (HUERGO, 2009; CORDEIRO, 2013). Este fator, combinado com a similaridade morfológica com *B. capapretum* pode levar a substituições, principalmente quando uma espécie possui mais de um nome vernacular CARVALHO *et al.* (2017).

Casos de substituição da espécie em questão já foram relatados por Huergo (2009) e Cordeiro (2013), mas não é uma situação que fica restrita apenas alguns casos. Existem muitos relatos sobre esse tipo de como alguns estudos que registram a substituição de Curimatá (*Prochilodus nigricans*) por ARDURA *et al.* (2010), de Panga (*Pangasius bocourti*) e Perca do Nilo (*Lates niloticus*) por GALAL-KHALLAF *et al.* (2014), tubarões como o Polombo (*Mustelus spp.*) por BARBUTO *et al.* (2010), Pargo vermelho (*Lutjanus campechanus*) por MARKO *et al.* (2004). Além da simples identificação em si do ponto de vista comercial, a ferramenta de DNA de código de barras também consegue discriminar a

presença de espécies com pesca proibida por risco de extinção. Palmeira *et al.*, (2013), investigando a comercialização de elasmobrânquios na feira livre das cidades de Bragança e Vigia, encontraram a presença do peixe serra (*Pristis perotetti*) sendo comercializado na forma de filés salgados. Esta espécie está com o status de “criticamente ameaçada” de risco de extinção por vários órgãos de proteção, como a lista vermelha de espécies. Adicionalmente, o uso de técnicas moleculares para identificação e comercialização de produtos pesqueiros também podem revelar a comercialização de espécies com potencial para desencadear riscos à saúde severos. Em alguns casos, erros de rotulagem de espécies vendidas como “bacalhau” (*Gadus morhua*) na verdade correspondia à cavala africana (*Ruvettus pretiosus*), uma espécie venenosa (Halstead *et al.*, 1990), fato que causou uma série de intoxicações severas (Lam, 2007).

No Brasil, as leis de comércio não exigem que o produto contenha no rótulo o nome comum e científico das espécies, também não existe lista oficial com nomes comuns, de comércio e científico das espécies de pescado comercializadas no país, de forma que orientem o consumidor para uma compra consciente e atenuem fraudes na rotulagem (BRITO 2013). A instrução Normativa N°22 de 2005 exige apenas que nos rótulos dos produtos conste o nome específico e não genérico que indica a verdadeira natureza e as características do produto de origem animal comestível (MAPA, 2005). Mesmo não obrigando a identificação a nível específico, esta instrução normativa normalmente só é aplicada para produtos comercializados em redes varejistas, e não ao pescado comercializado em feiras livres ao redor do país.

Portanto, quando a substituição acontece em mercados onde a fiscalização é quase inexistente, acaba sendo difícil prever a taxa de substituição sobre dada espécie e passando despercebido pelos órgãos reguladores, favorecendo assim a sobre pesca e a diminuição da captura do pescado, e possível perda de biodiversidade.

7 CONCLUSÃO

Os resultados no presente estudo apontam uma baixa taxa de substituição do peixe *B. filamentosum* não indicando caráter de substituição intencional, mas faz-se necessário um monitoramento do pescado na região amazônica e a implementação de Leis para o pescado, mas em especial ao filhote, para que tanto ele como o *B. capapretum* não sejam sobre explorados. O uso do gene Citocromo oxidase subunidade I, mostrou-se como um meio eficaz para a identificação das espécies, apresentando um elevado valor de suporte, sendo assim um grande aliado para a fiscalização, em consonância passaria uma confiabilidade do pescado,

não causando danos financeiros aos consumidores, o que possivelmente abriria as portas dos mercados para a exportação o que melhoraria a economia dessas regiões.

REFERÊNCIAS

ABERCROMBIE, D.; CLARKE, S.; SHIVJI, M. Global-scale genetic identification of hammerhead sharks: application to assessment of the international fin trade and law enforcement. **Conserv. Genet.** 6, 2005. 775–788.

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. O manejo da pesca em reservatórios da Bacia do Alto rio Paraná: Avaliação e perspectivas. In: Nogueira, M. C.; Henry, R.; Jorcin, A. (Eds). **Ecologia de Reservatórios**. São Carlos. Rima, 2006. p. 23-55.

AQUINO, K. Formiga; BATISTA, J. S.; HUERGO, G. C. M. P; FERREIRA, S. R. Briglia; RODRIGUES, F. C.; ALVES-GOMES, J. A. **Variabilidade genética do gênero brachyplatystoma na amazônia**. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Coordenação de Pesquisas em Biología Aquática. Doutorado em Biología de Água Doce e Pesca Interior, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia. Bolsista DTI LFCE/CPBA/INPA. 2009.

ARDURA, Alba ARDURA; Ivan G. POLA; Ione GINUINO; Vanessa GOMES; Eva GARCIA-VAZQUEZ. Application of barcoding to Amazonian commercial fish labelling. **Food Research International**, v.43, 2015. p. 1549–1552. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/foodres> Acesso em: 15 fev.2016.

ARDURA, Alba; LINDE, Ana R.; MOREIRA, Josino C.; VAZQUEZ, Eva Garcia. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. **Biological Conservation**, 143, 2010. p. 1438–1443.

AVISE, J. C.; NEIGEL, J. E.; ARNOLD, J. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. **Journal of Molecular Evolution**, 20: 1984. 99 - 105.

BARBUTO, M.; GALIMBERTI, A.; FERRI, E.; LABRA, M.; MALANDRA, R.; GALLI, P. DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: The Italian case of “palombo” (Mustelus spp.). **Food Research International**, 43(1), 2010. 376–381.

BARBUTO, M.; GALIMBERTI, A.; FERRI, E.; LABRA, M.; MALANDRA, R.; GALLI, P.; CASIRAGHI, M. DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: The Italian case of “palombo” (Mustelus spp): **Food Research International**. 43 (2010) 376–381.

BARTHEM, R. B. & GOULDING, M. **Um ecossistema inesperado: a Amazônia revelada pela pesca**. Amazon Conservation Association e Sociedade Civil Mamirauá. Lima. 2007. 241 p.

BARTHEM, R. B.; Goulding, M. **Os Bagres Balizadores: Ecologia, Migração e Conservação de Peixes Amazônicos**. Sociedade Civil Mamirauá; CNPq, Brasília. 1997. 140 p.

BATISTA, V. S.; ISSAC, V. J.; VIANNA, J. P. 2004. **Exploração e manejo dos recursos pesqueiros da Amazônia**. In: Ruffino, M. L. (Eds). **A Pesca e os Recursos Pesqueiros na Amazônia Brasileira**. Manaus, IBAMA/ProVárzea. P. 63 – 151.

BATISTA, V.; & PETRERE Junior, M. Spatial and temporal distribution of fishing resources exploited by the Manaus fishing fleet, Amazonas, Brazil. **Braz. J. Biol.** 67, 2007. 651– 656.

BAYLEY, P.B.; & PETRERE Jr., M. Amazon fisheries: assessment methods, current status, and management options. **Cano Spec. Publ. Fish. Aquat. Sei.**, 106: 1989. 385-398.

BEAUMONT, A. R.; & HOARE, K. Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture. **Blackwell Science**, Oxford. 2003. 155 p.

BETTS, R.; MALHI Y.; ROBERTS, J. The future of the Amazon: new perspectives from climate, ecosystem and social sciences. **Phil. Trans. Roy. Soc. B**, 363, 2008. 1729–1735.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura Brasil 2008-2009**. Disponível em: <[anuário da pesca completo.cdr - anuario da pesca completo.pdf](#)> Acesso em: 23 fev. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 22. Aprova o Regulamento Técnico para Rotulagem de Produto de Origem Animal embalado, **DOU**, Seção 1, p15.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. 2017. **Água: recurso cada vez mais ameaçado**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/agua>>. Acesso em: 24/02/2017.

BRASIL. Banco do Brasil. Perfil estatístico das espécies mais vendidas. **Revista CACEX**, Rio de Janeiro, Ano 23, nº 1.075. Junho 1988.

BRITO, Mayara Alves de. **Uso do código de barras do dna (coi) para avaliar a autenticidade da rotulagem de filés de pescada branca (sciaenidae) comercializados em supermercados de Belém-PÁ**. Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Ambiental (Mestrado em Recursos Biológicos da Zona Costeira Amazônica), da Universidade Federal do Pará. 2013.

BRITO, M. A.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I.; & SANTOS, S. DNA barcoding reveals high substitution rate and mislabeling in croaker fillets (Sciaenidae) marketed in Brazil: The case of “pescada branca” (*Cynoscion leiarchus* and *Plagioscion squamosissimus*). **Food Research International**, 70, 2015. 40-46.

BUCK, E. H. **Seafood marketing: combating fraud and deception**. 2009. Disponível em: <www.nationalaglawcenter.org/assets/crs/RL34124.pdf>. Acesso em: 20/02/2015.

CARVALHO, Daniel Cardoso; GUEDES, Danusa; TRINDADE, Maria da Gloria; COELHO, Regina Melo Sartori; ARAUJO, Paulo Humberto de Lima. Nationwide Brazilian governmental forensic programme reveals seafood mislabelling trends and rates using DNA barcoding. **Science Direct. Fisheries Research**. 191 (2017) 30–35.

CAWTHORN, Donna-Mreè; STEINMAN, Harris Andrew; WITTHUHN, R. Corli. DNA barcoding reveals a high incidence of fish species misrepresentation and substitution on the South African Market. **Food Research International**, v. 46, 2011. p. 30–40.

CHEFTEL, J. Claude. **Food and nutrition labelling in the European Union**. 2005.

COMI, G; IACUMIN, L; RANTSIOU, K; *et al.* Molecular methods for the differentiation of species used in the production of cod-fish candetect commercial frauds. **Food Control**, 16: 2005. 37–42. DOI:10.1016/j.foodcont.2003.11.003.

CORDEIRO, Adriel lira. **Estimativa da variabilidade genética da piraíba negra *Brachyplatystoma capapretum* (Siluriformes: Pimelodidae), por meio de marcadores mitocondriais e microssatélites**. Tese de mestrado, INPA. 2013.

CÓRDOBA, E. A.; Y. SALINAS-COY; SÁNCHEZ, C. L.; MUÑOZ-SOSA, D. L.; ALONSO-GONZÁLEZ, J. C.; ARTEAGA-DÍAZ, M. E. A; RODRÍGUES-PIETRO, O. J. R.; ANZOLA-POTES, N. R.; ACOSTA-MUÑOZ, L. E.; NÚÑES-AVELLANEDA, M.; VALDÉS-CARRILLO, H. **Bagres de la amazonía colombiana: Un Recurso sin Fronteras**. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas-SINCHI. Bogota. Colombia. 2000. 253 p.

DARRIBA, Diego; TABOADA, Guillermo L.; DOALLO, Ramón; & POSADA, David. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, v. 9. n. 8. 2012.

DOREA, J.G., Fish are central in the diet of Amazonian riparians: should we worry about their mercury concentrations? **Environ. Res.** 92, 2003. 232–244.

FAO. Disponível em: < <http://www.fao.org/docrep/014/i2408s/i2408s.pdf>>. Acesso em:24 de fevereiro de 2017.

FARIAS, I. P.; ORTI, G.; MEYER, A. Total evidence: molecules, morphology, and the phylogenetics of cichlid fishes. **Journal of Experimental Zoology**. n. 288. 2000. p. 76-92.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on philogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, 39: 1985. 783-791.

FILONZI, L.; CHIESA, S.; VAGHI, M.; Nonnis Marzano, F. Molecular barcoding reveals mislabelling of commercial fish products in Italy. **Food Research International**, 43, 2010. 1383–1388.

FURCH, K. e JUNK W. J. Physicochemical conditions in floodplains. In: **The Central Amazon Floodplain. Ecology of a pulsing System (Ed. W. J. Junk)**. Springer, Berlin. 1997. p. 69-108.

GALAL-KHALLAF, Asmaa; ARDURA, Alba; MOHAMMED-GEBA, Khaled; BORRELL, Yaisel J; GARCIA-VAZQUEZ, Eva. DNA barcoding reveals a high level of mislabeling in Egyptian fish fillets. **ScienceDirect Food Control**, 46: 2014. 441-445.

GALAL-KHALLAF, Asmaa; ARDURA, Alba; MOHAMMED-GEBA, Khaled; BORRELL, Yaisel J.; GARCIA-VAZQUEZ, Eva. DNA barcoding reveals a high level of mislabeling in Egyptian fish fillets. **Food Control**, 46: 2014. 441 e 445.

GALIMBERTI, A.; DE MATTIA, F.; LOSA, A.; BRUNI, I.; FEDERICI, S.; CASIRAGHI, M.; *et al.* DNA barcoding as a new tool for food traceability. **Food Research International**, 50, (2013). 55 e 63.

GERSON, H.; CUDMORE, B.; MANDRAK, N. E.; COOTE, L. D.; FARR, K.; & BAILLERGEON, G. Monitoring international wildlife trade with coded species data. **Conservation Biology**, v. 22, 2008. p. 4–7.

GOULDING, M. **Ecologia da Pesca no Rio Madeira**. CNPq/INPA. Manaus. 1979. 172 p.

GRAM, Gram S.; KVIST, L.P.; CASERES, A. The economic importance of products extracted from amazonian flood plain forests. **Ambio**, 30, 2001.p. 365–368.

GRUNERT, K. G. Food quality and safety: consumer perception and demand. **European Review of Agricultural Economics**, 32: 2005. 369-391.

HALL, T. A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment edit and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, 41: 1999. 95-98.

HALSTEAD, B. W.; AUERBACH, P. S.; CAMPBELL, D. A colour atlas of dangerous marine animals. **Wolfe Medical Publications Ltd, W. S. Cowell Ltd**, Ipswich, England. 1990. 192p.

HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; & de WAARD, J. R. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. **Proceedings of the Royal Society B**, 270, 2003b. S96–S99.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; & de WAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London, series B**, 270, 2003a. 313–321.

HEYDEN, Sophie von der; BARENDSE, Jaco; SEEBREGTS, Anthony J.; and MATTHEE, Conrad A. Misleading the masses: detection of mislabelled and substituted frozen fish products in South Africa. **International Council for the Exploration of the Sea. Published**

by **Oxford Journals**. 2009. Disponível em: < <http://icesjms.oxfordjournals.org/>> Acesso em: 03 junho de 2015.

HUERGO, G. P. C. M. **Estimativa da diversidade genética da piraíba. (*Brachyplatystoma filamentosum*, Lichtenstein 1819) e da piraíba negra (*Brachyplatystoma. capapretum*, Lundberg e Akama 2005), na Amazônia Brasileira, inferidas através do DNA. mitocondrial: Subsídios para Manejo e Conservação.** Tese de Doutorado. INPA- Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus. Amazonas. 2009. p 114. Disponível em: <<http://bdtd.inpa.gov.br/handle/tede/1484>>. Acesso em: 24 fev. 2016.

HUERGO. G. M; FILGUEIRAS-SOUZA, R. J; BATISTA, J. S; FORMIGA-AQUINO, K; ALVEZ-GOMES, J. A. Molecular genetics as a tool for fisheries management in the Brazilian Amazon: Piraíba (*Brachyplatystoma filamentosum* and *Brachyplatystoma. capapretum*) (*Siluriformes: Pimelodidae*) in white-water rivers. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**. v. 6. n. 4. 2011. p. 280-289.

IBAMA. **Estatística da pesca**. Brasília-DF, p. 1 150, dez. 2007. Disponível em: <www.ibama.com.br>. Acesso em: 20 jan. 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal**. Brasil – Estatística. Rio de Janeiro, v. 42, 2014. p. 1 – 39.

ISAAC, V. J.; BARTHEM, R. B. Os recursos pesqueiros da Amazônia brasileira. **Bol. Mus. Par. Emílio Goeldi**, série antropologia. Belém PÁ, v 11(2), 1995. p. 295-339.

JACQUET, J. L., PAULY, D. The rise of seafood awareness campaigns in an era of collapsing fisheries. **Marine Policy**, 31, 2007. 308–313.

KUMAR, Sudhir; STECHER, Glen; & TAMURA, Koichiro. MEGA7:Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Mol. Biol. Evol.** 33(7): 2016. 1870-1874.

LAM, V. Oilfish. The case of the imitation Atlantic cod. **Sea Around US Project Newsletter**: 40, 2007. 1-2.

LARKIN, P. A. A perspective population genetics and salmon management. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 38: 1981. 1469-1475.

LIMA C. A. R. M; RUFFINO, M. L. Migratory Fishes of the Brazilian Amazon. In: CAROSFELD, J.; HARVEY, B.; BAER, A.; ROSS, C. (Eds.) **Migratory Fishes of the South America: Biology, Social Importance and Conservation Status**, World Bank Technical Paper, Victoria, 2003. 380 p.

LOGAN, C. A.; ALTER, S. E.; HAUPT, A. J.; TOMALTY, K., & PALUMBI, S. R. An impediment to consumer choice: overfished species are sold as Pacific red snapper. **Biological Conservation**, 141, 2008. 1591–1599.

LUNDBERG, J. G.; LITTMANN, M. W. Family Pimelodidae. *In*: Reis, R. E., Kullander, S. O. Ferraris, C.J. (Eds). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre, EDIPUCRS. 2003. p. 432 – 435.

MAHER, M. On vino veritas? Clarifying the use of geographic references on American wine labels. **California Law Review** 89(6): 2001. 1881-1925.

MALHI, Y., ROBERTS, J.T.; BETTS, R.A.; KILLEEN, T.J.; LI, W.H.; NOBRE, C.A. Climate change, deforestation, and the fate of the Amazon. **Science** 319, 2008. 169–172.

MARKO, P. B., LEE, S. C., RICE, A. M., Gramling, J. M., Fitzhenry, T. M., McAalister, J. S., et al. Mislabelling of a depleted reef fish. **Nature**, 430, 2004. 309–310.

MILLER, D. D., MARIANI, S. Smoke, mirrors, and mislabeled cod: poor transparency in the European seafood industry. **Frontiers in Ecology and the Environment**, 8, 2010. 517–521.

MOJICA, J. I. *et al.* **Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia**. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá. Colombia. 2012. p. 319.

MORAES, André de Oliveira; & Alves-GOMES, José A. Ciclo de vida, mercado em rede e conservação dos grandes bagres migradores da Amazônia no rio Solimões, Brasil. Laboratório de Fisiologia Comportamental e Evolução – LFCE, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. *In*: COLOQUIO DE LA RED DE INVESTIGACIÓN SOBRE LA ICTIO FAUNA AMAZÓNICA, 2, 28-30 de Octubre 2009. **Anais...Manaus: INPA, 2009**

NELSON, J. S. **Fishes of the world**. Fourt edition, Department of Biological Sciences, University of Alberta, Edmonton, Alberta T6G 2E9 Canada, 2006. p. 622.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI) [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] – [cited 2017 nov 10]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

NICOLÈ, Silvia; NEGRISOLO, Enrico; ECCHER, Giulia; MANTOVANI Roberto; PATARNELLO, Tomaso. DNA Barcoding as a Reliable Method for the Authentication of Commercial Seafood Products. **Original scientific paper**. 2012. p. 1-11.

OGDEN, R. Fisheries forensics: The use of DNA tools for improving compliance, traceability and enforcement in the fishing industry. **Fish and Fisheries**, 9, 2008. 462–472.

PALMEIRA, C. A. M.; RODRIGUES-FILHO S., L. F.; SALES, J. B.L.; VALLINOTO, M.; SCHNEIDER, H., & SAMPAIO, I. Commercialization of a critically endangered species (largetooth sawfish, *Pristis perotteti*) in fish markets of northern Brazil: authenticity by DNA analysis. **Food Control**, v. 34, n. 1, 2013. p. 249-252.

PELLA, J. J.; MILNER, G. B. Use of Genetic Marks in Stock Composition Analysis. *In*: Ryman, N., Utter, F. (Eds). **Population Genetics & Fishery Management**. University of Washington Press, Seattle. 1987. 247 - 275.

PETREIRE Jr, M.; BARTHEM, R. B.; CÓRDOBA, E. A.; GÓMEZ, B. C. Review of the large fisheries in the upper Amazon and de stock depletion of piraíba (*Brachyplatystoma filamentosum* Lichtenstein). **Reviews in Fish Biology and Fisheries. Brasil**. v. 14. 2004. p. 403- 414.

PINHEIRO, Ludmila Assunção; FRÉDOU, Flávia Lucena. Caracterização geral da pesca industrial desembarcada no estado do Pará. **Revista Científica da UFPA**. v. 4, abril. 2004. Disponível em: <<http://www.ufpa.br/revistaic>>. Acesso em: 24 fev.2016.

PINHEIRO, Maria Liduína da Silva; LOUREIRO, João Paulo Borges de; BORGES, Fabricio Quadros; NASCIMENO, Rossicléa Ferreira do. Cadeia produtiva do pescado no estado do Pará: estudo do segmento de distribuição em um empreendimento de captura. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.7, n.2, 2014. p. 315-336, mai./ago. ISSN 1981-9951.

PINNA, M. C. C. de. Phylogenetic relationships of neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. *In*: L.R. Malabarba, R.E. Reis, R.P. Vari, Z.M.S. Lucena and C.A.S. Lucena (eds.) **Phylogeny and classification of neotropical fishes**. Porto Alegre: EDIPUCRS. 1998. p. 279-330.

RASMUSSEN, R. S., & MORRISSEY, M. T. DNA-based methods for the identification of commercial fish and seafood species. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 7, 2008. 280 e 295.

RUFFINO, M. L. Manejo dos Recursos pesqueiros no Médio Amazonas. *In*: IBAMA. **Recursos Pesqueiros do médio Amazonas: Biologia e Estatística Pesqueira**. Brasília. 2000. p. 115 – 140.

SACCONE, C.; GIORGI C. De; GISSI C.; PESOLE G.; REYES, A. **Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system** *Gene*. 238: 1999. 195-209

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G. Peixes da Bacia Amazônica. *In*: LoweMcConell, R.H (Eds). **Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes tropicais**, São Paulo, EDUSP, 1999. p. 345–373.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus**. Manaus: Ibama/AM, ProVárzea, 2006. 144p.

SANTOS, G. M.; JEGU, M. Piraíba, o peixe gigante. **Ciência Hoje**, 34: 2004. p. 69 -71.

SANTOS, G. M; FERREIRA, E. J; ZUANON, J.A. **Peixes comerciais de Manaus**. IBAMA. Provárzea. Manaus, Amazonas. 2006. p. 80; 85-87; 97; 101.

SANTOS, Geraldo Mendes; SANTOS, Ana Caroline Mendes. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Estudos avançados**, 19 (54). 2005.

SARDINHA A. D & QUEIROZ, H. L. A preservação e o uso sustentado dos pirarucus (*Arapaima gigas*, Osteoglossidae). In: Mamirauá, H.L.C., Queiroz, W.G.R. (Eds.), **Estratégias de Manejo para Recursos Pesqueiros na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá**. MCT-CNPq/ Sociedade Civil Mamirauá, Brasília; 1999.

SMITH, J. L. B., SMITH, M. M. **Fishes of the Tsitsikamma Coastal National Park** (p. 102). South Africa: National Parks Board Trust. 1966.

THOMPSON, J. D.; GIBSON, T. J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F. & HIGGINS, D. G. The CLUSTALW windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tool. **Nucleic Acids Research**, 24: 1997.4876-4882.

THOMPSON, M.; SYLVIA, G.; & MORRISSEY, M. T. Seafood traceability in the United States: Current trends, system design, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 1, 2005.1–7.

TOFFOLI, D.; HRBEK, T.; de ARAUJO, M.L.G.; de ALMEIDA, M.P.; CHARVET-ALMEIDA, P.; Farias, I.P. A test of the utility of DNA barcoding in the radiation of the freshwater stingray genus *Potamotrygon* (*Potamotrygonidae*, *Myliobatiformes*). **Genet. Mol. Biol.** 31, 2008. 324–336.

TRIANAFYLLIDIS, A.; Karaiskou, N.; PEREZ, J.; MARTINEZ, J. L.; ROCA, A.; LOPEZ, B., *et al.* Fish allergy risk derived from ambiguous vernacular fish names: Forensic DNA based detection in Greek markets. **Food Research International**, 43: 2010. 2214–2216.

VENEZA, Ivana; FELIPE, Bruna; OLIVEIRA, Joiciane; SILVA, Raimundo; SAMPAIO, Iracilda; SCHNEIDER, Horacio; GOMES, Grazielle. A barcode for the authentication of the snappers (*Lutjanidae*) of the western Atlantic: rDNA 5S or mitochondrial COI? **Food Control**, 38 (2014) 116 e 123.

VERBEKE, W., I; VERMEIR, and BRUNSØ, K. Consumer evaluation of fish quality as basis for fish market segmentation. **Food Quality and Preference**, 18: 2006. 651-661.

VIANA, J.P.; DAMASCENO, J.M.B.; CASTELLO, L.; CRAMPTON, W.G.R. Economic incentives for sustainable community management of fishery resources in the Mamiraua Sustainable Development Reserve, Amazonas, Brazil. In: Silvius, V., Fragoso, J., Bodmer, R. (Eds.), **People in Nature: Wildlife Conservation in South and Central**

America. Columbia University Press, New York, 2004. p. 139–154.

WARD, R. D. Genetics in fisheries management. **Hydrobiologia**. 420, 2000. 191 e 201.

WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; & HEBERT, P. D. N. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B**, 360, 2005. 1847–1857.

WARD, R.D.; HANNER, R.; HEBERT, P.D.N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. J. **Fish Biol.** 74, 2009.329–356.

WILSON; D. W.; BEERS, P. Global trade requirements and compliance with World Trade Organization agreements: The role of tracing animals and animal products. **Reviews of Scienc. Science and Technology**, 20(2): 2001. 379–384.

WONG, H. K.; & HANNER, R. H. DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. **Food Research International**, 41: 2008. 828–837.