

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	2
1.1. O Pescado	2
1.2 Mercado de Subprodutos Pesqueiros de Manaus	4
1.3 Peixes mais Comercializados no Amazonas	4
1.3.1 Aruanã - <i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	4
1.3.2 Mapará - <i>Hypophthalmus spp</i>	6
1.3.3 Surubim - <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	8
1.3.4 Pescada - <i>Plagioscion squamosissimus</i>	10
1.3.5 Tucunaré - <i>Cichla monoculus</i>	11
1.3.6 Tambaqui - <i>Colossoma macropomum</i>	12
1.3.7 Pirarucu – <i>Arapaima gigas</i>	13
1.3.8 Dourada – <i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	14
1.4 Identificações Genéticas de Subprodutos Pesqueiros	16
1.5 DNA Barcode	19
2 JUSTIFICATIVA	19
3 OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo Geral	20
3.2 Objetivos Específicos	20
O ARTIGO CIENTIFICO	21
RESUMO.....	22
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÕES	30
AGRADECIMENTOS	32
BIBLIOGRÁFIA CITADA	32
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXO I – Portaria que regulamenta a rotulagem de pescado	48
Anexos II – Tabela completa da amostras	50
Anexo III – Protocolo de Extração de DNA	56

1 INTRODUÇÃO

O peixe sempre foi um dos principais alimentos das populações que vivem na Amazônia, apresentando assim o maior consumo do Brasil, de 60 Kg de peixe por pessoa/ano, assim com os novos hábitos culturais. Com o beneficiamento do pescado, os frigoríficos vêm introduzindo cada vez mais no mercado o pescado na forma de filés, que são exportados. Manaus é um dos principais polos consumidores de pescado, apresentando um total de 18 espécies com expressões econômicas. O presente trabalho englobou 08 espécies amazônicas e 2 marinhas, as mais comercializadas nos supermercados da capital amazonense.

No mercado de produtos processados as identificações das espécies de peixes se tornam um problema quando as características externas são removidas pelo processamento. Assim, é relativamente fácil substituir uma espécie de alto valor por uma de baixo valor comercial, induzindo o consumidor a uma falsa aquisição do produto, levando-o ao consumo de certa espécie que pode até causar problemas de saúde como alergias, por exemplo. Logo a identificação das espécies através da análise genética, utilizando a técnica barcode, vem sendo utilizado para identificação de espécie inteiras ou fragmentadas, gerando-se sequencias de 650 pares de bases, também chamado de código de barra da vida.

1.1. O Pescado

Os pescados perfazem 8,6% da produção global de alimentos, representando 15% do total de proteína de origem animal, sendo atualmente a quinta maior fonte de proteína, perdendo apenas para o arroz, produtos florestais, leite e trigo, isto segundo dados da “Food and Agriculture Organization” (FAO, 1997). O pescado é um alimento saudável, rico em proteínas e sais minerais, com produção mundial de pescado em 2008 foi de 159.149.103 t (FAO, 2010). O setor pesqueiro extrativista tem experimentado um declínio nas últimas décadas, e o rápido crescimento da aquicultura tem

sido a única forma de acompanhar a alta demanda do consumo de pescado mundial (Sebrae, 2008).

O litoral brasileiro tem sido explorado pela atividade pesqueira há séculos, inicialmente como forma de subsistência dos índios que ali viviam, mas com um aprimoramento das técnicas nos tempos mais recentes. Segundo Rocha (2009) houve uma certa estagnação entre 2003 a 2008, apesar do grande potencial para exploração e produção de pescado, tanto marinhos quanto dulci-aquícolas e estuarinos. A produção brasileira de pescado em 2008 foi de 1.065.186 t (FAO, 2010).

A população da região amazônica possui grande dependência quanto a pesca, logo é a maior consumidora de pescado do Brasil, segundo dados do relatório da Superintendência da Zona Franca de Manaus - SUFRAMA (2003). Essa grande dependência do pescado pela população, entre diversos fatores podemos destacar o fato de que a maioria das comunidades está localizada na margem dos rios, e como nesta região anualmente ocorre a cheia dos rios, os ribeirinhos ficam sem terras para plantio ou criação de animais, já que a terra firme é distante e pouco fértil. Em contrapartida, há grande abundância de peixes nos rios, o que contribui para o papel importante na alimentação dos ribeirinhos. Assim, essa cultura alimentar foi trazida para os grandes centros urbanos. Segundo um relatório realizado pelo Serviço Brasileiro de Apoio as Micro e Pequenas Empresas – Sebrae (2008), o consumo no Amazonas é de 60 Kg de peixe por pessoa/ano, isto a partir de dados de 2006, bastante superior ao consumo mundial de 16,7 Kg/pessoa/ano, e também à média brasileira de aproximadamente 7 kg/habitante/ano, bem abaixo dos 12,0kg recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (FAO, 2009).

A pesca é tradicionalmente a atividade extrativista mais importante da Bacia Amazônica, sendo o peixe a principal fonte de proteína animal disponível ao longo de todo ano. Cerca de 160.000 t de peixes são comercializadas anualmente em Manaus, capital do Amazonas segundo dados da Secretaria de Estado da Produção Rural do Amazonas – Sepror (2011). Essa produção tem sido destinada para o consumo local e também exportada para outras regiões do país e exterior.

Existem aproximadamente 2000 espécies de peixes nos rios amazônicos, com cerca de 40 espécies comercializados nos mercados de Manaus, das quais somente 8 a 10 possuem grande expressão econômica.

1.2 Mercado de Subprodutos Pesqueiros de Manaus

Com o beneficiamento do pescado, os frigoríficos vêm introduzindo cada vez mais no mercado o pescado na forma de filé. Segundo (2011) estima que em Manaus a produção dos frigoríficos é de 450 toneladas ao ano visando o mercado brasileiro (paulista, principalmente), colombiano e venezuelano. Os produtos de pescado amazônicos são exportados congelados inteiros ou em forma de filés, concentrando-se principalmente nas espécies de bagres (Federação dos pescadores do Amazonas e Roraima, 1998).

Um dos principais entraves para o consumo do peixe é a falta de qualidade, diversidade e praticidade oferecidas pelos produtos comercializados, tendo o preço pouca significância. Desta forma, são realizadas estratégias alternativas que busquem a popularização e o aumento do consumo desses produtos, além da agregação de valor e melhora a rentabilidade das empresas. O mercado produtor vem melhorando as formas de processamento da carne do pescado, buscando não somente a evisceração ou filés, mas também produtos mais elaborados ou pré – prontos como empanados, salgados, defumados, enlatados, embutidos, reestruturados e fermentados, produtos de rápido preparo.

1.3 Peixes mais Comercializados no Amazonas

Um dos principais portos de desembarque no Amazonas é o da cidade de Manaus, que recebe grande parte dos peixes obtidos de forma extrativista. A população manauara é culturalmente descendente ou migrante do interior do Amazonas que tem como sua base alimentar o peixe, logo a procura e consumo por peixe é muito grande. A mudança nos hábitos sociais e o aumento do poder aquisitivo dos consumidores têm permitido o consumo de pescado já parcialmente ou inteiramente processado, que anteriormente era consumido *in natura* (Jesus et al, 2001). Os peixes processados mais vendidos nos supermercados de Manaus serão mostrados abaixo.

1.3.1 Aruanã - *Osteoglossum bicirrhosum*

O Aruanã pertence à família Osteoglossidae, que está subdividida em três subfamílias, Arapaiminae, Osteoglossinae e Heterotinae, sendo suas espécies encontradas na América do Sul, África, Austrália e Ásia. *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) (pirarucu), *Osteoglossum bicirrhosum* (Cuvier, 1829) (Aruanã Branco) e *Osteoglossum ferreirai* (Kanazawa, 1966) (Aruanã preto) são as três espécies desta família que ocorrem na América do Sul (Aragão, 1981). Quando adulto se alimenta de vegetais, moluscos, crustáceos, insetos, aracnídeos e peixes, sendo considerado um peixe essencialmente carnívoro e insetívoro (Aragão, 1986). Possui um hábito mais sedentário e por isto, suas capturas são mais expressivas quando as águas estão em baixa ou vazante, com picos de captura na seca.

O consumo de Aruanã, considerado regionalmente de “pirarucu do pobre”, vem crescendo na preferência do consumidor, sendo um provável substituto para o pirarucu, que após anos de exploração, tem hoje sua pesca proibida em todo o estado, com fins de preservação da espécie (Instrução Normativa N° 34, 2004; Instrução Normativa N° 01, 2005).

O Aruanã, assim como o Mapará, é comercializado *in natura* a valores muito baixos nos mercados populares da região, quando comparados àqueles dos entrepostos de pescado (Costa, 2006). As exportações registradas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - Ibama/Manaus para os anos de 2003 e 2004 movimentaram um total de R\$ 30.754.732,83, sendo 14,67% somente de Aruanã (R\$ 776.150,56) e Mapará (R\$ 3.735.919,03) (Ibama, 2005). Estas duas categorias já alcançaram o mercado nacional e aos poucos vão conquistando o internacional. Foram registradas exportações de Aruanã para a Itália e Bélgica, enquanto o Mapará para Holanda e Venezuela. No entanto, as exportações internacionais não chegam a uma tonelada/ano (Costa, 2006).

Os Aruanãs têm aparecido com uma frequência cada vez maior nos desembarques do estado do Amazonas. Do volume total deste pescado desembarcado entre os anos de 2001 e 2004, o município de Manaus foi responsável por 55,54%, seguido do município de Tefé com 17,12% e Manacapuru com 11,08% (Costa, 2009).

Os Guias de Comercialização para Pescado do município de Manaus revelaram que o Aruanã tem um promissor mercado consumidor. A captura deste pescado teve um aumento de 80,13% para o período em estudo e as exportações destes peixes para o mercado nacional, principalmente para região Sudeste, tem estimulado ainda mais seu extrativismo. Com um possível aumento na demanda por este tipo de pescado, é que aumenta a preocupação com a sobrepesca (Costa, 2009).

Apesar destes fatores, a exportação destes peixes para o mercado nacional tem estimulado ainda mais seu extrativismo, uma vez que não são encontrados cultivos destes peixes na região. Com o aumento da demanda do mercado nacional, principalmente pelo maior centro consumidor (região Sudeste), Ibama/AM registra que o Aruanã é o sétimo pescado mais exportado pelo Amazonas, com um volume de 339,74 t/ano, tendo as regiões Sudeste e Centro-Oeste como seus principais destinos, 92,29% e 6,04%, respectivamente (Costa et al, 2009).

As análises revelam que o Aruanã apresenta um bom rendimento para o filé, $29,15 \pm 1,48\%$ e $53,04 \pm 1,40\%$, respectivamente (Costa, 2006). Segundo Contreras-Guzmán (1994), a carcaça representa em torno de 62,6% do peso dos peixes, levando-se em consideração a destreza do filetador, da forma anatômica do corpo, do tamanho da cabeça e do peso das vísceras, pele e nadadeiras. Castro (1999) obteve 19,31% de proteína e 0,47% de gordura para o filé de Aruanã. Segundo (Carvalho, 1980), os valores de gordura no filé podem variar de acordo com a época do ano e o estágio de maturação sexual da categoria.

Características Comerciais:

- Carne considerada como “Pirarucu do Pobre”;
- Não a Criação em Cativeiro;
- Filé de aruanã 19,31% de proteína
- 30% de aproveitamento do peixe;
- 7º peixe Exportado sendo 14,67% (R\$ 776.150,56) ;
- Aumento de 80% na captura desta espécie;
- Kg do filé é Comercializado a R\$ 22,90

1.3.2 Mapará - *Hypophthalmus spp*

Os Maparás *Hypophthalmus spp.* (Valenciennes, 1840) são Siluriformes de porte médio, pertencentes a família Pimelodidae, com um gênero e três espécies (*H. marginatus*, *H. edentatus* e *H. fimbriatus*). É um peixe de interesse econômico, porém, da mesma forma que outros peixes lisos o consumo no Amazonas é baixo, devido a tabus alimentares, sendo a maioria da produção comercializada para outros estados do Brasil e outros países. As pescarias comerciais destes peixes na região ocorrem principalmente nos rios Amazonas, Negro, e Solimões, próximo das cidades de Codajás, Coari, Itacoatiara, Beruri, Manacapuru e Iranduba (Batista, com pess. citado por Cutrim, 2005). Segundo Alcântara Neto (1994), no lago Grande de Monte Alegre a safra do Mapará coincide com a enchente. Na Amazônia Central, a safra do Mapará ocorre entre os meses de fevereiro a agosto, época de cheia na região (Batista, com pess. citado por Cutrim, 2005).

A participação do Mapará no mercado de Manaus é em torno de 3% da produção total, mas seu filé congelado é muito comum nos supermercados da cidade; são muito explorados no baixo Amazonas. No mercado de Manaus são encontradas três espécies, as quais podem ser separadas por detalhes do formato do focinho, da nadadeira caudal e pela largura dos barbilhões (Santos et al, 2006).

Em um estudo realizado por Souza e Inhamuns (2011), onde se avaliou as dez espécies mais comercializadas nos mercados de Manaus, os maiores valores de rendimento para corpo limpo e filé sem pele, os cortes preferencialmente comercializados foram obtidos com o Mapará (*H. edentatus*).

Lourenço *et al.* (1999), ao processarem Mapará salgado seco, encontraram rendimento cárneo total de 64,76%, enquanto que Bicelli e Inhamuns (2002), ao processarem Mapará para defumação a quente, determinaram para corpo limpo e filé sem pele valores de 85±1% e 45±2% (Souza & Inhamuns, 2011).

Segundo Costa (2006), o Aruanã e o Mapará são duas categorias de peixes que se destacam dentre as 10 primeiras categorias mais produtivas do Estado do Amazonas. Segundo este autor, os dois reúnem características bioecológicas que os tornam viáveis para o cultivo, como aceitação pelo

mercado consumidor, bons rendimento de carne e composição química atraentes

O conhecimento do rendimento de filé é importante, pois são dados que geram uma atração comercial, impulsionando o consumo de uma espécie regional, Assim é necessário estudos para que não haja uma sobrepesca sobre estas espécies, comprometendo a reprodução. Um exemplo é o Mapará, que durante todo o ano apresenta altos índices de rendimento de cortes.

Características Comerciais:

- Segundo Souza e Inhamuns (2011) o mapará apresentou os maiores valores entre dez peixes, quanto a rendimento de carcaça e rendimento de filé;

- Rendimento de carcaça $85\pm 1\%$

- Filé sem pele valores de $45\pm 2\%$.

- Durante todo o ano apresenta altos índices de rendimento de cortes.

- Kg do filé é Comercializado a R\$ 14,70.

1.3.3 Surubim - *Pseudoplatystoma fasciatum*

O gênero *Pseudoplatystoma* abriga os maiores peixes da família Pimelodidae, da ordem dos Siluriformes, sendo encontrados nas principais bacias hidrográficas sul-americanas; regionalmente são conhecidos como “surubins” (Ramagosa et al., 2003). Sua distribuição inclui os maiores rios das bacias hidrográficas da América do Sul: o rio Paraná, Amazonas, Orinoco, São Francisco, entre outros (Burgess, 1989).

Acerca de sua taxonomia, por um longo período o gênero foi dividido em três espécies, quando recentemente um trabalho de revisão morfológica dividiu o grupo em oito espécies (Buitrago-Suárez e Burr, 2007). Posteriormente, a primeira filogenia molecular do gênero mostrou que este é composto por seis espécies (Torrico et al., 2009), sendo uma espécie encontrada na bacia do Rio Magdalena (*P. magdaleniatum*), uma na bacia do Rio Orinoco (*P. orinocoense*), uma na bacia do Rio São Francisco (*P. corruscans*), duas na bacia do Paraná (*P. corruscans* e *P. reticulatum*) e três na bacia do Rio Amazonas (*P. reticulatum*, *P. tigrinum* e *P. fasciatum*) (Ortiz, 2010)

O Surubim é um peixe de hábito alimentar estritamente piscívoro (Marques, 1993), podendo alcançar mais de 100 kg (Fowler, 1951), sendo que as fêmeas crescem mais do que os machos. Essa espécie migratória parece percorrer grandes distâncias no período reprodutivo (Sato e Godinho, 2003).

Kubtiza et al. (1998) afirmaram que praticamente todos os surubins disponíveis no mercado são provenientes da pesca comercial em rios e lagos e têm apresentado declínio dos estoques naturais devido à sobrepesca, o que faz com que o aumento do esforço de captura resulte em aumento do custo.

No Brasil, os surubins são peixes de grande valor comercial, considerados produtos nobres por apresentarem carne saborosa, com baixo teor de gordura e ausência de espinhas intramusculares, o que os tornam adequados aos mais variados preparos. Essas características atendem as preferências atuais e futuras do mercado de peixe e fazem da carne do Surubim um produto com grandes possibilidades de exportação (Kubitza et al., 1998). A carne branca, de consistência firme, sem mioespinhas e de sabor agradável, colocam esse peixe em posição de destaque para o mercado consumidor. Camargo e Petrere (2001) confirmam a importância dessa espécie na pesca artesanal devido ao seu alto valor de mercado.

Uma importante característica de interesse para a produção comercial é o rendimento de processamento. Crepaldi (2004) demonstrou rendimentos de carcaça de 66,9% e 70,9% em duas classes de peso estudadas, 1,5 e 2,7kg, respectivamente. Faria et al. (2006), avaliando peixes mais pesados, em média 12kg, encontraram rendimentos de carcaça de 71,63%. Os rendimentos de carcaça observados nesses trabalhos são compatíveis com a produção comercial, sendo semelhantes ao rendimento do bagre africano em 69,04% (Souza et al., 1999) e inferiores ao da tilápia do Nilo em 78,18% (Souza e Maranhão, 2001). Porém, quando se compara o rendimento de filé de ambas as espécies, o Surubim atinge valores de 49,16% (Crepaldi et al., 2004), superando o bagre africano em 46,28% assim como a tilápia do Nilo 36,50% (Faria et al., 2006).

Características Comerciais:

- Carne saborosa;
- Baixo teor de gordura;
- Ausência de espinhas intramusculares;

- Rendimentos de carcaça de 66,9% e 70,9%;
- Rendimento de Filé 49,16%;
- As características atendem as preferências atuais e futuras do mercado de peixe.
- Kg do filé é Comercializado a R\$ 22,90.

1.3.4 Pescada - *Plagioscion squamosissimus*

No Brasil a Pescada-branca *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) é encontrada principalmente na planície inundada do rio Amazonas, este peixe de coloração cinza-claro a prateada, com pequena mancha escura na base da nadadeira peitoral, pode atingir até 50 cm de comprimento sendo carnívoro, consumindo basicamente peixes, camarões e ocasionalmente insetos (Medeiros, 2006). As Pescadas do gênero *Plagioscion* são endêmicas de água doce da América do Sul, onde os membros estão originalmente distribuídos nos rios Magdalena, Amazonas, Orinoco, bacia do baixo Rio Paraná e rios das Guianas (Reis et al., 2003).

Como todo representante da família Sciaenidae, são caracterizados pela presença de dois espinhos na nadadeira anal, linha lateral contínua do opérculo até o final da nadadeira caudal, e escamas da linha lateral maiores que aquelas do restante do corpo; a nadadeira caudal é romboidal, com uma projeção mediana em forma de lança. Esta família é formada por cerca de 70 gêneros, principalmente marinhos e estuarinos, amplamente distribuído pelos oceanos, sendo cinco deles exclusivamente de água doce (Nelson, 2006); quatro gêneros ocorrem na Amazônia (*Petillipinnis*, *Plagioscion*, *Pachypops* e *Pachyurus*), com cerca de quatorze espécies (Santos et al, 2006).

As espécies de *Plagioscion* são piscívoras, comercialmente importantes e também consumidas pelo próprio pescador e exploradas na pesca esportiva. Do ponto de vista reprodutivo, a espécie *P. squamosissimus* apresenta fecundação externa, não é migradora e não apresenta cuidado parental (Reis et al., 2003; Lowe-McConnel, 1999).

Com relação ao comércio em Manaus, dados sobre o pescado da década de 90 foram analisados por Parente e Batista (2005) e mostraram que a Pescada branca (*Plagioscion* spp.) apresentou-se em 1995 entre os peixes de maior valor comercial (preço no varejo), depois do tambaqui (*Colossoma*

macropomum) e do pirarucu (*Arapaima gigas*), e igualada ao Tucunaré (*Cichla* spp.), usualmente considerado um pescado nobre e preferido pela população de maior poder aquisitivo (Galletti, 2009).

Características Comerciais:

- Carne saborosa;
- Alta aceitabilidade no mercado;
- É um peixe Comercialmente Importante;
- Em 1995 foi o peixe de maior valor comercial;
- Rendimento de Filé 44%;
- Kg do filé é Comercializado a R\$ 30,90.

1.3.5 Tucunaré - *Cichla monoculus*

O Tucunaré é uma espécie de peixe pertencente ao gênero *Cichla* sp. (Teleostei, Actinopterygii, Cichlidae), incluída entre as espécies nativas de grande importância para a pesca esportiva. Originário da Bacia Amazônica, é uma espécie de hábito alimentar carnívoro e tem demonstrado considerável eficiência no controle de peixes invasores em represas. Estas características, aliadas a excelência da qualidade da sua carne, tornam o Tucunaré potencialmente utilizável em piscicultura intensiva (Silva et al., 1980; Fontenele, 1948).

São relatadas quatro espécies de *Cichla* para a bacia do rio Negro: *Cichla temensis* Humboldt, 1821, *C. monoculus* Agassiz, 1831, *C. orinocensis* Humboldt, 1821 e *C. nigromaculata* Jardine, 1843, sendo que *C. monoculus* é citada com distribuição mais ampla na Bacia Amazônica (Braga, 1952; Kullander e Ferreira, 2006).

O Tucunaré possui uma coloração variada e uma mancha característica na cauda (*occelus*). A mandíbula protuberante típica deste gênero garante maior sucesso na captura de presas, com poucos gastos de energia (Motta, 1984). É um dos cinco peixes mais importantes do mercado de Manaus, com uma participação média de 9%, chegando em alguns períodos a cerca de 19% da produção total; além disso, é uma espécie muito freqüente, ocorrendo ao longo de todo o ano em todas as feiras. No mercado de Manaus são encontradas quatro espécies a *Cichla* sp., *Cichla orinocensis*, *Cichla monoculus* e *Cichla temensis* (Santos et al, 2006).

Souza e Inhamuns (2011) avaliaram as dez espécies mais comercializadas nos mercados de Manaus e o Tucunaré foi o que apresentou maior tamanho médio quando capturado no período da seca. Este estudo relatou ainda os seguintes valores para o processamento do Tucunaré: Corpo limpo com 61 a 63% de rendimento e Filé sem pele com 31 a 32% de rendimento, valores estes próximos ou superiores as demais espécies mais utilizadas no mercado de subprodutos de Manaus.

Características Comerciais:

- 5º Peixe mais importante no mercado local;
- Participação no mercado (9% a 19% da produção total);
- Maior tamanho médio no período da seca;
- Corpo limpo com 61 a 63% de rendimento;
- Filé sem pele com 31 a 32% de rendimento;
- Kg do filé é Comercializado a R\$ 27,90.

1.3.6 Tambaqui - *Colossoma macropomum*

O tambaqui *Colossoma macropomum* é um peixe cultivado em vários países da América do Sul como Brasil, Peru, Bolívia e Colômbia. Sob condições naturais realiza migração reprodutiva durante a estação chuvosa, entre novembro e fevereiro (VIEIRA et al., 1999).

A importância do crescimento da piscicultura na Amazônia e a conquista de novos mercados, particularmente o externo, dependem de sua vinculação ao processo de beneficiamento do pescado, para oferecer produtos que melhor atendam às necessidades e conveniência dos consumidores. Para isso, deve-se ressaltar a necessidade de atendimento rigoroso às normas higiênico-sanitárias, sendo imprescindível a adoção de um programa de análise de perigos e pontos críticos de controle (Paula, 2009).

Atualmente a produção amazonense de tambaqui em piscicultura está na ordem das 8 mil toneladas anuais representando como principal polo produtor as propriedades rurais localizadas no município de Rio Preto da Eva, Iranduba e Manacapuru, localizados num raio de cerca de 100 km da capital amazonense. Concomitantemente, pisciculturas de estados vizinhos como Rondônia e Roraima têm Manaus como um dos principais compradores de sua produção de tambaqui, com necessidade de deslocamento de cargas por mais

de 1000 km por meio de transporte fluvial e rodoviário. A produção nacional de tambaqui em piscicultura é da ordem de 45 mil toneladas por ano, sendo que os estados da região norte produzem juntos aproximadamente 22 mil toneladas anuais. Outros estados do centro-oeste, nordeste e sudeste são responsáveis pelo restante da produção. O tambaqui é responsável por aproximadamente 10% do total da produção nacional da piscicultura.

Características Comerciais:

- Peixe fresco inteiro, peixe congelado em postas, peixe congelado eviscerado;
- Valor do Kg do peixe em postas R\$ 17,79;
- Valor do Kg do peixe inteiro eviscerado (médio) R\$ 7,90.

1.3.7 Pirarucu – *Arapaima gigas*

Dentre as espécies de interesse comercial que atualmente estão sendo utilizadas na piscicultura se destaca o pirarucu, *Arapaima gigas*, endêmica da Bacia Amazônica com grande potencialidade devido as suas características zootécnicas peculiares como: excelente qualidade da carne desprovida de espinhos, grande aceitação pela população, rusticidade para o manejo, adaptação à respiração aérea e elevada taxa de crescimento, que pode chegar até aproximadamente 10 quilos no primeiro ano de criação (Bard & Imbiriba, 1986).

Segundo Venturieri & Bernadino (1999) a pesca extrativa do pirarucu no estado do Amazonas corresponde a 53% do total capturado na região norte e a captura nesta área tem sofrido drásticas reduções de 1.751 toneladas em 1984 para 207,51 toneladas em 1996.

Portanto, a criação do pirarucu será a saída natural para incrementar a produção de um recurso que tradicionalmente é explorado e consumido nesta região, além de ter uma grande demanda local e para outros mercados.

O rendimento em carne do pirarucu é de primeira qualidade, concedendo-lhe uma importância econômica de alto valor para o residente local que o comercializa em formas diferentes de processamento (seco salgado, salga e fresco). No passado fluíram as mantas salgadas com grande influência para os mercados europeus e também, pela sua majestade e

singularidade, como espécie ornamental sendo comercializado para todo o mundo (Chavéz, 2002; Ono et al., 2004).

Características Comerciais:

- Carne de excelente qualidade e aceitabilidade;
- Aproveitamento de carne entre 57% e 61%;
- Comercialização na forma de manta fresca, congelada, seco-salgada e defumada.
- Valor do Kg do peixe (filé) R\$ 25,90;

1.3.8 Dourada – *Brachyplatystoma rousseauxii*

A *Brachyplatystoma rousseauxii* é comumente conhecida como “Dourado” (Colômbia e Peru), “Dourada” (Brasil) ou como “Saltador” (Bolívia). (Lobato,2009), A dourada é um peixe predador, de topo de cadeia, e que precisa de grandes áreas, desde o Pará até aos Andes, para o desenvolvimento do ciclo de vida.

É uma espécie de porte grande (até 1,8m e 30kg), e difere dos demais peixes lisos pela coloração típica, sendo a cabeça de cor prateada e o corpo amarelo-dourado; barbilhões curtos e maxilar superior e inferior de comprimentos aproximadamente iguais. Um peixe cujo habitat natural são as águas brancas, mas também pode ser encontrado em rios de águas pretas, e habita principalmente o canal dos rios, sendo que os indivíduos jovens também são encontrados em áreas de várzea. (Lobato,2009)

A dourada empreende extensas migrações, deslocando-se desde o estuário até as cabeceiras do Amazonas e alguns afluentes, onde ocorre a desova. Seus ovos e as larvas são carregados rio abaixo até o estuário, que é o local de crescimento e a alimentação das formas jovens (SANTOS, 2006).

Está classificada, dentre os grandes bagres amazônicos, como uma das espécies mais pelágicas, já que normalmente é encontrada à meia água. Sua importância econômica é de pouca relevância no comércio de Manaus, mas é muito significativa na indústria de pescado para exportação (SANTOS, 2006).

Ainda que seja nítida a importância da dourada e da piramutaba para a economia amazônica, tanto como fonte de renda, quanto de proteína, especialmente para as populações humanas mais carentes (ribeirinhos), com base nos estudos realizados em 2004 (IBAMA,2004), pode-se afirmar que ainda não existem dados suficientes que viabilizem à determinação precisa da situação dos estoques na região, ou ainda se a pescaria, desde Belém até Iquitos, está sendo realizada sobre vários ou apenas um estoque pesqueiro.

No entanto, a conclusão do “Variabilidade Genética da Dourada e da Piramutaba na Bacia Amazônica” (BATISTA et al., 2005) demonstra que as dificuldades para a compreensão mais precisa sobre a ecologia populacional da piramutaba e da dourada ocorrem devido, principalmente, ao complexo ciclo de vida das mencionadas espécies, que está vinculada a diversos tipos de habitats aquáticos em bacias hidrográficas de pelo menos três países Amazônicos (Brasil, Peru e Colômbia).

No que se relaciona à genética, apesar das expectativas de uma variabilidade similar entre as duas espécies (dourada e piramutaba), observou-se maior variabilidade genética para a piramutaba e uma redução desta variabilidade para a dourada.

Estudos concluem que a calha, a leste de Manaus, detém uma mistura de indivíduos de dourada que constituem a variabilidade genética total da espécie. Para esta espécie, o rio Amazonas poderia ser considerado uma única macro-região.

No entanto, acima de Manaus, as macro-regiões poderiam ser centradas em locais de desembarque e limitadas pela foz dos principais afluentes, uma vez que cada afluente funciona como um reservatório de parte da diversidade das espécies.

Atualmente a piramutaba e a dourada são as espécies de bagres que podem ser consideradas como as mais importantes para a pesca artesanal e comercial na Amazônia brasileira, colombiana e peruana (Barthem e GOULDING, 1997), com inúmeras famílias na região dependendo, direta ou indiretamente, da atividade pesqueira sobre esses bagres

A pesca de bagres em toda a calha dos rios Solimões-Amazonas é uma atividade ligada principalmente à indústria pesqueira, representada pelos frigoríficos. Na época da safra de 2002 e entressafra de 2003, a renda bruta da captura de bagres na Amazônia foi por volta de R\$ 121,9 milhões. A atividade pesqueira oferece mercado de trabalho para cerca de 16.000 pescadores na região. Em 2003, a produção anual estimada de dourada foi de, aproximadamente, 17.000 toneladas, enquanto que a de piramutaba foi de 14.600 toneladas.

Os resultados demonstram também que a produção pesqueira de dourada, no estado do Amazonas, foi de 248.112,0 Kg, Por sua vez, no Pará a produção pesqueira de Dourada atingiu 3.203.706,0 Kg (IBAMA, 2003).

Características Comerciais:

- Carne saborosa;
- Baixo teor de gordura;
- Ausência de espinhas intramusculares;
- Alto aproveitamento de carcaça;
- Kg do filé é Comercializado a R\$ 24,90.

1.4 Identificações Genéticas de Subprodutos Pesqueiros

No mercado de produtos processados as identificações das espécies de peixes se tornam um problema quando as características externas são removidas pelo processamento. Assim, é relativamente fácil substituir uma espécie de alto valor por uma de baixo valor comercial e a falsificação de filés de peixe é muito comum pelos altos lucros que resulta da substituição de uma espécie mais desejável e maior valor por um peixe com menor valor comercial (Céspedes et al., 1999). Segundo Buck (2010), matérias recentes nos E.U.A chamam a atenção para incidentes envolvendo fraudes em restaurantes, onde espécies de frutos do mar de menor preço são comercializadas como espécies comercialmente mais caras. O autor cita também problemas com embalagens, em que água extra é adicionada ao mariscos para aumentar o peso do produto total.

Durante o período de nove anos de 1988 a 1997, o *National Marine Fisheries Service's Seafood* (NSIL) realizou inspeções rotineiras em produtos marinhos selecionados de forma aleatória, ficando comprovado que 37% dos peixes e 13% de outros frutos do mar (ex: crustáceos, algas comestíveis) eram rotuladas de forma errada pelos fornecedores (Seafood Science and Technology Society, 2011).

Existem situações em que novos nomes são atribuídos a um peixe, semelhantes ao de um peixe já popular, para impulsionar as vendas. Um exemplo desta prática é a Piracatinga (*Colophisus macropeterus*), que foi rebatizada no mercado consumidor regional e nacional como Douradinha, assim tendo boa aceitação (Reis, 2011).

Carvalho et al (2008) analisaram filés de Surubim da Bacia do Rio São Francisco, revelando 54% de fraude, sendo que o peixe anunciado como Surubim era na verdade uma espécie de menor valor, incluindo até filés de peixes marinhos (Carvalho et al, 2008). Os pesquisadores relataram ainda que híbridos de *P. corruscans* com sua congênere *P. reticulatum* (cachara) estão sendo vendidos a produtores como “Surubins puros”.

Relatos adicionais de inconsistências de rotulagens são comuns ao redor do mundo, como demonstram os exemplos a seguir.

Machado-Schiaffino et al. (2008) empregaram com eficiência um método com base em SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) do DNA mitocondrial (Região Controle), que foi possível discriminar 11 espécies de *Merluccius* (ordem Gadiformes). A aplicação deste método em 40 amostras congeladas de mercado mostrou uma discrepância em 21,2% nas rotulagens.

A metodologia de DNA barcode foi usada por Wong e Hanner (2008) para avaliar substituição em rotulagem de frutos do mar na região leste dos EUA e Canadá. Noventa amostras foram identificadas inequivocamente, com um percentual de fraude de 37%, sendo a espécie mais fraudada o Pargo vermelho - *Lutjanus campechanus*. Sete produtos rotulados erroneamente pertenciam a cinco espécies, cada uma de um gênero diferente. Os autores encontraram ainda uma curiosa fraude em que um sushi de Atum branco (o mais caro entre os sushis) era na realidade um tipo de Tilápia, cujo preço é substancialmente menor que o do Atum.

DNA barcode foi usado com sucesso por Barbuto et al. (2009) para analisar fraudes em comercialização de tubarões do gênero *Mustellus*, em que duas espécies (*M. mustellus* e *M. asterias*) podem ser rotuladas como “Palombo” na Itália. A análise revelou fraude de rotulagem em 78% das amostras analisadas (35 em 45 das amostras com rótulo errado).

Chen et al. (2009) desenvolveram um protocolo com base em sequências de DNA de Citocromo B e RFLP com a enzima *Hpa*II para avaliar fraudes em almondegas de peixes produzidas em Taiwan. O foco seria detectar substituição da espécie *Chanos chanos*, de alto valor comercial e aceitabilidade pelos consumidores, por espécies de baixo valor como as carpas *Hypophthalmichthys nobilis* e *Ctenopharyngodon idella*. Os resultados evidenciaram adulteração em uma amostra, em sete analisadas, sendo detectada a presença de carne da espécie *H. nobilis* misturada com a de *C. chanos*.

Von der Heyden et al. (2009) analisaram files de peixes congelados comercializados na Cidade do Cabo (África do Sul), usando sequências de 16S. Em 178 amostras testadas, 50% estavam rotuladas erroneamente, sendo *Argyrosomus* spp. o caso mais problemático (70 amostras, 77% de fraude). Outros casos de troca ocorreram envolvendo o Pargo vermelho *Lutjanus* (4 amostras, 100% de fraude), o Dourado *Coryphaena hippurus* (25 amostras, 21% de fraude), e a Barracuda *Spyraena* (2 amostras, 100% de fraude).

E o mais recente descoberta e com repercussão internacional foi a presença de carne de cavalo em hambúrgueres vendidos como carne bovina no Reino Unido e envolve uma longa lista de intermediários em diversos países europeus e também Carne de cavalo foi encontrada pela primeira vez em lasanhas à bolonhesa na Itália, fabricadas pela empresa Primia, na região da Bolonha (centro), segundo o ministério italiano da Saúde.

Com isso esse estudo visa à identificação de espécies de produtos processados utilizando a genética que é uma ferramenta 100% funcional e precisa, assim elaborando dados da situação em que se encontra esse mercado que cresce ano a ano.

1.5 DNA Barcode

O sistema de identificação molecular por Barcode genético foi proposto por Hebert et al. (2003) e consiste na utilização de uma pequena sequência de DNA mitocondrial (gene COI) para a discriminação de todas as espécies vivas do planeta como um sistema “bioidentificador” universal (Carvalho, 2008).

A necessidade de se identificar espécies de uma forma mais rápida e eficiente também está vinculada a uma série de situações relacionadas à biologia, desde a questão de saúde, de pragas da agricultura, identificação de espécies exóticas, monitoramento ambiental, manejo de fauna, no turismo, no controle de comércio de produtos biológicos e/ou organismos protegidos e de manejo de estoques (Hebert et al., 2003).

O principal pressuposto para a efetividade do *DNA Barcoding* é de que as divergências intraespecíficas sempre sejam menores que as interespecíficas. A monofilia recíproca das espécies seria o principal determinante para a existência deste pressuposto. De fato, diversos estudos já demonstraram a aplicação com sucesso do DNA *Barcoding* nos mais diversos grupos: mamíferos, aves, peixes, insetos e nemátodos (Ortiz, 2010). Estudos recentes demonstram que esta é a situação mais comum, embora existam exceções (Hurst e Jiggins, 2005)

A identificação inequívoca dos peixes, isto é, ovos, alevinos, adultos e seus produtos, é importante para diversas áreas e pode viabilizar, por exemplo, a detecção de fraude ou substituição de espécies em transações comerciais (Smith *et al.*, 2008), assistência na sustentabilidade e no manejo da pesca a longo prazo (Metcalf *et al.*, 2007) e ainda incremento da pesquisa em conservação na identificação de espécies crípticas (Hebert *et al.*, 2004).

2 JUSTIFICATIVA

O comércio nacional vem se destacando quanto a consumo interno de pescado que vem oferecendo produtos pesqueiros de forma diferenciada, há também uma crescente exportação destes subprodutos, logo o desejo do consumidor em adquirir produtos mais elaborados e práticos não pode ser

contido com produtos fraudados. Neste sentido, há uma necessidade de rotulagem confiável, onde o consumidor tenha total legitimidade nos que esta adquirindo, atendendo assim a normas estabelecidas segundo a portaria Nº 459, de 10 de setembro de 2010 do Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento e secretaria de defesa agropecuária, no Art. 14. Quanto à rotulagem, ANEXO I.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O presente estudo tem como Objetivo Geral testar a eficiência da ferramenta DNA barcode na identificação de subprodutos pesqueiros comercializados nos supermercados de Manaus das espécies mais comercializadas.

3.2 Objetivos Específicos

- Descrever e caracterizar as formas de comercialização de derivados pesqueiros em supermercados de Manaus;
- Avaliar o desempenho da ferramenta DNA *Barcoding* na identificação das espécies de peixes comercializadas na forma processada;

O ARTIGO CIENTIFICO**IDENTIFICAÇÃO DE FILÉS COMERCIALIZADOS NOS
SUPERMERCADOS DE MANAUS: USO DE DNA
BARCODE**

Marcos Sotero¹ & Iracilda Sampaio²

¹ Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia (PGRNA), Bolsista CNPQ, Rua Vera Paz, s/n Bairro Salé CEP 68035-110 - Santarém, PA. E-mail: marcossotero@gmail.com

² Universidade Federal do Pará - UFPA, Docente do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia (PGRNA), Departamento de Genética da UFPA, Coordenadora do Laboratório de Genética e Biologia Molecular. Alameda Leandro Ribeiro s/n, Bairro Aldeia, CEP 68.600-000, Bragança, Pará. E-mail: ira@ufpa.br.

RESUMO

O beneficiamento de pescado e sua comercialização na forma de filés favorece a substituição de espécies de alto valor comercial por outras de baixo valor, uma prática cada vez mais frequente na literatura. O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência da ferramenta DNA barcode usando o DNA Barcode com base em sequências de DNA de 652 pb da subunidade da citocromo c oxidase I (COI). Este segmento foi amplificado via PCR, sequenciando a 114 amostras de filés e picadinho pertencentes a 10 tipos de peixes, os mais comercializadas em Manaus. São eles o Pirarucu, Aruanã, Tambaqui, Tucunaré, Pescada Branca, Mapará, Dourada, Surubim, além de dois peixes marinhos, a Pescada Amarela e o Dourado. Em somente dois dos 10 tipos analisados foi detectada a substituição, que foram a Dourada e o Surubim. Nos casos em que a substituição foi detectada, não foi possível identificar precisamente qual espécie foi usada na substituição, mas é possível afirmar que não eram espécies proximoamente relacionadas (mesmo gênero, por exemplo), já que a similaridade no DNA foi inferior a 90% nos dois casos, tratando-se possivelmente de espécies de outras famílias de peixes. Este estudo foi um primeiro passo para conhecer melhor o quadro em que se encontram as rotulagens de pescados encontrados nos supermercados de Manaus, e serve como parâmetro para escolhas de espécies alvo de estudos futuros de autenticação de derivados pesqueiros por meio de ferramentas moleculares.

Palavras-chave: Filés de Peixes, Identificação genética, Barcode.

ABSTRACT

The fish processing favors the replacement of species of high commercial value for other low value, a practice increasingly common in the literature. This study used DNA barcode (COI) to analyze 114 samples of fillets and minced belonging to 10 kinds of fish, the most traded in Manaus: Pirarucu, Aruanã, Tambaqui, Tucunaré, Pescada Branca, Mapará, Dourada, Surubim, plus two marine fish, Pescada Amarela and Dourado. In only two of the 10 types analyzed substitution was detected, which were the Gold and Surubim. In both cases where the substitution was detected, it was not possible to identify precisely which species has been used in replacement, but it is clear that were not closely related species (same genus, for example), since the similarity in DNA was less than 90 % in both cases, possibly in the case of other species of fish families. This study was a first step to better understand the context in which they are the labeling of fish found in supermarkets of Manaus, and serves as a parameter choices for future studies of target species of fish derived authentication through molecular tools.

Keywords: Fish fillets, genetic identification, Barcode.

INTRODUÇÃO

Segundo dados da FAO (1997), os pescados perfazem 8,6% da produção global de alimentos, representando 15% do total de proteína de origem animal, sendo atualmente a quinta maior fonte de proteína, perdendo apenas para o arroz, produtos florestais, leite e o trigo. A produção mundial de pescado em 2008 foi de 159.149.103 t (FAO, 2010).

A população da região amazônica possui uma dependência quanto a pesca, logo é a maior consumidora de pescado do Brasil, segundo dados do relatório da Superintendência da Zona Franca de Manaus - Suframa (2003). Essa cultura alimentar foi trazida para os grandes centros urbanos, e, segundo dados do Sebrae (2008), o consumo no Amazonas é de 60 Kg de peixe por pessoa/ano, muito acima da média mundial (dados de 2006), estimada em 16,7 Kg/pessoa/ano. O consumo médio do Brasil, de 7 kg/habitante/ano, está muito abaixo dos 12kg recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (FAO, 2009).

Cerca de 160.000 t de peixes são comercializadas anualmente em Manaus, capital do Amazonas, segundo dados da Secretaria de Estado da Produção Rural do Amazonas – Sepror (2011). Com o beneficiamento do pescado, os frigoríficos vêm introduzindo cada vez mais no mercado o pescado na forma de filé. Segundo (2011) estima que em Manaus, a produção dos frigoríficos é de 450 toneladas ao ano visando o mercado colombiano, venezuelano e brasileiro (principalmente o paulista). Os produtos de pescado amazônicos são exportados, congelados inteiros ou em forma de filés, concentrando-se principalmente nas espécies de bagres (Federação dos pescadores do Amazonas e Roraima, 1998).

No mercado de produtos processados as identificações das espécies de peixes se tornam um problema quando as características externas são removidas pelo processamento. Assim, é relativamente fácil substituir uma espécie de alto valor por uma de baixo valor comercial e a falsificação de filés de peixe é muito comum pelos altos lucros que resulta da substituição de uma espécie mais desejável e maior valor por um peixe com menor valor comercial (Céspedes et al., 1999). Segundo Buck (2010), matérias recentes nos E.U.A

chamam a atenção para incidentes envolvendo fraudes em restaurantes, onde espécies de frutos do mar de menor preço são comercializadas como espécies comercialmente mais caras. O autor cita também problemas com embalagens, em que água extra é adicionada ao mariscos para aumentar o peso do produto total.

Como principal ferramenta utiliza-se o sistema de identificação molecular por Barcode genético, que foi proposto por Hebert et al. (2003), e consiste na utilização de uma pequena sequência de DNA mitocondrial (gene COI) para a discriminação de espécies. A necessidade de se identificar espécies de uma forma mais rápida e eficiente também está vinculada a uma série de situações relacionadas à biologia, desde a questão de saúde, de pragas da agricultura, identificação de espécies exóticas, monitoramento ambiental, manejo de fauna, no turismo, no controle de comércio de produtos biológicos e/ou organismos protegidos e de manejo de estoques (Hebert et al., 2003).

A ferramenta do DNA barcode foi empregada no presente estudo para analisar filés de peixes comercializados na cidade de Manaus.

MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foram coletadas amostras de filés e picadinho de peixes amazônicos nos principais supermercados de Manaus (Anexo II). Tomou-se o cuidado para que as amostras obtidas fossem de diferentes lotes. Todo o material foi fotografado e retirado de cada peça uma pequena amostra, o qual foi conservada em álcool etílico absoluto ou congelados até o momento da extração do DNA, que foi obtido conforme o procedimento descrito no Anexo III.

As espécies escolhidas foram as que apresentam um maior valor comercial e demanda de mercado.

O isolamento e amplificação das regiões genômicas foram realizados por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os iniciadores utilizados para COI - Citocromo Oxidase Subunidade I - foram aqueles do coquetel sugeridos por Ivanova *et al.* (2007) para peixes.

As reações de PCR foram realizadas com volume final de 25 μ l contendo os seguintes reagentes: 4 μ l de DNTPs (1,25 mM); 5 μ l de solução tampão (10X); 4 μ l de solução de $MgCl_2$ (25mM); 1 μ l de DNA; 0,25 μ l do primer L; 0,25 μ l do primer H; 0,20 μ l da enzima Taq polimerase (5U/ μ l), e água bidestilada estéril para completar o volume final da reação. Foram realizados testes com gradiente de temperatura para a escolha da melhor temperatura de hibridização dos primers.

Todas as amostras tiveram que passar por um teste de gradiente de temperatura, para que se descobrisse a temperatura ideal:

- Tambaqui - *Colossoma macropomum* (46°C)
- Mapará - *Hypophthalmus spp* (54°C)
- Pirarucu - *Arapaima gigas* (53°C)
- Dourado - *Coryphaena hippurus* (51°C)
- Dourada - *Brachyplatystoma rousseauxii* (51°C)
- Pescada amarela - *Cynoscion acoupa* (48°C)
- Surubim - *Pseudoplatystoma fasciatum* (50°C)
- Aruanã - *Osteoglossun bicirrhosun* (50°C)
- Tucunaré - *Cichla sp* (44°C)
- Pescada - *Plagioscion auratus* (50°C)

Os produtos de amplificação da PCR foram submetidos à reação de sequenciamento de DNA com o Kit *ABI Prism TM Dye Terminator Cycle Sequencing Reading Reaction (Applied Biosystems)*, seguindo-se de eletroforese no sequenciador automático ABI 3500 (*Applied Biosystems*).

Os segmentos de DNA amplificados foram visualizados em gel de agarose 1% corados com Gel Red.

As sequências obtidas de DNA foram editadas e alinhadas no programa BIOEDIT (Hall, 1999), alinhadas utilizando-se o Clustal W (Thompson et al.,1997). A identificação das espécies foi feita com base em sequencias de DNA do *Genbank*, por meio do programa BLAST, usando-se estimativas de divergência nucleotídica não corrigida pelo critério sugerido por Hebert *et al.* (2003), de divergência (D) igual ou menor que 1%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 e a Figura 1 resumizam as identificações obtidas na presente análise. As amostras de 01 a 04 e 97 a 100, rotuladas como tambaqui apresentaram uma similaridade de 100% com o *Colossoma macropomum*, ou seja, não se constatou erro neste produto. Ainda que o número amostral seja pequeno, esta análise mostrou-se uma ferramenta para identificação de produtos processados.

As amostras 05 a 09 e 66 a 91, referentes ao mapará conforme a rotulagem foram identificadas como sendo da espécie *Hypophthalmus marginatus*. As sequencias de *H. marginatus*, *H. edentatus* e *H. fimbriatus* foram geradas para o presente estudo em virtude de não existirem sequencias destas espécies no Genbank.

As amostras de 10 a 13, rotuladas como pirarucu, mostraram similaridade de 100% com *Arapaima gigas*, não sendo portanto detectada fraude para esta espécie.

As amostras 14 a 17 estavam rotuladas como Dourado, uma espécie marinha. A identificação foi precisa, com similaridade de 100% com *Coryphaena hippurus* – Dourado, mostrando ausência de fraude.

As amostras 18 a 23 e 113 e 114 estavam rotuladas como Pescada Amarela. A identificação molecular revelou ausência de fraude para este produto, pois foram identificadas pelo barcode como sendo da espécie *Cynoscion acoupa*, nome científico da Pescada Amarela.

Tabela 1. Resultados das amostras em comparação com Genbank.

Amostra	Forma do pescado	Rotulagem	Similaridade	Espécie Blast	Referência	Number for Blast
1 a 4	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2011	JN032695
5 a 9	Filé	Mapará	100%	<i>Hypophthalmus marginatus</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
10 a 13	Filé	Pirarucu	99%	<i>Arapaima gigas</i>	Lavoue,S et al 2007	AP009497.1
14 a 17	Filé	Dourado	99%	<i>Coryphaena hippurus</i>	Valdez-Moreno,M et al 2009	GU225592
18 a 23	Filé	Pescada Amarela	99%	<i>Cynoscion acoupa</i>	Ribeiro, 2012	JQ365312
24 a 34	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
35 a 37	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
38,39,29	Picadinho	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
40 a 48	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
49 a 52	Filé	Tucunaré	99%	<i>Cichla temensis</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
53 a 56	Filé	Tucunaré	96%	<i>Cichla sp.</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
57 a 65	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
66 a 91	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
92	Filé	Dourada	92%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Ardura et al 2010	FJ418760.1
93	Filé	Dourada	92%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Ardura et al 2010	FJ418760.1
94	Filé	Dourada	99%	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	Ardura et al 2010	FJ418764.1
95	Filé	Dourada	99%	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	Ardura et al 2010	FJ418764.1
96	Filé	Dourada	100%	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	Ortiz,M.F	GU570852.1
97 a 100	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2010	FJ418767.1
113 e 114	File	Pescada amarela	99%	<i>Cynoscion acoupa</i>	Ribeiro, 2012	JQ365312

As amostras 24 a 28 e 30 a 34 estavam rotuladas como Surubim. As sequencias de DNA para estes lotes não retornou qualquer identificação acima de 99% a partir do Genbank. A similaridade com *Pseudoplatystoma corruscans* e *P. fasciatum* foi de apenas 85%. Uma similaridade de 89% foi obtida com *Brachyplatystoma vaillanti*, a Piramutaba, o que também exclui a possibilidade de que os filés pertençam a esta espécie. Neste caso, confirma-se aqui um procedimento de substituição de filés de Surubim por espécies certamente de menor valor comercial.

As amostras 35 a 37 e 40 a 48, rotuladas como Aruanã mostraram uma similaridade de 100% com *Osteoglossum bicirrhosum*, logo não apresentaram inconsistência de rotulagem.

As amostras 49 a 52, rotuladas como Tucunaré apresentaram uma similaridade de 99% com o *Cichla temensis*, comumente chamado de Tucunaré-Paca. Por sua vez, as amostras 53 a 56 apresentaram similaridade de apenas 96% com o *Cichla sp.* Neste caso, existe a possibilidade de que os filés sejam realmente de Tucunaré, mas de espécies cujas sequências ainda não estão disponíveis no Genbank.

As amostras 57 a 65, referentes a pescada branca, mostrou uma similaridade de 99% com *Plagioscion auratus*, não havendo qualquer irregularidade de rotulagem.

Para as amostras rotuladas como Dourada encontrou-se três resultados. As amostras 92 e 93 resultou numa similaridade de apenas 92% com *Brachyplatystoma filamentosum* (Piraíba), que pertence ao mesmo gênero da dourada, *Brachyplatystoma rousseauxii*. As amostras 94 e 95 resultaram numa similaridade

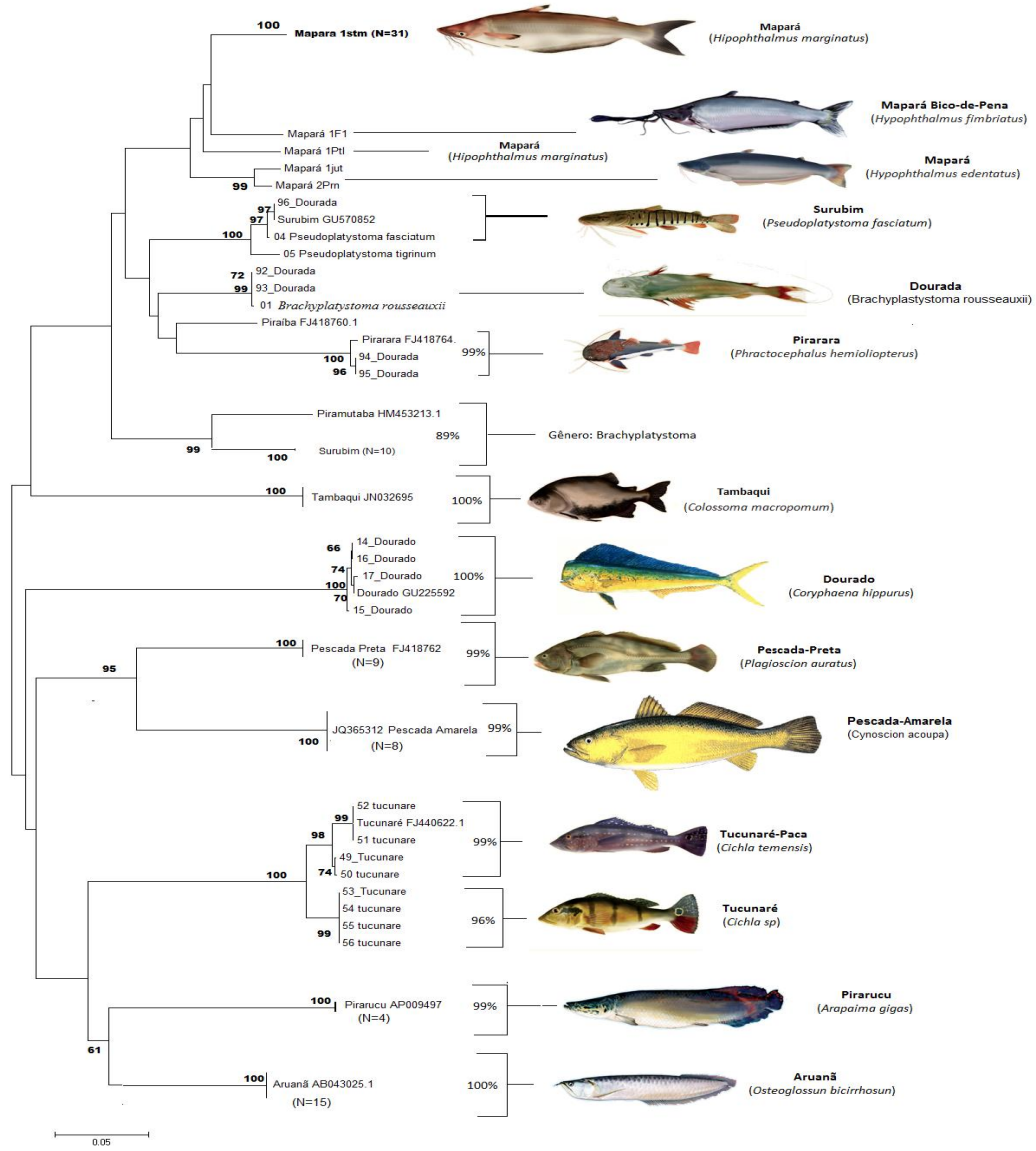
de 99% com *Phractocephalus hemiliopterus* (Pirarara), e a amostra 96 encontrou-se uma similaridade de 100% com *Pseudoplatystoma fasciatum*, podendo-se afirmar que a amostra 96 é de surubim. Concluindo-se, nenhuma das amostras rotuladas como Dourada eram de fato desta espécie.

CONCLUSÕES

Com base nas análises moleculares do presente estudo, em que foram analisadas 114 amostras de filés de peixes obtidos em supermercados de Manaus, podemos concluir que:

- 1) O marcador molecular COI foi eficiente para identificar as espécies.
- 2) Oito das 10 espécies comercializadas estavam rotuladas corretamente;
- 3) Foi detectado fraude na rotulagem de filés de Dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*) e de Surubim (*Pseudoplatystoma sp*);
- 4) Os índices de substituição de espécies aqui detectados são os menores já reportados na literatura.

Figura 01. Árvore de Neighbor-Joining condensada.



AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida, pela universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA e Universidade Federal do Pará - UFPA, campus Bragança.

BIBLIOGRAFIA CITADA

Buck E. H., **Seafood Marketing: Combating Fraud and Deception**. RL34124, July 2, 2010.

Céspedes, A., García, T., Carrera, E., González, I., Fernández, A., Hernández, P.E., & Martín, R. **J. Adur Outdoor Activities Centre** .AOAC *Int.* **82**, 903–907, 1999.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The state of world fisheries and aquaculture**, overview. INFOFISH Internacional, Kuala Lumpur, 5/97, p. 17-20, 1997.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department. **State of World Fisheries and Aquaculture**, 176p, 2010

Federação Dos Pescadores Do Amazonas E Roraima. **Perfil econômico do setor pesqueiro do Estado do Amazonas**. Manaus, 1998. 10p. (Relatório).

Hebert, P.D.N.; Cywinska, A.; Ball, S.L.; De Waard JR. **Biological identifications through DNA barcodes**. *Proc R Soc B*, v.270, p.313-322, 2003.

Sepror., Disponível em <http://www.sepror.am.gov.br/?a=noticia> acesso em 30 de Maio de 2011.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agostinho, A. A.; Julio JR, H. F.; Petrere JR, M. **Itaipu reservoir (Brazil): impacts of the impoundment on the fish fauna and fisheries.** In: COWX, I. G. (ed.). *Rehabilitation of freshwater fisheries.* Osney Mead, Oxford: Fishing News Books, 1994. p. 171-184.

Allan, J.D.; Flecker, A.S. **Biodiversity conservation in running waters: Identifying the major factors that threaten destruction of riverine species and ecosystems.** *BioScience*, v.43, p. 32-43, 1993.

Alcântara Neto, C.P. **Ecologia da pesca dos Maparás, *Hypophthalmus* spp. (Siluriformes, Hypophthalmidae), no lago Grande de Monte Alegre, Baixo Amazonas, Pará.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará/ Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém, Pará. 141pp.1994.

Aragão, L.P. **Contribuição ao estudo da biologia do Aruanã, *Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1929 (Osteichthyes – Osteoglossiformes), do Lago Januacá, Estado do Amazonas, Brasil.** II Alimentação na fase adulta. *Ciênc. Agron.*, Fortaleza, n17, v2, p.113 – 226, 1986.

Aragão, L.P. **Desenvolvimento embrionário e larval, alimentação e reprodução do Aruanã, *Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli 1829, do Lago Januacá – Amazonas, Brasil.** Manaus.. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas).

Curso de Pós-graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, FUA/INPA.1981.

Avise, J. C. 1994. **Molecular markers, natural history and evolution**. Chapman e Hall, Inc., USA. 511 p.

Barbutto, M., Galimberti, A., Ferri, E., Labra, M., Malandra, R., Galli, P., et al. **DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: The Italian case of “palombo” (*Mustelus* spp.)**. Food Research International, 43(1), 376–381. 2010.

BARD, J.; IMBIRIBA, E.P. **A Piscicultura do pirarucu, Arapaima gigas**. EMBRAPA Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, Belém , 52. 17p, 1986.

BARTHEM, R. B.; GOULDING, M. **Os bagres balizadores: ecologia, migração e conservação de peixes amazônicos**. Brasília: Sociedade Civil Mamirauá, CNpq, 1997.

Bicelli, B.C.; Inhamuns, A.J. 2002. **Physicochemical and sensory characterization of mapará (*Hypophthalmus* spp.) smoked**. In: *XI Congresso de Iniciação Científica da UFAM*, Universidade Federal do Amazonas, Manaus - AM. (in Portuguese).

Bowen, B. W.; Meylan, A.B. and Avise, J.C. 1991. **Evolutionary distinctiveness of the endangered Kemp’s Ridley sea turtle**. Nature 352:709-711.

Braga, R. A. **Ninhos de Tucunarés *Cichla temensis* Humboldt e *Cichla ocellaris* Bloch e Schneider (Actinopterygii, Cichlidae).** Revista Brasileira de Biologia, v. 12, p. 273-278, 1952.

Buck E. H., **Seafood Marketing: Combating Fraud and Deception.** RL34124, July 2, 2010.

Buitrago–Suárez U.A., Burr, B.M. **Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species.** *Zootaxa*, v.1512, p.1-38, 2007.

Burgess, W.E. **An atlas of freshwater and marine catfishes: a preliminary survey of the Siluriformes.** Neptune City: TFH Publications, 1989. 784p.

Camargo, S.A.F.; Petrere. Jr. M. **Social and Financial aspects of the artisanal fisheries of Middle São Francisco River, Minas Gerais, Brazil.** *Fish Manag Ecol*, v.8, p.163-171, 2001.

Carvalho, D.C.; Seerig, A.; Melo, D.C.; Sousa, A.B.; Pimenta, D.; Oliveira, D.A.A. **Identificação molecular de peixes: o caso do Surubim (*Pseudoplatystoma* spp.).** Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.32, n.4, p.215-219, out./dez. 2008

Carvalho, F.M. **Composição química e reprodução do Mapará (*Hypophthalmus edentatus* Spix, 1829) do lago do Castanho, Amazonas (Siluriformes, ypophthalmidae).** Acta Amazônica, Manaus, v 10, n 2, p. 379 – 389, 1980.

Carvalho, D.C.; Seerig, A.; Melo, D.C.; Sousa, A.B.; Pimenta, D.; Oliveira, D.A.A. **Identificação molecular de peixes: o caso do Surubim (*Pseudoplatystoma* spp.).** Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.32, n.4, p.215-219, out./dez. 2008

Castro, F.C.P. **Produção e estabilidade durante estocagem de concentrado protéico de peixe (piracuí) de acari-bodó, *Pterygoplichthys multiradiatus* (Honcock, 1928) e Aruanã, *Osteoglossum bicirrhosum* (Vandelli, 1929).** Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos). Universidade Federal do Amazonas. Manaus/AM. 1999.

Céspedes, A., García, T., Carrera, E., González, I., Fernández, A., Hernández, P.E., & Martín, R. **J. Adur Outdoor Activities Centre .AOAC Int. 82, 903–907, 1999.**

Chamberlain JS, Gibbs, RA, Ranier JE, Phi Nga Nguyen PN and Caskey CT. Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. Nucleic Acids Research 16: 11141-11156. 1988.

CHAVÉZ, J.D.A. **Plano de Manejo de Paiche em las Cochas de Punga.** Programa Integral de Desarrollo y Conservación, Ed.Ceta. Iquitos, Peru. 2002.

Chen, Y.J.; Huang, K.M.; Jen, H.C.; Su, M.W.; Liu, S.M.; Hwang, D.F. **Bighead Carp Meat Adulterated in Commercial Milkfish Ball Products**. Journal of Food and Drug Analysis, 17: 178-182. 2009.

Costa, T.V. **Identificação de novas espécies com potencial para a criação em cativeiro: pescado capturado no estado do Amazonas**. 2006. 65f. Dissertação (Mestrado em produção animal). Programa de pós-graduação em zootecnia, UFRRJ/INPA.

Costa. T.V., Silva. E.C.S., Oshiro. L.M.Y. **O potencial do Aruanã *Osteoglossum bicirrhosum* (Vandelli, 1829) (Osteoglossiformes, Osteoglossidae) para a criação em cativeiro**. Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Sociais e Aplicadas e Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Estação de Biologia Marinha vol. 39(2). pg437 – 444. 2009.

Crepaldi, D.V. **Avaliação da técnica de ultra-sonografia como indicador de rendimento de carcaça e biometria em Surubim (*Pseudoplatystoma spp.*)**. 2004. 39p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 2004.

Ehrlich, P.; Ehrlich, A. **The value of biodiversity**. Ambio, v. 21, p. 219-226, 1992.

Eyo, A.A. **Carcass composition and filleting yield of tem species from Kainji Lake, Proceedings of the FAO expert consultation on fish technology in Africa.** FAO Fish. Rep.,Stockoholm, v.467, suppl., p. 173 – 175, 1993.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The state of world fisheries and aquaculture**, overview. INFOFISH Internacional, Kuala Lumpur, 5/97, p. 17-20, 1997.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department. **State of World Fisheries and Aquaculture**, 176p, 2010.

FAO – Fisheries and aquaculture department, Japan, 2009. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_japan/en>. Acesso em: 15 set. 2011.

Faria, P.M.C.; Teixeira, E.A.; Crepaldi, D.V.; Ribeiro, L.P.; Melo, D.C.; Sousa, A.B.; Aguiar, T.R.M.L.; Costa, F.A.A.; Reis, M.A.; Morais, V.E. **Rendimento de carcaça do surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) em diferentes classes de peso.** In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 43, 2006, João Pessoa, PB. Anais ... CD-ROM. João Pessoa: SBZ, 2006.

Federação Dos Pescadores Do Amazonas E Roraima. **Perfil econômico do setor pesqueiro do Estado do Amazonas.** Manaus, 1998. 10p. (Relatório).

Ferraris, J. D., & Palumbi, S. R. (Eds.). **Molecular Zoology. Advances, Strategies, and Protocols**. Wiley-Liss, New York. In: Sites, J. W.; Fitzsimmons, N. N., Silva; N. J. & Cantarelli, V. H. 1999. **Conservation Genetics of the Giant Amazon River Turtle (*Podocnemis expansa*; Pelomedusidae) – Inferences From Two Classes of Molecular Markers**. *Chelonian Conservation and Biology*. pg454-463. 1996.

Fontenele, O. **Um caráter sexual secundário extragenital nos Tucunarés ctnopterygii, Cichlidae**). *Revista Brasileira de Biologia*, v.8, p.185-188, 1948.

Galletti, E.S. **distribuição da variabilidade genética da Pescada, *Plagioscion squamosissimus* (heckel, 1840) na calha do rio Amazonas**. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional De Pesquisas Da Amazônia – INPA. Manaus, Amazonas. 2009.

Goulding, M. **The fishes and the forest, explorations in Amazonian natural history**. University of California Press, 1980, 280 p.

Hastein, T., Hill, B. J., Berthe, F., & Lightner, D. V. (2001). **Traceability of aquatic animals**. *Reviews of Science and Technology*, 20(2), 564–583.

Hebert, P.D.; Penton, E.H.; Burns, J.M; Janzen, D.H.; Hallwachs, W. **Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator***. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.101, p.14812-14817, 2004.

Hebert, P.D.N.; Cywinska, A.; Ball, S.L.; De Waard JR. **Biological identifications through DNA barcodes**. *Proc R Soc B*, v.270, p.313-322, 2003.

Hilsdorf, A.W.S.; Resende, E.K.; Marques, D.K.S. **Genética e Conservação de Estoques Pesqueiros de Águas Continentais no Brasil: Situação Atual e Perspectivas**. Corumbá: Embrapa. 2006. 44p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 86).

Hurst, G.D.; Jiggins, F.M. **Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts**. *Proc Biol Sci*, v.272, p.1525-1534, 2005.

Ibama., Disponível em www.ibama.gov.br acesso em 30 de maio de 2011.

IBAMA. **Bases para o manejo da pesca dos grandes bagres migradores / Genética populacional das espécies de bagres migradores: siluriformes, pimelodidae / Projeto Manejo dos Recursos Naturais da Várzea**. Manaus: IBAMA/PROVÁRZEA, Fevereiro de 2004.

Ivanova, N.V., Dewaard, J.R., Hebert, P.D.N. An inexpensive, automation friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 998–1002. 2007.

Jesus, R.S. Lessi,e. Filho, A.T., **estabilidade química e microbiológica de “minced fish” de peixes amazônicos durante o congelamento.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 21(2): 144-148. 2001

Kubitza, F. Campos, J.L.; Brum, J.A. **Surubim: produção intensiva no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda.** Panor Aquicult, v.49, p.25-32, 1998.

Kullander, S. O.; Ferreira, E. J. G. **A review of the South American cichlid genus Cichla, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae).** Ichthyology Explorer Freshwaters, v. 17, n. 4, p. 289-398, 2006.

Lobato, A.B. **A EXPLOTAÇÃO PESQUEIRA DOS GRANDES BAGRES MIGRADORES NA REGIÃO AMAZÔNICA E A RESPONSABILIDADE DO ESTADO POR DANO AMBIENTAL TRANSFRONTEIRIÇO.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Amazonas – UEA. Manaus, Amazonas. 2009.

Lourenço, L.F.H.; Fernandes, G.M.L.; Cintra, I.H.A. 1999. **Physical, chemical and microbiological features marará *Hypophthalmus edentatus* Spix, 1829 salted and dried in solar,** p. 314-321. In: Anais do XI CONBEP e do I CONLAEP v.1. Recife. (in Portuguese).

Lowe-McConnell, R.H. **Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais.** São Paulo: Edusp, 534p. 1999.

Machado-Schiaffino, G.; Martinez, J. L.; Garcia-Vazquez E. **Detection of Mislabeling in Hake Seafood Employing mtSNPs-Based Methodology with Identification of Eleven Hake Species of the Genus Merluccius.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2008, Vol.56, 5091–5095.

Markoulatos, P., Siafakas, N. & Moncany, m. multiplex polymerase chain reaction: a practical approach: **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 51, 47-51, 2002.

Marques, E.E. **Biologia reprodutiva, alimentação natural e dinâmica da nutrição do pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Pimelodidae) no alto rio Paraná.** 1993. 104f. Dissertação Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1993.

Medeiros, I.M.; Magalhães. K.D.; Costa. S.A.G.; Mendonça. M.C.F.B.; Costa. M.L.; Junior. A.M.G.; Fernandes. M.A.; Souza. I.M.M.; Nascimento. R.S.S. **Reprodução de fêmeas de Pescada-branca (*Plagioscion squamosissimus*) Heckel, 1840 da Lagoa do Piató no município de Assú. Rio Grande do Norte, Brasil.** 2006.

Metcalf, J.L.; Pritchard, V.L.; Silvestri, S.M.; Jenkins, J.B.; Wood, J.S.; Cowley, D.E.; Evans, R.P.; Shiozawa, D.K.; Martin, A.P. **Across the great divide: genetic forensics reveals misidentification of endangered cutthroat trout populations.** *Mol Ecol*, v.16, p.4445-4454, 2007.

MMA, **Instrução normativa no. 05**, de 21 de maio de 2004. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Ministério do Meio Ambiente, 2004. p.136-142.

Motta, P. J., 1984. **Mechanics and functions of jaw protrusion in teleost fishes: a review**. Copeia, 1: 1-18.

Nelson J. S. 2006. Fishes of the world. 4th ed. John Wiley & Sons, New York. 601 pp.

ONO, E. A., HALVERSON, M. R., KUBITZA, F., 2004. **Pirarucu, o gigante esquecido**. Revista Panorama da Aqüicultura. v.14, n 81, p. 14 - 25, 2004.

Ono, E.A. Cultivar peixes na Amazônia: possibilidade ou utopia? **Panorama da Aqüicultura**. Brasil: Rio de Janeiro, v. 15, n. 90, 2005.

Ortiz, M.F. **Validação do *dna barcoding* como identificador de espécies: um estudo de ampla amostragem com o gênero *Pseudoplatystoma* (siluriformes; pimelodidae) na Amazônia**. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas na Amazônia – INPA. Manaus, Amazonas.73pp. 2010.

PAULA, F.G. de. **Desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*), de pirapitinga (*Piaractus brachypomum*), e do híbrido tambatinga (*C. macropomum* x *P. brachypomum*) mantidos em viveiros fertilizados, na fase de engorda**. 2009. 57p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Parente, V. de M. & Batista, V. da S. 2005. **A organização do desembarque e o comércio de pescado na década de 1990 em Manaus, Amazonas.** *Acta Amazônica*. 35(3): 375 – 382.

Reis, Mário Lúcio. **Crescimento do consumo da douradinha em Manaus e no Brasil aumenta matança de botos.** *Acrítica*, Manaus. 20 de maio de 2011. Entrevista concedida a Elaíze Farias.

Reis, R.E.; Kullander, S.O. & Ferraris JR., C.J.. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America.** Porto Alegre. EDIPUCRS, 742p. 2003.

ROCHA, I. P.; ROCHA, D. M. **Panorama da produção mundial e brasileira de Pescados, com ênfase para o segmento da aquicultura.** 2009. Disponível em: <<http://www.abccam.com.br>>. Acesso em 01 novembro 2011.

Romagosa, E., Paiva, P., Andrade-Talmelli, E.F., Godinho, H.M. **Biologia reprodutiva de fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (teleostei, siluriformes, pimelodidae), mantidas em cativeiro.** *Bol Inst Pesca*, v.29, p.151-159, 2003.

Santos, G.M.; Ferreira, E.J.G.; Zuanon. J.A.S. **Peixes comerciais de Manaus.** Manaus.Ibama/AM, ProVárzea, 2006.

Sato, Y.; Godinho, H.P. **Migratory fishes of the São Francisco River**. In: Carolsfeld J, Harvey B, Ross C, Baer A (ed.). Migratory fishes of South America. Victoria, BC, Canada: World Fisheries Trust, 2003. p.195–231.

Sepror., Disponível em <http://www.sepror.am.gov.br/?a=noticia> acesso em 30 de Maio de 2011.

Seafood Science and Technology Society, Disponível em: <http://sst.ifas.ufl.edu/22ndAnn/file08.pdf>; o acesso foi realizado em 30 de maio de 2011.

Silva, J.W.B.; Chacon, J.O.; Santos, E.P. **Curva de rendimento do Tucunaré *pinima Cichla temensis* (Humboldt, 1833), do açude público “Estevam Marinho”(Curemas, Paraíba, Brasil) (Pisces, actinopterygi Cichlidae)**. Revista Brasileira de Biologia, v.40, p.203-206, 1980.

Smith, P.J., McVeagh, S.M., Steinke, D. **DNA barcoding for the identification of smoked fish products**. J Fish Biol, v.72, p.464-471, 2008.

Smith, N. H.. **A pesca no Rio Amazonas**. INPA/CNPq, Manaus/Brasília, Brasil, 154pp 1979.

Souza, M.L.R., Maranhão, T.C.F. **Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal.** *Acta Sci*, v.23, p.897-901, 2001.

Souza, M.L.R.; Lima S, Furuya WM, Pinto AA, Loures BTRRL, Povh JA. **Estudo de carcaça do bagre africano (*Clarias gariepinus*) em diferentes categorias de peso.** *Acta Sci*, v.21, p.637-644, 1999.

Souza. A.F.L.; Inhamuns. A.J. **Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil.** *Acta Amazonica*. vol. 41(2) 2011

SUFRAMA. **Potencialidades Regionais:** estudo de viabilidade econômica. *Piscicultura*. Sumário Executivo, 2003, 21p.

Torrice, J.P.; Hubert, N.; Desmarais, E.; Duponchelle, F.; Rodriguez, J.N.; Montoya Burgos, J.; Davila, C.G.; Carvajal Vallejos, F.M.; Grajales, A.A.; Bonhomme, F.; Renno, J.F. 2009. **Molecular phylogeny of the genus *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1862): Biogeographic and evolutionary implications.** *Mol. Phylogenet. Evol.*, 51(3):588-594.

VENTURIERI, R.; BERNARDINO, G. **Pirarucu, Espécie ameaçada pode ser salva através do cultivo.** *Revista Panorama da Aqüicultura*, v. 9, n. 53, p. 13-21, 1999.

Von der Heyden, S.; Barendse, J.; Seebregts A.J.; Matthee, C.A. Misleading the masses: detection of mislabelled and substituted frozen fish products in South Africa. *ICES Journal of Marine Science*, 2009, 67: 176–185.

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 Science and Technology*, 20(2), 379–384. 2001.

Wong, E.H.K.; Hanner, R.H. **DNA barcoding detects market substitution in North American seafood.** *Food Research International*, Vol. 41, (2008), 828–837.

ANEXO I – Portaria que regulamenta a rotulagem de pescado

Portaria Nº 459, de 10 de setembro de 2010 do Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento e secretaria de defesa agropecuária, no Art. 14. Quanto à rotulagem, aplica-se a regulamentação específica e devem ser considerados, ainda, os seguintes requisitos:

I- o nome do produto deve ser composto da espécie e das suas formas de apresentação e conservação;

a) permite-se a indicação do nome comum da espécie, em substituição ao termo "Peixe" ou a sua indicação como apostro explicativo, logo abaixo da denominação de venda do produto;

b) o nome comum da espécie deve ter referência técnica reconhecidamente aceita, a exemplos do Catálogo da INFOPESCA e do Fishbase.org;

c) é dispensável o uso do termo "Inteiro" na denominação de venda do peixe não submetido a evisceração; e

d) permite-se a indicação das formas de apresentação do produto, a exemplo de com ou sem cabeça, como apostro explicativo, logo abaixo da denominação de venda.

II- na rotulagem deve ser indicada uma expressão caracterizando que o produto congelado deve ser mantido a uma temperatura de - 18°C (dezoito graus Celsius negativos) ou inferior;

III- permite-se o emprego do termo "supergelado", como sinônimo de congelado, na designação de venda do produto, desde que a fase de congelamento atenda os requisitos indicados no art. 3º, inciso II, deste regulamento;

IV- na rotulagem dos produtos elaborados com as espécies *Ruvettus pretiosus*, conhecida como enchova negra e peixe prego, bem como o *Lepidocybium flavobrunneum*, identificado como peixe escolar, causadores de distúrbios gastrointestinais, deve constar uma expressão de alerta que informe ao consumidor sobre a forma de preparo, bem como sobre os riscos relacionados com os efeitos gastrointestinais adversos.

O nome científico da espécie deve acompanhar o nome comum no rótulo;

V- dizeres alusivos a classificação do produto congelado somente poderão constar na rotulagem, quando devidamente aprovado pelo órgão competente com base em legislação específica; e

VI- quando for utilizado corante na ração de peixe de cultivo, desde que obtida a aprovação do órgão competente, deve constar na rotulagem expressão de alerta que informe a coloração artificial, conforme disposto em legislação específica.

Anexos II – Tabela completa das amostras

Amostra	Forma do pescado	Rotulagem	Similaridade	Espécie Blast	Referência	Number for Blast
1	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2011	JN032695
2	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2011	JN032695
3	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2011	JN032695
4	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2011	JN032695
5	Filé	Mapará	100%	<i>Hypophthalmus marginatus</i>	Lab. Da Dr. Simoni	-
6	Filé	Mapará	100%	<i>Hypophthalmus marginatus</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
7	Filé	Mapará	100%	<i>Hypophthalmus marginatus</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
8	Filé	Mapará	100%	<i>Hypophthalmus marginatus</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
9	Filé	Mapará	100%	<i>Hypophthalmus marginatus</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
10	Filé	Pirarucu	99%	<i>Arapaima gigas</i>	Lavoue,S et al 2007	AP009497.1
11	Filé	Pirarucu	99%	<i>Arapaima gigas</i>	Lavoue,S et al 2007	AP009497.1
12	Filé	Pirarucu	99%	<i>Arapaima gigas</i>	Lavoue,S et al 2007	AP009497.1
13	Filé	Pirarucu	99%	<i>Arapaima gigas</i>	Lavoue,S et al 2007	AP009497.1
14	Filé	Dourado	99%	<i>Coryphaena hippurus</i>	Valdez-Moreno,M et al 2009	GU225592
15	Filé	Dourado	100%	<i>Coryphaena hippurus</i>	Valdez-Moreno,M et al 2009	GU225585
16	Filé	Dourado	99%	<i>Coryphaena hippurus</i>	Valdez-Moreno,M et al 2009	GU225592
17	Filé	Dourado	100%	<i>Coryphaena hippurus</i>	Valdez-Moreno,M et al 2009	GU225585
18	Filé	Pescada Amarela	99%	<i>Cynoscion acoupa</i>	Ribeiro,2012	JQ365312

19	Filé	Pescada Amarela	99%	Cynoscion acoupa	Ribeiro,2012	JQ365312
20	Filé	Pescada Amarela	99%	Cynoscion acoupa	Ribeiro,2012	JQ365312
21	Filé	Pescada Amarela	99%	Cynoscion acoupa	Ribeiro,2012	JQ365312
22	Filé	Pescada Amarela	99%	Cynoscion acoupa	Ribeiro,2012	JQ365312
23	Filé	Pescada Amarela	99%	Cynoscion acoupa	Ribeiro,2012	JQ365312
24	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
25	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
26	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
27	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
28	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
30	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
31	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
32	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
33	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
34	Filé	Surubim	89%	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Ardura et al 2010	HM453213.1
35	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
36	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
37	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
38	Picadinho	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
39	Picadinho	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1

29	Picadinho	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
40	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
41	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
42	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
43	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
44	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
45	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
46	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
47	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
48	Filé	Aruanã	100%	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	Inoue JG et al 2001	AB043025.1
49	Filé	Tucunaré	99%	<i>Cichla temensis</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
50	Filé	Tucunaré	99%	<i>Cichla temensis</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
51	Filé	Tucunaré	100%	<i>Cichla temensis</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
52	Filé	Tucunaré	100%	<i>Cichla temensis</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
53	Filé	Tucunaré	96%	<i>Cichla sp.</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
54	Filé	Tucunaré	96%	<i>Cichla sp.</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
55	Filé	Tucunaré	96%	<i>Cichla sp.</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
56	Filé	Tucunaré	96%	<i>Cichla sp.</i>	Ardura et al 2010	FJ440622.1
57	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
58	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762

59	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
60	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
61	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
62	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
63	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
64	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
65	Filé	Pescada	99%	<i>Plagioscion auratus</i>	Ardura et al 2010	FJ418762
66	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
67	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
68	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
69	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
70	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
71	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
72	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
73	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
74	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
75	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
76	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
77	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
78	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	

79	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
80	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
81	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
82	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
83	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
84	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
85	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
86	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
87	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
88	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
89	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
90	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
91	Filé	Mapará	100%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Lab. Da Dr. Simoni	
92	Filé	Dourada	92%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Ardura et al 2010	FJ418760.1
93	Filé	Dourada	92%	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Ardura et al 2010	FJ418760.1
94	Filé	Dourada	99%	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	Ardura et al 2010	FJ418764.1
95	Filé	Dourada	99%	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	Ardura et al 2010	FJ418764.1
96	Filé	Dourada	100%	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	Ortiz,M.F	GU570852.1
97	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2010	FJ418767.1
98	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2011	JN032701.1

99	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2010	FJ418767.1
100	Posta	Tambaqui	100%	<i>Colossoma macropomum</i>	Ardura et al 2010	FJ418767.1
113	File	Pescada amarela	99%	<i>Cynoscion acoupa</i>	Ribeiro,2012	JQ365312
114	File	Pescada amarela	99%	<i>Cynoscion acoupa</i>	Ribeiro,2012	JQ365312

Anexo III – Protocolo de Extração de DNA

A extração de DNA total foi realizada usando o seguinte protocolo do Kit Wizard, da Promega, como descrito abaixo:

1. Colocar em um tubo *Falcon* de 50ml, 60µl de Solução EDTA 0.5M (Ph 8.0) e 250 µl *Nuclei Lysis Solution*. Manter na geladeira (a solução ficará turva depois de gelada).
2. Adicionar cerca de 50 mg de tecido fresco ou preservado em etanol em micro-tubo de 1,5 ml (em caso de tecido preservado em álcool, realizar previamente duas lavagens com 600µl de água destilada por 2 minutos a 13.000rpm, a cada lavagem, trocar a água dos tubos).
3. Adicionar 300µl da solução gelada de EDTA/*Nuclei Lysis Solution* do passo 1, dentro de micro-tubos de 1.5ml com o tecido.
4. Acrescentar 3µl de *RNase Solution* e inverter o tubo de 3-5 vezes. Incubar os tubos na estufa a 37 °C por 30 minutos. Retirar os tubos da estufa e aguardar 5 minutos para prosseguir;
5. Adicionar 5µl de Proteinase K e incubar por no mínimo 3 horas a 55 °C em *termomixer* ou banho Maria. Agitar os tubos no vortex a cada hora. Certificar-se da total dissolução do tecido antes de prosseguir;
6. Em temperatura ambiente adicionar 100µl de *Protein Precipitation Solution* e vortexar vigorosamente em velocidade máxima por 20 segundos. Deixar as amostras no freezer por 5 minutos;
7. Centrifugar por 4 minutos a 13.000rpm;
8. Preparar tubos novos de 1.5 ml contendo 300µl de Isopropanol. Remover cuidadosamente o sobrenadante contendo o DNA e transferir para os novos tubos (deixando o pellet de proteínas no fundo do primeiro tubo);

9. Misturar gentilmente a solução por inversão, até aparecer nuvens brancas de DNA dentro do tubo formando uma massa visível;
10. Centrifugar por 1 minuto a 13.000rpm em temperatura ambiente. O DNA vai ser visível na forma de um pequeno pellet. Descartar cuidadosamente o sobrenadante;
11. Adicionar 300µl de etanol 70% em temperatura ambiente e inverter gentilmente os tubos várias vezes para lavar o DNA. Centrifugar por 1 minuto a 13.000rpm em temperatura ambiente;
12. Descartar o etanol cuidadosamente para não perder o pellet de DNA;
13. Inverter cuidadosamente o tubo em papel absorvente limpo. Em seguida colocar os tubos (abertos) na estufa a 37 °C por 10-15 minutos;
14. Adicionar 25µl de *DNA Rehydration Solution* para reidratar o DNA, e incubar os tubos (fechados) overnight na estufa a 37 °C;
15. Armazenar o DNA em freezer a -15 °C.

Para averiguar a qualidade do DNA extraído, uma alíquota de 2µl foi analisada em gel de agarose a 1%, corado com Gel red.

Anexo IV – Arvore de Neighbour-Joining

