



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA,
BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO**

**ANÁLISE DA DIVERSIDADE MORFOGENÉTICA TEMPORAL DE
Xiphopenaeus kroyeri (DECAPODA: PENAEIDAE)**

RENATA VASCONCELOS OLIVEIRA

Jequié-BA

2015

RENATA VASCONCELOS OLIVEIRA

**ANÁLISE DA DIVERSIDADE MORFOGENÉTICA TEMPORAL DE
Xiphopenaeus kroyeri (DECAPODA: PENAEIDAE)**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, para obtenção do título de Mestre em Genética, Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Cervini

Co-orientadoras: Prof^a. Dr^a Ana Karina de Francisco; Prof^a. Dr^a Lorena de Andrade Nunes

Jequié-BA

2015

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: Análise da diversidade morfo genética temporal de *Xiphopenaeus kroyeri* (Decapoda: Penaeidae).

Autor (a): Renata Vasconcelos Oliveira

Orientador (a): Prof. Dr. Marcelo Cervini

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, pela Banca Examinadora:

Prof. D. Sc. Marcelo Cervini – UESB / Jequié-BA

Prof. D. Sc. Artur de Lima Preto – IFBA / Valença-BA

Profa. D. Sc. Ana Karina de Francisco – UESB / Jequié-BA

Data de realização: 31 de agosto de 2015.

PPGGGBC

*Dedico este trabalho à minha
filha, à minha mãe, ao meu pai,
e aos meus irmãos.*

AGRADECIMENTOS

À Deus e a Nossa Senhora de Fátima por tudo!

Agradeço à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação (PPGGBC) pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Cervini, pela excelente orientação, de forma atenciosa e bem humorada e por sua amizade.

À minha co-orientadora, Prof^a Dra. Ana Karina de Francisco, pela amizade e pelo acompanhamento desde a graduação com os ensinamentos sobre os camarões. Inclusive dando suporte, conselhos e “brincas”(Rs!) para que este trabalho fosse desenvolvido da melhor maneira possível.

À minha co-orientadora, Prof^a Dra Lorena Andrade Nunes, pelo excelente e inquestionável apoio para o meu entendimento sobre a morfometria geométrica e por ter caído de paraquedas nessa pesquisa com uma imprescindível contribuição.

À professora Dra. Caroline Garcia pela ajuda crucial com as análises genéticas e pelo carinho.

À Dra Jamile Bittencourt pela ajuda com as análises genéticas e às ótimas sugestões que contribuíram para o engrandecimento deste trabalho.

Aos meus professores de curso e graduação que foram essenciais para o meu crescimento;

Aos colegas Silvia, Leandro (recruta), Somira, Lúcia e minha prima Nádia, por toda a ajuda prestada para a finalização deste trabalho.

Aos pescadores das peixarias “Peixaria do Brenio” e “MDE Frutos do Mar”, em especial sr. Brenio pela pesca dos camarões sete-barbas que foram adquiridos para este estudo e toda atenção prestada.

À todos os amigos de curso e do laboratório molecular e de citogenética pelas agradáveis companhias e boas risadas.

À doutora Carmem Borges e ao grupo de dança “Carmetes”, por ter proporcionado momentos agradáveis e alegres, e principalmente, por me manterem em alta.

À minha mãe Isabel, ao meu pai Djalma e irmãos Carol e Rafa, por toda a compreensão e carinho. Em especial à minha mãe, que é simplesmente maravilhosa e sua ajuda foi essencial durante a elaboração deste trabalho.

À minha filha Giulia, que mesmo com tão pouca idade, soube compreender a minha ausência em alguns momentos, para a elaboração deste trabalho.

BIOGRAFIA

Renata Vasconcelos Oliveira, filha de Djalma Menezes de Oliveira e Isabel Cristina de Souza Oliveira, nasceu em 29 de Janeiro de 1987, em Salvador, Bahia. cursou o Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Genética pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) entre os anos de 2008 e 2013. Durante a graduação, foi monitora das disciplinas Matemática para Biologia no ano de 2009 e Citologia e Genética Humana no ano de 2010. Posteriormente, bolsista de iniciação científica pela FAPESB (2011-2012) no Laboratório de Genética Molecular, sob orientação da Prof. Dr^a. Ana Karina de Francisco. Ao fim da graduação, em março de 2013, entregou a monografia intitulada: “Padronização de protocolos de extração de DNA e da técnica DNA *barcode* para diferentes espécies de camarões (ordem decapoda)”. Logo após a conclusão da sua graduação, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação (PPGGBC) 2013.1, da UESB, sob orientação do Prof. Dr. Marcelo Cervini e co-orientação da Prof^a Dr^a Ana Karina de Francisco e Prof^a Dr^a Lorena Andrade Nunes. Ao longo do curso, desenvolveu pesquisas na área de Genética Molecular em *Xiphopenaeus kroyeri*.

PPGGGBC

“A classificação por descendência não pode ser inventada por biólogos, ele pode apenas ser descoberta.”

(Theodosius Dobzhansky)

RESUMO

As principais espécies de camarão de interesse comercial encontram-se classificadas como sobreexploradas em consequência da pesca intensiva. O camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* é uma das principais fontes de renda da pesca artesanal, sendo intensamente explorado no litoral sul da Bahia. Mesmo havendo o período de suspensão da pesca anualmente (defeso) os estoques podem não estar sendo protegidos de maneira adequada. Sendo assim, faz-se necessário avaliar se as espécies de camarão estão sendo devidamente protegidas. Análises de morfometria geométrica são utilizadas em estudos de diferenciação de estoques pesqueiros. Além disso, análises moleculares com genes mitocondriais são ferramentas informativas na identificação de espécies, incluindo as espécies crípticas. Este trabalho objetivou analisar a morfogenética temporal dos *X. kroyeri* que ocorrem na costa de Itacaré-BA, utilizando parâmetros da morfometria geométrica e informações moleculares dos genes mitocondriais COI e 16S rRNA. Os camarões foram obtidos nas quatro estações do ano de 2014. Foi verificada diferença na forma dos indivíduos analisados pela análise dos componentes principais, MANOVA e UPGMA. Houve diferença na forma das fêmeas e dos machos do verão em relação às outras estações ($p < 0,05$), e, diferença na forma dos machos entre primavera e outono ($p < 0,05$). Os resultados de forma mostraram a formação de dois grupos morfologicamente diferentes. Nas análises moleculares, os níveis de divergência das sequências de COI e 16S geraram dendrogramas de Neighbour Joining (NJ) e Máxima Parcimônia (MP) baseados no método de Kimura-2-Parâmetros e foram suficientes para separar dois clados com 100% de *bootstrap*. Os valores de distância intraespecíficos variaram de 0-11,6% para COI e de 0-3% para 16SrRNA. Esses resultados evidenciam a formação de dois grupos morfogeneticamente distintos entre as estações do ano. Os resultados compilados de morfometria geométrica, COI e 16S rRNA, suportam os indícios da ocorrência de duas espécies crípticas de *X. kroyeri* no litoral de Itacaré. Sugere-se a revisão dos períodos de defeso para a proteção dos dois grupos encontrados. Além disso, reforça a importância de mais estudos com enfoque estrutural e temporal para dar suporte à elaboração de melhores planos de manejo para os camarões marinhos.

Palavras-chave: camarão-sete-barbas, morfometria geométrica, DNA mitocondrial, espécie críptica

ABSTRACT

The main species of commercial shrimp are classified as overexploited as a result of overfishing. The sea-bob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri*, is one of the major source of artisanal fisheries income. It is intensely exploited in southern Bahia. Even with the annual period of fishing suspension (closure), the stocks may not have been protected properly. Therefore, it is necessary to assess whether the shrimp species are being properly protected. Geometric morphometric analyzes are used in studies of differentiation of fish stocks. In addition, molecular analyzes with mitochondrial genes are informative tools in identification of species, including cryptic species. This study aimed to analyze the temporal morphogenetic of *X. kroyeri* that occur on the coast of Itacaré-Bahia. It used geometric morphometric parameters and molecular information from 16S rRNA and COI mitochondrial genes. The shrimps were collected in the four seasons of the year 2014. Differences in the shape of the individuals analyzed were verified by principal components analysis, MANOVA and UPGMA. There was a difference in the shape of females and males in the summer, in comparison to the other seasons ($p < 0.05$). And there was difference in the males' shape in the spring and autumn ($p < 0.05$). The results of shapes' analysis showed the constitution of two morphologically different groups. In molecular analyzes, the levels of divergence of the COI and 16S sequences generated trees of Neighborn Joining (NJ) and Maximum Parsimony (MP) based on the method of Kimura-2-parameter. They were sufficient to separate two clades with 100% bootstrap. The intraspecific distance values ranged from 0 to 11.6% for COI and from 0 to 3% for 16S rRNA. These results evidence the constitution of two morphogenetically distinct groups in each season. The compiled results of geometric morphometry, COI and 16S rRNA, support the evidences of occurrence of two *X. kroyeri* cryptic species in Itacaré's coast. It is suggested the revision of seasonal closures for the protection of both groups found. In addition, it reinforces the importance of further studies with structural and temporal approach to support the development of better management plans for marine shrimp.

Keywords: Sea-bob shrimp. Geometric morphometrics. Mitochondrial DNA. Cryptic species.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: a) Mapa com a representação da distribuição geográfica (Francisco, 2010) e b) <i>Xiphopenaeus kroyeri</i> (Costa et al., 2003).	20
Figura 2: Modelo esquemático do DNAm ^t e seus genes.....	25
Figura 3: Segmento de aproximadamente 650 pares de bases (faixa na cor azul clara) da extremidade 5' da subunidade I do gene Citocromo C oxidase (COI).	26
Figura 4: Mapa da localização geográfica do município de Itacaré. Fonte: Moreau (2006) <i>apud</i> Oliveira (2008).....	28
Figura 5: Representação dos exemplares de <i>Xiphopenaeus kroyeri</i> de cada estação utilizados. A: verão; B: outono; C: inverno e D: primavera.....	30
Figura 6: Embarcação utilizada na pesca em Itacaré-BA.	31
Figura 7: Caracteres sexuais secundários de <i>Xiphopenaeus kroyeri</i> . O télico (T) é a estrutura da fêmea e o petasma (P) a estrutura do macho.	31
Figura 8: Vista lateral do cefalotórax de <i>Xiphopenaeus kroyeri</i> . Os pontos demonstram os marcos (1, 2, 8, 13, 14, 15, 16) e os semimarcos (3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12) estabelecidos para as análises de morfometria geométrica.....	32
Figura 9: A - Análise de Componente Principal (ACP) para as fêmeas de <i>Xiphopenaeus kroyeri</i> em cada estação; B e C – Grade de deformação com a tendência da forma explicada pelo Componente Principal 1 para os indivíduos posicionados no lado negativo e positivo do gráfico; D e E - <i>outline</i> demonstrando a variação da forma. A linha na cor azul claro representa a forma média, e a linha na cor azul escuro representa a variação nos eixos. Os códigos ou34 e pr15 são destaque para indivíduos coletados na primavera e outono, que agruparam com os do verão.....	37
Figura 10: A - Análise de Componente Principal (ACP) para os machos de <i>Xiphopenaeus kroyeri</i> em cada estação; B e C – Grade de deformação com a tendência da forma explicada pelo Componente Principal 1 para os indivíduos posicionados no lado negativo e positivo do gráfico; D e E - <i>outline</i> demonstrando a variação da forma. A linha na cor azul claro representa a forma média, e a linha na cor azul escuro representa a variação nos eixos. Os códigos pr14 e ve03 são um destaque para indivíduos coletados na primavera e outono, que agruparam com os do verão.....	38

- Figura 11.** Dendrograma gerado por UPGMA com os valores de *bootstrap* com 10000 permutações geradas para A – fêmeas e B - machos de *Xiphopenaeus kroyeri*. Os valores nos ramos indica.....40
- Figura 12:** *Boxplot* do tamanho do centróide obtido para as fêmeas e machos de *Xiphopenaeus kroyeri*. As letras iguais indicam que não há diferenças pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). Letras diferentes indicam que há diferenças pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). verão (V); outono (O); inverno (I); primavera (P).....41
- Figura 13.** Trechos dos alinhamentos dos haplótipos encontrados para os genes mitocondriais Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) (A) e 16S rRNA (B) editados no programa BioEdit v. 7.2.5. Os pontos representam as bases conservadas.....43
- Figura 14.** Gráficos da frequência observada de transições (s) e transversões (v) em relação a distância genética estimada pelo modelo de Kimura-2-Parâmetros para os genes mitocondriais Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) e 16S rRNA. Os valores de R^2 superior a 0,7 indicam que não há saturação.....44
- Figura 15.** Árvore de *Neighbor Joining* (NJ) baseadas no método de substituição nucleotídica Kimura-2-Parâmetros (K2P) dos haplótipos do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI). As cores dos ramos dos haplótipos fazem referência a que estação pertencem: rosa = verão; vermelho = outono; azul = inverno; verde = primavera. Os números nas bases dos ramos são os valores de *bootstrap* de Neighbor Joining (NJ) e Máxima Parcimônia (MP), respectivamente.....47
- Figura 16.** Rede haplotípica do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) entre indivíduos coletados nas quatro estações de *Xiphopenaeus kroyeri*. Cada cor representa uma estação e o tamanho dos círculos é proporcional ao número de indivíduos (detalhado dentro de cada círculo) que compartilham cada haplótipo. Os números nos ramos indicam o número de mutações entre os haplótipos.....48
- Figura 17.** Árvore de Neighbor Joining (NJ) baseada no método de substituição nucleotídica Kimura-2-Parâmetros (K2P) para o gene 16S rRNA. com os haplótipos + acessos do *Genbank* (ramos que estão dentro da caixa amarela). As cores dos ramos (ve03, ve12, ve44, ou11, ou34, in24, in19, in38, pr02 e pr15) fazem referência a que estação pertence: rosa = verão; vermelho = outono; azul = inverno; verde = primavera. Os números que estão nas bases dos ramos são os valores de *bootstrap* de Neighbor Joining (NJ) e Máxima Parcimônia (MP), respectivamente.....50

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Códigos atribuídos para os camarões *Xiphopenaeus kroyeri* adquiridos nas quatro estações do ano de 2014 e que foram utilizados nas análises do gene Citocromo C Oxidase (COI) e 16S rRNA.....34
- Tabela 2** - Informações das sequências do gene 16S rRNA de *Xiphopenaeus kroyeri* obtidas no Genebank que foram utilizadas nas análises.....35
- Tabela 3** – Indivíduos de *Xiphopenaeus kroyeri* coletados no município de Itacaré-BA nas quatro estações do ano de 2014.....36
- Tabela 4** –Indivíduos de *Xiphopenaeus kroyeri* utilizados para análise de morfometria geométrica coletados no município de Itacaré-BA nas quatro estações do ano de 2014.....36
- Tabela 5** Matriz de distâncias intraespecífica para parte do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) de *Xiphopenaeus kroyeri* com base no modelo evolutivo Kimura-2-Parâmetros (K2P). As duas últimas linhas representam as distâncias congênica (*Rimapenaeus constrictus*) e entre famílias (*Solenocera crassicornis*).....45
- Tabela 6.** Matriz de distâncias intraespecífica para parte do gene mitocondrial 16S rRNA de *Xiphopenaeus kroyeri* com base no modelo evolutivo Kimura-2-Parâmetros (K2P). As duas últimas linhas representam as distâncias congênicas (*Parapenaeus longirostris*) e entre famílias (*Solenocera crassicornis*).....48

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANOVA - Análise de variância

ACP – Análise de Componentes Principais

APA – Área de Proteção Ambiental

COI - Citocromo C oxidase

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

INEMA - Instituto Do Meio Ambiente E Recursos Hídricos

MANOVA - Análise de variância multivariada

MMA – Ministério do Meio Ambiente

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura

PPGGGBC

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1. PESCA DE CAMARÕES	16
2.2. FAMÍLIA PENAEIDAE	19
2.2.1. O CAMARÃO-SETE-BARBAS (<i>XIPHOPENAEUS KROYERI</i>)	20
2.3 MORFOMETRIA GEOMÉTRICA	22
2.4.GENÉTICA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE	24
2.4.1 Marcadores Moleculares - DNA mitocondrial	25
2.5. LITORAL DE ITACARÉ-BA	28
3. OBJETIVO GERAL	29
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
5. MATERIAS E MÉTODOS	30
5.1. COLETA DO MATERIAL	30
5.2. TRIAGEM E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS	31
5.3 ANÁLISE DA MORFOMETRIA GEOMÉTRICA	32
5.4. EXTRAÇÃO DE DNA E ANÁLISES MOLECULARES	33
5.5 ANÁLISES DAS SEQUÊNCIAS	34
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6.1. MORFOMETRIA GEOMÉTRICA	36
1.1. .6.2 ANÁLISES MOLECULARES	41
6.2.1. Obtenção das sequências	42
6.2.2. Haplótipos identificados.....	43
6.2.3. Distância genética	45
6.3. CONSIDERAÇÕES GERAIS	51
7. CONCLUSÕES	53
8. REFERÊNCIAS	55

1. INTRODUÇÃO

O subfilo Crustacea inclui espécies bastantes conhecidas, como caranguejos, siris, camarões, lagostins, lagostas e tatuzinhos-de-jardim. Representam uma importante posição ecológica na cadeia trófica entre produtores primários (como os fitoplânctons) e consumidores em níveis tróficos superiores (como os peixes). Os crustáceos mais conhecidos estão inclusos na Ordem Decapoda. A maioria das espécies são marinha e bentônica, mas alguns ocuparam o ambiente de água doce.

Dentro do grupo dos decápodos estão os camarões pertencentes à Superfamília Penaeoidea que são, depois dos peixes, os mais representativos na pesca. São importantes recursos pesqueiros para a fonte de renda, geração de trabalho e alimento. Dentre eles se encontra o camarão sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, que comercialmente representa uma importante fonte de renda para famílias de pescadores artesanais.

Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA, 2011) cerca de 45% da produção de pescado é oriunda da pesca artesanal. A pesca artesanal é uma atividade exercida por um profissional que realiza a pesca com fins comerciais e, ou, para subsistência. A metodologia de captura é não mecanizada e baseada em conhecimentos de senso comum. Para favorecer a sustentabilidade do uso dos estoques pesqueiros, todo pescador profissional fica impedido de pescar durante a reprodução das espécies (defeso). Apesar da medida de defeso, algumas espécies de camarões podem não estar sendo devidamente protegidas. Portanto, é importante que sejam realizados estudos acerca da biologia, pesca, morfologia, estrutura populacional, diversidade genética, entre outros, para melhor conhecimento sobre os estoques.

Atualmente, diversas abordagens podem ser empregadas para se verificar a composição de um estoque pesqueiro. Dentre elas, está a morfometria geométrica a qual vem sendo aplicada em diversas áreas da biologia animal. A morfometria geométrica é a configuração de marcos anatômicos e permite, através de suas análises aplicadas, verificar a variação e covariação da forma, e em consequência é uma importante ferramenta que pode ajudar a diferenciar estoques pesqueiros. Outra técnica bastante difundida atualmente, é a utilização das regiões do DNAm como ferramentas poderosas para identificação e delimitação de espécies, e que, por conseguinte são também aplicadas à diferenciação de estoques.

Sabe-se que a pesca realizada no litoral de Itacaré é do tipo artesanal, mas pouco se sabe a respeito dos camarões da região, e se os mesmos estão sendo devidamente protegidos. Diante da escassez de estudos, aliados à necessidade do conhecimento da composição morfológica e

genética dos camarões sete-barbas para a determinação de períodos de defeso mais adequados à conservação dos estoques, espera-se que a análise morfofenética temporal dos mesmos na região represente uma contribuição para o delineamento de planos de manejo mais efetivos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Pesca de camarões

A Lei nº 11.959, de 2009, define a pesca como “toda operação, ação ou ato tendente a extrair, colher, apanhar, apreender ou capturar recursos pesqueiros”, classificadas em: pesca comercial, que inclui as modalidades artesanal e industrial; e a pesca não-comercial, que inclui a pesca científica, a amadora e a de subsistência. A pesca artesanal é a prática direta de pescador profissional, autônomo ou em regime de economia familiar, com meios de produção próprios ou em parcerias, desembarcado, ou com a possibilidade de utilizar embarcações de pequeno porte. A pesca industrial possui finalidade comercial, e é praticada por pessoa física ou jurídica com pescadores profissionais, empregados ou em regime de parceria por cotas-partes, que utilizam embarcações de pequeno, médio ou grande porte.

Apesar da grande importância econômica e social da pesca extrativa em todo o mundo, há escassez de pescado para o atendimento da demanda, devido à estagnação pelo esgotamento dos estoques em rios e oceanos FAO (2014). Assim, a crescente demanda terá de ser atendida com o auxílio da aquicultura (MPA, 2015). Segundo o Decreto 4895/2003 de 25 de novembro de 2003, aquicultura é: “o cultivo ou a criação de organismos cujo ciclo de vida, em condições naturais, ocorre total ou parcialmente em meio aquático”.

A pesca e a aquicultura são atividades de grande importância e 60% da produção de camarão no mundo é oriundo da pesca e 40% do cultivo. A proporção relativa de pesca vem diminuindo desde meados dos anos 1980, e reduziu bruscamente na última década (FAO, 2014).

Na aquicultura encontra-se um grande potencial para a expansão sustentável da produção, o que otimiza o aproveitamento econômico de recursos hídricos marinhos e continentais. O Brasil pode ser considerado adequado para o desenvolvimento da aquicultura, por contar com grande disponibilidade de recursos hídricos e clima favorável (Pereira, 2012).

Apesar das grandes expectativas, existem algumas limitações para essa atividade, como custo elevado da terra, impactos ambientais, o custo energético, ausência de trabalhadores

capacitados e a falta de verba para o investimento em países emergentes (Crepaldi, *et al.*, 2007).

De acordo com os dados do Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA (2011) a produção pesqueira marinha por espécie apresentou os seguintes dados: o grupo dos peixes representou 87% da produção total, seguido pelos crustáceos com 10% e moluscos com 3%. Na produção de camarões, as espécies mais capturadas no país foram o camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e o camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*, *F. brasiliensis* e *F. subtilis*) com 15.417,8 t e 10.331,2 t, respectivamente, no ano de 2011. Estes valores somados representaram 46% da composição total da produção de crustáceos marinhos no Brasil.

Devido às características da plataforma continental, que possui uma faixa litorânea bastante estreita e de fundo rochoso, aliada à baixa produtividade primária da água, a pesca é predominantemente artesanal no Estado da Bahia. Esta atividade apresenta significativa importância social para a região, absorvendo cerca de 100 mil pescadores cadastrados (Bahia Pesca, 2011), além de muitos outros empregos que são gerados na cadeia produtiva do pescado (MPA, 2015).

Segundo a Bahia Pesca *apud* Rodrigues e Giudice (2011), a Bahia é hoje o terceiro Estado na produção nacional de pescado, ocupando o primeiro lugar na região Nordeste, com uma produção anual acima de 80 mil toneladas. A última estimativa realizada sobre a produção de camarões pescados na Bahia foi no ano de 2007, com um valor de 3.141,5 toneladas, o que representou aproximadamente 44 % da composição total do Nordeste, e, especificamente para o camarão sete- barbas, a produção foi de 3.872,0 toneladas, representando aproximadamente 43 % da produção total de crustáceos na Bahia (IBAMA, 2011).

Até 1998, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, criado em 1989 por meio da Lei nº 7.735, geriu os assuntos relacionados à pesca, e juntamente com outros órgãos, constituíram diretrizes ambientais e estabeleceram medidas de ordenamento pesqueiro, tais como: períodos de defeso; definição de tamanhos mínimos de captura; proibição do emprego de métodos predatórios de captura; controle da frota operante, entre outros; com o intuito de recuperar os estoques ameaçados (Pereira, 2012).

As principais espécies de camarões de interesse comercial que ocorrem na costa brasileira encontram-se classificadas como sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexploração segundo a Instrução Normativa MMA nº 5, de 21 de maio de 2004. De acordo com esta Instrução, espécies sobreexplotadas são aquelas cuja condição de captura de uma ou todas as classes de idade em uma população são tão elevadas que reduz a biomassa, o potencial de desova e as capturas no futuro em níveis inferiores aos de segurança; e espécies ameaçadas de sobreexploração, são aquelas cujo nível de exploração encontra-se próximo ao de

sobreexploração.

A medida de ordenamento mais seguida nas pescarias de camarões no Brasil é o defeso, período de paralisação obrigatória da atividade de captura sobre um determinado recurso pesqueiro em épocas de reprodução ou recrutamento¹ dos recursos explorados, envolvendo uma espécie ou grupo de espécies. Esta medida objetiva proteger uma determinada espécie numa fase vulnerável de seu ciclo de vida, pois é possível reduzir a mortalidade por pesca dos indivíduos de pequeno tamanho que, ao serem capturados mais tarde, aumentam a possibilidade de reposição dos estoques pela reprodução (IBAMA, 2011).

No caso específico dos camarões, o objetivo é proteger o período do pico de recrutamento que é particularmente adequado a estoques de crescimento rápido, que alcançam tamanho comercial em poucos meses, como as espécies de camarões (IBAMA, 2005; 2011; Santos, 2008; Santos & Silva, 2008).

De acordo a Instrução Normativa MMA nº 014, de 15 de outubro de 2004, o período de defeso anual do camarão sete barbas ocorrerá nas áreas compreendidas entre a divisa dos municípios de Mata de São João e Camaçari (Bahia) e a divisa dos estados da Bahia e Espírito Santo nos períodos de 1º de abril a 15 de maio e de 15 de setembro a 31 de outubro.

Apesar dos implementos de normas para o ordenamento pesqueiro, segundo a Proposta de Plano Nacional de Gestão para o uso sustentável de Camarões marinhos do Brasil (IBAMA, 2011), as medidas de controle do esforço de pesca na Região Nordeste do Brasil, que limitam o acesso à pesca por meio da concessão de licenças a um número limitado de embarcações nunca foram efetivamente implementadas.

Segundo Couto *et al.* (2013), os estudos realizados na área do litoral Sul da Bahia a respeito da pesca de camarões são muito escassos e dados estatísticos sobre a produção pesqueira estão restritas a curtos períodos. Os autores ainda afirmam que recursos pesqueiros do litoral baiano são tradicionalmente subestimados, tanto em relação a sua diversidade quanto ao seu volume de captura. Dessa forma, o estudo de estrutura populacional de espécies comerciais pode gerar informações para auxiliar os gerenciadores da atividade pesqueira a monitorar e modelar seus programas de manejo para as características de um estoque particular e então assegurar uma melhor sustentabilidade em longo prazo (Philipp *et al.*, 1993). Se este manejo não for realizado da maneira correta, pode implicar na extinção de uma população e,

¹ Recrutamento: é o conjunto de recrutas (indivíduo que ao atingir uma determinada idade, se torna vulnerável às artes de pesca) de uma determinada classe de idade ou coorte (Dias Neto, 2010).

consequentemente, na perda da diversidade genética de sua espécie, influenciando o nível de variabilidade que determina a capacidade de uma espécie adaptar-se a mudanças ambientais (Féral, 2002).

2.2. Família Penaeidae

Os camarões mais conhecidos e abundantes são os pertencentes ao grupo Penaeidae (Dall *et al.*, 1990), a qual está inserida na Ordem Decapoda; Subordem Dendrobranchiata e Superordem Penaeoidea (WoRMS – World Register of Marine Species).

Os camarões peneídeos apresentam ciclo de vida relativamente curto (em torno de dois anos) o que sugere um rápido crescimento e mortalidade natural elevada (Santos, 2000). Dall *et al.* (1990) classificaram o ciclo de vida dos camarões peneídeos em quatro tipos:

Tipo I - Ciclo inteiramente estuarino, no qual à medida que vão crescendo, os jovens deslocam-se, progressivamente, para as águas de maior salinidade.

Tipo II - Ciclo que é completado da região oceânica para a estuarina. A postura ocorre longe da costa, os estágios planctônicos migram para próximo da costa no final do desenvolvimento larval e as pós-larvas se estabelecem em berçário estuarino bentônico.

Tipo III - Ciclo que é completado da região costeira a oceânica. As pós-larvas preferem salinidades relativamente altas, geralmente em áreas protegidas próximas da costa.

Tipo IV - Ciclo de vida ocorrendo inteiramente longe da costa, na região oceânica.

O ciclo reprodutivo dos camarões peneídeos também é classificado como tropical/subtropical, ou seja, apresenta dois períodos de desova e recrutamento ao longo do ano. As populações passam por uma alternância anual, na qual populações de primavera alternam com populações de outono, promovendo uma bimodalidade na desova e abundância de adultos ao longo de um ano. Ainda, uma pequena porção dos camarões que desovaram na primavera estará madura em seis meses, contribuindo também para o estoque de outono (Dall *et al.*, 1990).

2.2.1. O camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*)

O camarão-sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862), também conhecido como “seabob”, apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde a Carolina do Norte (USA) até o Rio Grande do Sul (figura 1) (Branco, 2005; Santos, 2007).



Figura 1: a) Mapa com a representação da distribuição geográfica (Francisco, 2010) e b) *Xiphopenaeus kroyeri* (Costa *et al.*, 2003).

A pesca artesanal do camarão-sete-barbas é denominada “pesca de sol a sol”, com início das atividades ao amanhecer e encerramento antes do pôr do sol (Branco *et al.* 2001). O ciclo de vida do *X. kroyeri* acontece em “mar aberto” ou em ambientes costeiros com influência de águas salinas (Branco, 2005; Graça-Lopes, 2007). A salinidade é um dos parâmetros abióticos mais importante, pois está diretamente relacionada ao comportamento desta espécie, visto que os adultos utilizam preferencialmente águas com alta salinidade (Santos, 1997). Entretanto, a ocorrência de variações no aporte continental é apontada como o principal fator responsável pelas variações na abundância desse camarão (IBAMA, 2011).

Ao contrário das outras espécies do gênero *Penaeus*, o *X. kroyeri* não depende dos estuários para o desenvolvimento dos juvenis. Aparentemente, também é uma exceção em relação ao comportamento, se comparado aos outros peneídeos que possuem hábitos noturnos, sendo o camarão sete-barbas de hábito diurno (IBAMA, 2001 *apud* Santos *et al.*, 2006a).

É importante conhecer as variações temporais da reprodução para evitar a sobre-exploração dos demes reprodutores (Coelho & Santos, 1993). De acordo com Branco (2005) são contraditórias as informações a respeito da reprodução do *X. kroyeri*, apesar de haver um

consenso da ocorrência de um extenso período de desova. O autor verificou a possível ocorrência de dois picos de reprodução no camarão sete-barbas na Armação do Itapocoroy-SP, sendo, um principal durante a primavera (outubro-dezembro) e um secundário durante o outono (abril-maio).

Entretanto, no Nordeste, Coelho & Santos (1993), Mota-Alves & Rodrigues (1977) e Santos & Ivo (2000) encontraram um principal período de reprodução de dezembro até abril (primavera e verão). Já Coelho e Santos (1993) consideram que, apesar da espécie se reproduzir durante todo o ano, julho e outubro também são épocas importantes de reprodução.

Os camarões passam por uma fase da vida em que os indivíduos juvenis migram a partir das áreas abrigadas (lagoas, baías e estuários) a caminho do mar, onde se juntam à população adulta, para acasalar, com posterior desova, fechando o ciclo de vida da espécie (IBAMA, 2005). No Nordeste brasileiro, apesar de haver diferenças quanto ao período de recrutamento, estudos apontam que o recrutamento do camarão sete-barbas é contínuo, porém com ocorrência de dois picos, principalmente no outono e na primavera. (Santos *et al.*, 2001; Santos, 2008; Santos & Silva, 2008; Couto *et al.*, 2013).

Há dimorfismo sexual entre os camarões sete-barbas o que possivelmente está relacionado com uma constante de crescimento k mais elevada nos machos, sendo as fêmeas geralmente maiores (Branco *et al.*, 1994,1999; Santos & Ivo, 2000; Branco, 2005; Castro *et al.* 2004; Bissaro *et al.*, 2013; Couto *et al.*, 2013).

Entender os aspectos sobre a biologia dos camarões fornecem informações relevantes para contribuir com medidas de manejo e conservação mais eficazes, visto que, segundo Santos (2000) na região Nordeste do Brasil, pouco se conhece sobre a biologia e pesca dos peneídeos, apesar da grande importância econômica e social.

2.3 Morfometria Geométrica

Morfometria é um método quantitativo que utiliza a análise estatística de variação e covariação da forma com outros fatores (Bookstein, 1991). Ao final dos anos 80 e início dos anos 90, foi aceita uma metodologia relevante que sintetizasse descrições geométricas com análises estatísticas. Esta nova técnica foi retratada por Rohlf & Marcus (1993) como uma “revolução metodológica”. Esta “revolução” decorreu da mudança no embasamento teórico e filosófico que atingiu uma nova abordagem unindo a biologia, a estatística e a geometria (Monteiro & Reis, 1999). A morfometria geométrica possui destaque em relação à tradicional, pois minimiza a subestimação da forma original do organismo, inclui informação sobre as posições relativas ao invés de medidas lineares e possibilita uma representação gráfica da forma (Rohlf & Marcus, 1993; Silveira, 2011).

Essa técnica utiliza configuração geométrica a partir de marcos anatômicos, para análises de forma e tamanho generalizado. De acordo a descrição de Klingenberg (2002) trata-se de um conjunto de pontos correspondentes (homólogos) que podem ser precisamente localizados, como um ponto de sutura onde diferentes ossos do crânio se encontram, no cruzamento das venações das asas de insetos, ou na ponta de uma saliência como o processo angular ou coronóide da mandíbula dos mamíferos. O autor complementa que as análises de marcos anatômicos são realizadas com uma definição matemática da forma.

A forma, na concepção da morfometria geométrica, é um conjunto de dados numéricos sobre a geometria de um objeto que não sofre influência quando a escala, posição ou orientação do objeto. A remoção dos fatores de escala, posição e orientação é realizada pelo método do espaço da forma de Kendall, que é chamada distância de Procrustes. A distância de Procrustes é a raiz quadrada da soma das distâncias ao quadrado entre marcos homólogos num par de configurações após a aplicação do processo de superposição (Monteiro & Reis, 1999, Bookstein, 2000 e Klingenberg, 2002).

A morfometria geométrica é bastante útil para discriminação de grupos com crescimento, mortalidade e taxas reprodutivas semelhantes, pois combina análise estatística multivariada e descreve padrões de variação de forma tanto dentro como entre grupos (Cadrin, 2000). Pode revelar padrões de história de vida que variam entre subpopulações, indicando movimento limitado entre grupos e possível variação genética (Cadrin, 2010). Portanto, pode ser considerada como uma ferramenta poderosa para a identificação de estoques pesqueiros (Cadrin, 2000, Adams et al., 2004, Cadrin, 2010) e identificação de espécies crípticas (Bertocchi et al, 2012). Ponton, et al. (2013) utilizaram a morfometria geométrica para identificação de

larvas e juvenis de peixes a nível de espécies em conjunto com gene citocromo-b, confirmando a efetividade da ferramenta. Silva (2003) encontrou dois grupos distintos de sardinhas do Nordeste do Atlântico e Mediterrâneo Ocidental por meio de variação morfométrica.

Estudos envolvendo morfometria geométrica para o grupo Crustacea já foram desenvolvidos para finalidades como diferenciação entre populações e/ou diferenciação intraespecífica (Rufino et al., 2006; Giri & Loy, 2008; Hopkins & Thurman, 2010; Gusmão et al., 2013); comparações morfológicas entre machos e fêmeas (Rufino et al., 2006; Giri & Loy, 2008; Accioly et al., 2013) e identificação taxonômica (Riedlecker et al., 2009).

Com relação às diferenciações intraespecíficas, Giri e Loy (2008) que ao estudarem dois caranguejos de água doce do gênero *Aegla*, observaram distinções dentro das espécies em populações alopátricas e simpátricas. Já Hopkins e Thurman (2010), aplicaram a morfometria geométrica em oito espécies de caranguejos do gênero *Uca* que são muito similares na morfologia e em estratégias de vida, e demonstraram a existência de uma grande variação intraespecífica entre as regiões geográficas amostradas.

Em adição a essas abordagens, Claverie et al. (2010) desenvolveram um estudo na área da biomecânica comparativa, e investigaram o desenvolvimento e a evolução da interação entre morfologia e desempenho dos sistemas de amplificação de energia no camarão boxeador, *Gonodactylaceus falcatus* (Crustacea, Stomatopoda). Aguzzi et al., 2009 verificaram que a depender dos hábitos comportamentais entre grupos de decápodes (Natantia), existe diferenciação morfológica.

Até o presente momento, estudos que utilizem o método da morfometria geométrica para diferenciar estoques dos camarões peneídeos no Brasil foram pouco realizados. Bissaro et al. (2013), aplicaram a técnica de morfometria geométrica para o *X. kroyeri*, a fim de verificar se as alterações relacionadas com a forma do cefalotórax são consistentes com a identificação dos estoques que são distribuídos na costa leste do Brasil. Eles identificaram dois grupos de *X. kroyeri* morfológicamente distintos e relacionaram as principais diferenças com fatores abióticos. Outro trabalho realizado no Brasil foi por Gusmão *et al.* (2013), no qual mostraram que com as análises de morfometria geométrica foi possível caracterizar amostras de *X. kroyeri* mostrando diferenças significativas entre as populações e, com isso, confirmando padrões anteriores revelados por dados moleculares.

2.4. Genética e conservação da biodiversidade

Desde a década passada a genética vem sendo uma metodologia bastante utilizada pelos pesquisadores para responder questões ecológicas, por ser eficiente e confiável (Selkoe; Toonem, 2006). A aplicação de metodologias moleculares tornou possível o estudo genético de espécies ameaçadas de extinção e tem sido amplamente utilizada em pesquisas de conservação (Oliveira *et al.*, 2006).

Informações sobre a diversidade genética de uma espécie são muito importantes para propósitos de proteção e conservação. Essa diversidade constitui-se da variação presente dentro e também entre populações de uma mesma espécie. Dessa forma, a extinção de uma população pode levar à perda da diversidade genética de sua espécie, reduzindo, assim a diversidade biológica, visto que a informação perdida não pode ser recuperada (Féral, 2002).

Estudos de estrutura populacional envolvendo diversos grupos da fauna marinha apontam para a ocorrência de diferentes níveis de isolamento reprodutivo, sendo observado, em muitos casos, algum nível de estruturação populacional e a ocorrência de espécies crípticas (Gruenthal; Acheson; Burton, 2007; Gusmão *et al.*, 2006; Kreivi *et al.*, 2005; Mathews, 2007).

A identificação genética de populações ou estoques pode auxiliar na preservação da biodiversidade aquática e tem sido uma das melhores ferramentas para o auxílio de medidas de sustentabilidade dos estoques pesqueiros (Valles-Jimenez; Cruz; Perez-Enriquez, 2005).

Os marcadores moleculares também vêm sendo bastante utilizados em estudos que visam selecionar populações candidatas de espécies naturais para auxiliar na conservação (Petit; El Mousadik; Pons, 1998). Como por exemplo de auxílio, no caso da espécie estudada ter uma população panmítica, o manejo deve ser feito de maneira unificada; contudo, se existe a ocorrência de vários estoques diferentes, o manejo deve ser feito separadamente para cada unidade (Frankhan, 2008).

Em camarões peneídeos, essas metodologias vêm sendo empregadas com bastante sucesso, principalmente em estudos envolvendo espécies de interesse comercial, as quais sofrem algum grau de exploração (Gusmão & Solé-Cava, 2002; Gusmão *et al.*, 2006; Borrell *et al.*, 2007; Preto, 2009; Vaseeharan *et al.*, 2013).

2.4.1 Marcadores Moleculares - DNA mitocondrial

Nas células eucariontes, além do DNA contido no núcleo, há organelas que contêm DNA próprio, como as mitocôndrias e cloroplastos (nas plantas). A função das mitocôndrias nas células envolve a oxidação de açúcares e gorduras importantes na respiração celular. O DNA mitocondrial (DNAm) (figura 2) possui algumas características próprias, como estar presentes em cópia única, apenas codificam proteínas necessárias para a manutenção das funções da organela e para a expressão gênica, possui herança uniparental, (em sua maioria materna) e não faz *crossing over*; além de apresentar uma alta taxa de mutação (0,6 a 4,5%) quando comparado ao genoma nuclear (0,0 a 4,3%), o que pode estar relacionada ao excesso de resíduos metabólicos, a baixa fidelidade na replicação das mitocôndrias e pela ausência de um mecanismo de reparo (Matioli, 2012).

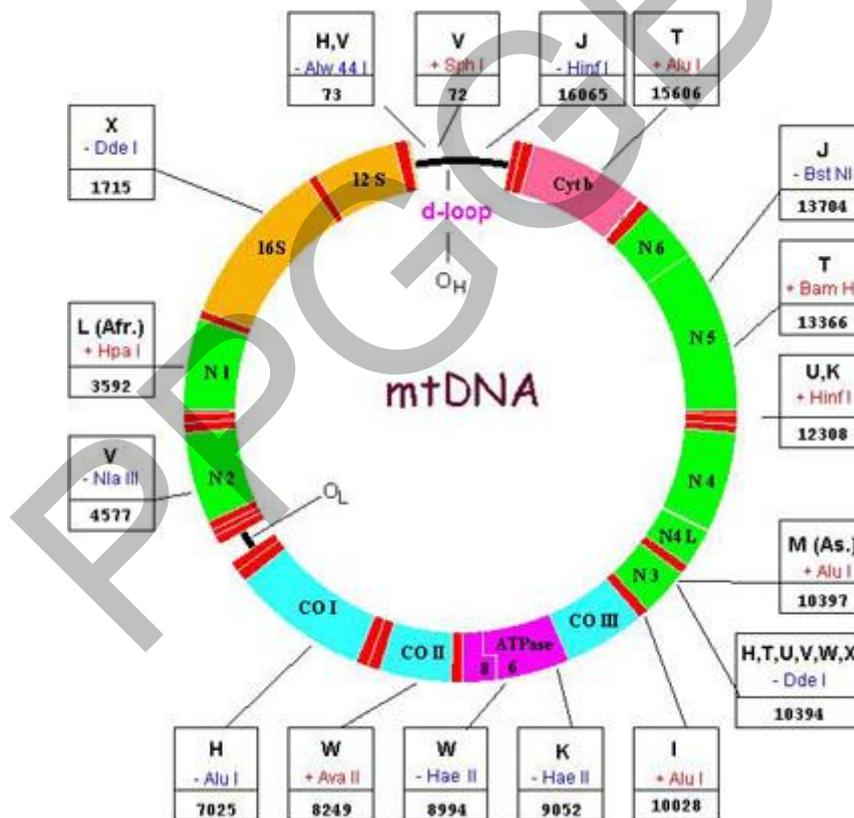


Figura 2: Modelo esquemático do DNAm e seus genes.

Fonte: <http://www.poreklo.rs/wp-content/uploads/2012/08/mt-DNA.jpg>

O DNAm é uma molécula circular fechada com codificação para 13 RNAs mensageiros, 22 RNAs de transferência e 2 RNAs ribossomais, além de um tamanho conservado de 16 pares de quilobases, aproximadamente (Avise, 1986).

As características acima citadas, associadas à grande abundância das mitocôndrias nas células e à facilidade de purificação, tornaram o DNAm uma ferramenta importante no estudo das relações evolutivas entre indivíduos, espécies e populações (Frankhan *et al.*, 2008; Matioli, 2012).

A diversidade genética no DNA mitocondrial pode ser detectada através de metodologias moleculares, dentre elas, análise com enzimas de restrição (RFLP-“Restriction Fragment Length Polymorphism”); construção de mapa de restrição para todo o genoma; polimorfismo de conformação de fita simples (SSCP), amplificação via PCR seguido de digestão com endonucleases; clonagem; e sequenciamento. Iniciadores já foram desenvolvidos para várias regiões do DNAm em muitas espécies (Arias *et al.*, 2003; Frankhan *et al.*, 2008).

Um dos genes mitocondriais utilizados para as análises genéticas é o gene COI (subunidade I do gene Citocromo C oxidase). Em 2003, um pesquisador da Universidade de Guelph, em Ontário, Canadá, Paul Hebert, propôs o “*DNA barcoding*” ou código de barras, e, verificou que, para animais, o gene COI seria uma ferramenta global ideal para a identificação das espécies (Barcode of life).

O *DNA barcoding* consiste na utilização de um segmento de aproximadamente 650 pares de bases da extremidade 5’ do COI (figura 3) (Hebert *et al.*, 2003). Sua taxa evolutiva é rápida (3x mais que os genes 12S ou 16S rRNA) o suficiente para permitir que haja a discriminação de espécies estreitamente relacionadas e também de grupos filogeográficos dentro de uma única espécie (WARD *et al.*, 2007).

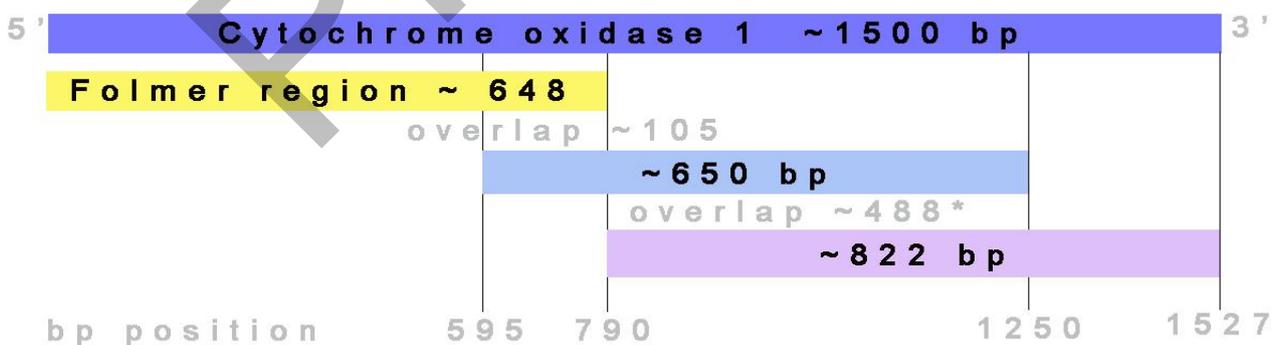


Figura 3: Segmento de aproximadamente 650 pares de bases (faixa na cor azul clara) da extremidade 5’ da subunidade I do gene Citocromo C oxidase (COI).

Fonte: <http://www.malariajournal.com/content/supplementary/1475-2875-9-271-s1.png>

A utilização do gene COI mostra que além de ser efetiva para a identificação de espécies, pode ser aplicado em estudos nos campos da biologia da conservação, como a inclusão de levantamentos de biodiversidade, por exemplo; aplicado à identificação de organismos nos quais os métodos tradicionais pouco contribuiriam, como a identificação de ovos e larvas, análise do conteúdo estomacal ou fezes para determinar teias alimentares, detecção de espécies crípticas que apesar de serem morfologicamente similares, constituem unidades evolutivas independentes, com isolamento reprodutivo ou uma clara distinção genética (Stoeckle, 2003; Frankhan *et al.*, 2008).

Outro gene mitocondrial, o 16S rRNA, codifica umas das subunidades do RNA ribossomal e é um dos mais conservados. Mesmo em organismos com distante relação, porções do rRNA são bastante similares. Portanto, o alto teor de informação, e distribuição universal tornaram o gene 16S rRNA útil para determinar taxonomia, filogenia e para estimar as taxas de divergência entre as espécies (biotech.bio, 2015). A sequência de 16S rRNA tem regiões hipervariáveis, que divergiram ao longo do tempo evolutivo. Geralmente, as regiões fortemente conservadas flanqueiam as regiões hipervariáveis, logo os iniciadores são desenhados para anelarem-se nas regiões conservadas e amplificarem as regiões variáveis (Lane, 1985; biotech.bio, 2015) por serem mais informativas.

Os genes 16S rRNA e COI têm sido empregados para análises de filogenia em crustáceos, como foi realizado por Thong et al, 2000 no qual os autores estudaram as relações filogenéticas entre sete espécies de camarões *Metapenaeopsis* do Pacífico. Outro tipo de aplicação dos genes 16S rRNA e COI, foi o estudo de (Vergamini et al., 2011) que comparou populações do camarão de água doce *M. amazonicum* no Brasil, com o uso dos genes 16S e COI para descrever o grau de variabilidade, estrutura e relações entre eles. A partir dos resultados de divergência genética, os autores encontraram três grupos estruturados das populações.

2.5. Litoral de Itacaré-BA

O estado da Bahia possui a maior extensão de litoral dos estados do Brasil, com aproximadamente 1.200 km, representando 12% da costa brasileira (MMA, 2011). Sua rede hidrográfica é rica, com rios de grande extensão: como o Jequitinhonha, Pardo, Contas, Jiquiriçá e Paraguaçu, os quais desembocam no Oceano Atlântico (Almeida, et al., 2006). A plataforma continental a qual a Bahia está inserida, possui uma faixa de litoral bastante estreita e de fundo rochoso, a profundidade raramente ultrapassa 60m e possui baixa produtividade primária da água (BAHIA PESCA, 2011). As características litoral baiano constituem um fator importante para a análise da estrutura pesqueira e as diversidades zonais encontradas (MMA, 2011).

No sul da Bahia, o litoral de Itacaré faz parte da Área de Proteção Ambiental (APA) da Costa de Itacaré/Serra Grande (figura 4). O litoral de Itacaré está inserido na plataforma continental do Leste brasileiro, que por sua vez, sofre influência da massa de Água Tropical (AT) e da massa de Água Costeira (AC) as quais são características por apresentarem altas temperaturas ($T > 20^{\circ}\text{C}$) (Eça, 2009).

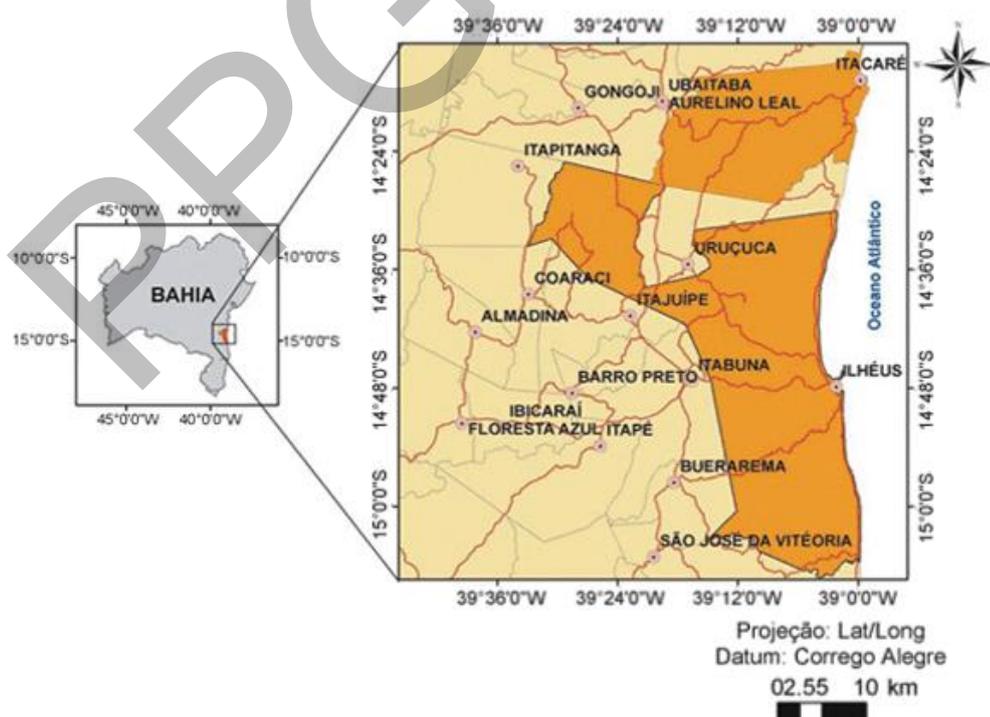


Figura 4: Mapa da localização geográfica do município de Itacaré. Fonte: Moreau (2006) *apud* Oliveira (2008).

A principal arte de pesca realizada em Itacaré é do tipo artesanal, representando fonte de proteína e renda para muitas famílias (BURDA, C. L., SCHIAVETTI, A, 2008). A pesca é organizada em forma de Cooperativa e não possuem tecnologia e recursos avançados, portanto a atividade pesqueira não possui expressão econômica e pode ser considerada como atividade de subsistência. As embarcações utilizadas são pequenos barcos de madeira com motorização a diesel utilizando redes para captura em mar aberto e arrastões para os camarões. Frequentemente no verão, a pesca pode ser de “arrasto” (INEMA). No entanto, os estudos realizados nesta área, principalmente sobre a pesca de camarões, são muito escassos (ALARCON & SCHIAVETTI, 2005).

3. OBJETIVO GERAL

O objetivo foi analisar a composição morfogenética temporal dos camarões-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) comercializados na cidade de Itacaré-BA, utilizando marcadores mitocondriais e análises de morfometria geométrica.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Comparar a forma e tamanho generalizado do cefalotórax em *Xiphopenaeus kroyeri* comercializados na cidade de Itacaré-BA nas diferentes estações do ano.
- 2) Analisar a diversidade genética da espécie do camarão sete-barbas ao longo das quatro estações do ano.
- 3) Averiguar se os períodos de defeso estabelecidos para o camarões-sete barbas podem ser considerados efetivos para a proteção dos estoques.

5. MATERIAS E MÉTODOS

5.1. Coleta do material

Os camarões *Xiphopenaeus kroyeri* foram adquiridos na “Peixaria do Brenio” e “MDE Frutos do Mar” localizados na cidade de Itacaré-BA. As aquisições foram realizadas no último mês de cada estação em 2014: março (verão), junho (outono), setembro (inverno) e dezembro (primavera), conforme figura 5.

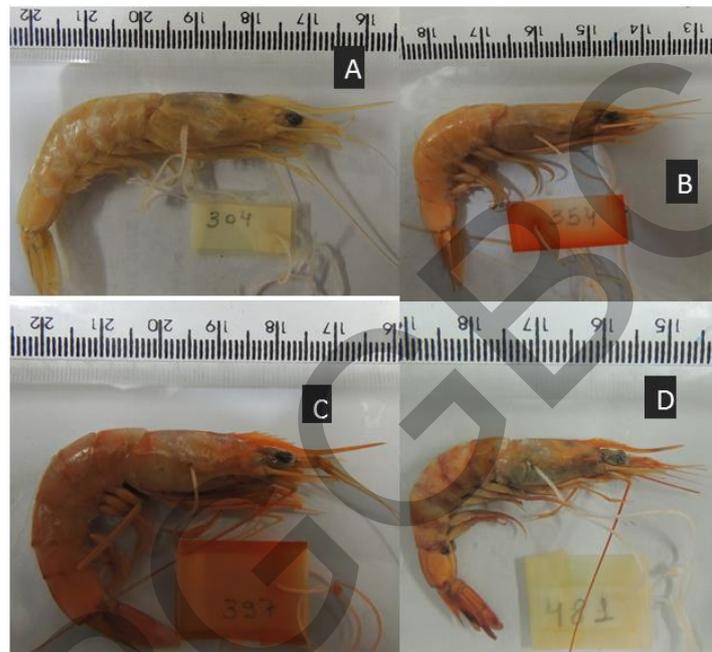


Figura 5. Representação dos exemplares de *Xiphopenaeus kroyeri* de cada estação utilizados. A: verão; B: outono; C: inverno e D: primavera.

Os camarões foram capturados por pescadores locais que utilizaram barcos de pesca motorizados de pequeno porte com redes de arrasto, navegando em profundidades de 5 a 20 m com 4 horas de duração cada arrasto (figura 6).



Figura 6: Embarcação utilizada na pesca em Itacaré-BA.

5.2. Triagem e armazenamento das amostras

Uma primeira triagem foi realizada para separar os camarões sete-barbas dos demais. A segunda triagem foi realizada com uma identificação morfológica para confirmar se os camarões eram da espécie *Xiphopenaeus kroyeri* baseando-se na chave de identificação de Costa *et al.* (2003). Posteriormente, os indivíduos também foram sexados (figura 7), os tecidos utilizados para a extração de DNA foram obtidos do músculo abdominal e foram armazenados em etanol 70% em tubos de 1,5 ml e mantidos a -20° C.

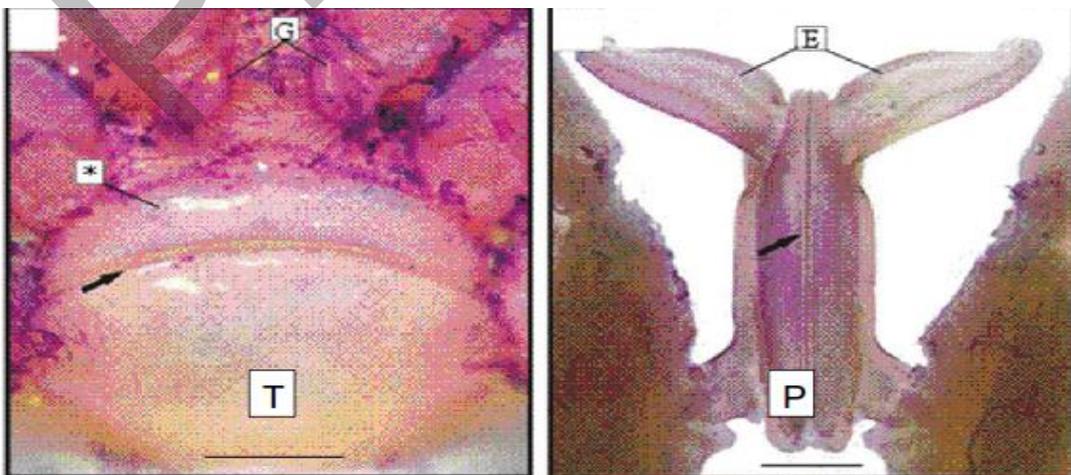


Figura 7: Caracteres sexuais secundários de *Xiphopenaeus kroyeri*. O télcio (T) é a estrutura da fêmea e o petasma (P) a estrutura do macho.

Fonte: modificado de Fransozo *et al.* (2011).

Os exemplares foram devidamente etiquetados e acondicionados em frascos contendo etanol 70% e armazenados no Laboratório de Genética Molecular da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, campus Jequié.

Para que indivíduos jovens não fossem utilizados nas análises de morfometria geométrica, foi verificado o grau de fusão do petasma como parâmetro de maturidade dos machos (Fransozo *et al.*, 2011) e o tamanho mínimo da carapaça (fêmeas em estágio maturo) em torno de 21,6mm para as fêmeas (Santos & Silva, 2008).

5.3 Análise da morfometria geométrica

Os camarões foram fotografados utilizando uma câmera Nikon Colpix p510. As imagens obtidas de forma foram transformadas em tps a partir do tpsUtil v 1.58 (Rohlf, 2013). Na sequência, foram inseridos 7 marcos e 9 semi-marcos anatômicos no cefalotórax (figura 8) utilizando o software tpsDig v 2.16 (Rohlf, 2013) para a obtenção das coordenadas cartesianas. O alinhamento dos semimarcos foi realizado no tps Rewl v1.53 (Rohlf, 2013).

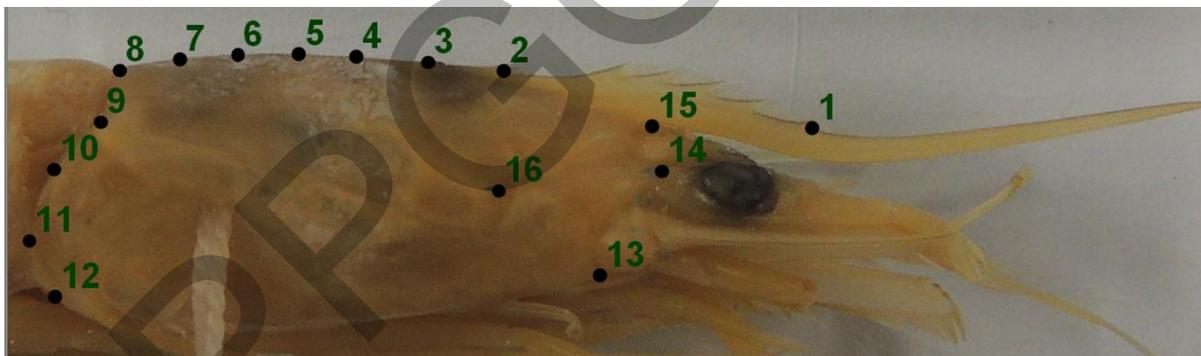


Figura 8: Vista lateral do cefalotórax de *Xiphopenaeus kroyeri*. Os pontos demonstram os marcos (1, 2, 8, 13, 14, 15, 16) e os semimarcos (3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12) estabelecidos para as análises de morfometria geométrica.

A informação sobre a forma foi extraída por meio da sobreposição de Procrustes, o qual retira as variáveis de tamanho, posição e orientação a partir dos dados de coordenadas, analisados no MorphoJ v 2.0 (Klingenberg, 2011). Em seguida foram realizadas a Análise dos Componentes Principais (ACP), MANOVA e o UPGMA utilizando o PAST v 3.01 (Hammer, 2013). A análise de tamanho foi realizada a partir do tamanho do centroide, foi realizada a ANOVA e teste de Tukey utilizando o PAST v 3.01 (Hammer, 2013). Posteriormente foi realizada a análise de regressão com 10000 repetições a fim de verificar se há relação entre a forma e o tamanho generalizado.

5.4. Extração de DNA e análises moleculares

Para a extração do material genético foi utilizado o kit de extração *Wizard Genomic DNA Purification* (PROMEGA) de acordo com as normas do fabricante. As amostras foram quantificadas em gel de agarose 0,8 % com GelRed (Invitrogen).

A região do DNA mitocondrial utilizada para amplificação foi a porção de aproximadamente 650 pares de base (pb) da subunidade I do gene Citocromo C Oxidase (COI) (Hebert *et. al*, 2003) e foram utilizados os iniciadores universais LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') descritos por Folmer *et al.* (1994). Para a região do 16S rRNA, amplificou-se aproximadamente 600 pares de bases (pb), utilizando os iniciadores 16Sar-5' (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') e 16Sbr-3' (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') (Palumbi, 1996).

As amplificações das duas regiões foram baseadas em Jeffery *et al.* (2011), com algumas modificações. O volume final da reação foi de 12,5 µl e utilizou-se concentrações finais de 2,5 mM de MgCl₂ (Invitrogen), 0,05 mM de dNTP (Invitrogen), buffer 1x (Invitrogen – 10xPCR Buffer: 200mM Tris-HCl (pH 8.4), 500mM KCl), 1U de taq *platinum* (Invitrogen), e 0,3µM de cada iniciador.

As reações foram realizadas em termociclador NYX Technik modelo ATC 201, sendo 1 ciclo de 94°C, 60 seg, seguido de 5 ciclos de 94°C, 60 seg; 45°C, 40 seg e 72°C, 60 seg, mais 35 ciclos de 94°C, 60 seg; 51°C, 40seg e 72°C; 60 seg, e uma extensão final de 72°C a 5 min. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose 1,2 %.

Os produtos de PCR foram purificados com polietilenoglicol (PEG) 20%. A reação de sequenciamento foi realizada com *Big Dye v3.1* (*Applied Biosystem*) em uma reação preparada com 4,75 µl de água ultrapura, 1,5 µl do tampão BigDye 5x, 0,75 µl do mix BigDye terminator, 2 µl do primer (0,8 pmol) e 1 µl do produto de PCR purificado. Para conduzir esta reação, utilizou-se a seguinte programação: 1 minuto a 96°C; 35 ciclos de 15 segundos a 96°C, 15 segundos a 50°C e 2 minutos a 60°C. Em seguida, as amostras passaram por precipitação, utilizando-se EDTA 125 mM, etanol absoluto e etanol a 80%. As amostras foram encaminhadas para sequenciamento (*foward e reverse*) na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal-SP.

5.5 Análises das sequências

As sequências *forward e reverse* obtidas pelo sequenciamento dos genes COI e 16S rRNA foram editadas e alinhadas no programa BioEdit v.7.2.5 (Hall, 1999) para a verificação da qualidade e obtenção das sequências consenso. Os consensos foram analisados na ferramenta *Blast* do *Genbank* (*Blast* - <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para comparar a similaridade com outras sequências de *Xiphopenaeus*. O quadro de leitura das sequências foi visualizado por meio do programa MEGA v. 6.0 (Tamura et al., 2013).

As sequências consenso foram nomeadas de acordo com a codificação apresentada na (tabela1). Foi verificado se haveria diferentes haplótipos dentro de cada conjunto de amostras por estação, sendo que foi considerada significativa a diferenças de um par de base para distinguir cada haplótipo.

Tabela 1 - Códigos atribuídos para os camarões *Xiphopenaeus kroyeri* adquiridos nas quatro estações do ano de 2014 e que foram utilizados nas análises do gene Citocromo C Oxidase (COI) e 16S rRNA

	Verão		Outono		Inverno		Primavera				
	COI	16S	COI	16S	COI	16S	COI	16S			
ve03	-	X	ou07	X	X	in19	-	X	pr01	X	-
ve04	-	X	ou11	X	X	in24	X	X	pr02	X	X
ve12	X	X	ou12	X	-	in26	X	-	pr05	X	-
ve17	X	-	ou21	X	-	in28	X	-	pr09	-	X
ve21	-	X	ou25	X	X	in29	X	X	pr10	X	-
ve22	X	X	ou28	X	X	in33	-	X	pr11	X	X
ve28	X	-	ou30	X	-	in38	-	X	pr14	X	-
ve30	X	X	ou34	X	X	in39	-	X	pr15	X	X
ve39	X	-	ou36	X	X	in41	X	X	pr20	X	-
ve40	-	X	ou40	X	X	in42	-	X	pr24	X	-
ve44	X	X				in45	-	X	pr29	X	X
ve45	X	X									

Legenda: X presença de indivíduo; - ausência de indivíduo.

Sequências do gene 16S rRNA de *Xiphopenaeus kroyeri* obtidas no *Genbank* foram incluídas nas análises (tabela 2).

Tabela 2 - Informações das sequências do gene 16S rRNA de *Xiphopenaeus kroyeri* obtidas no *Genebank* que foram utilizadas nas análises

Nº ACESSO GENBANK	LOCALIDADE	CÓDIGO	AUTORES	COLETA
AY622217.1	Golfo do México-EUA	gm01	Chan <i>et al.</i> (2008)	-
AF192090.1	Brasil	wa01		
AF192091.1	Brasil	wa02		
AF192092.1	Brasil	wa03	Maggioni, <i>et al.</i> (2001)	Junho de 1999
AF192093.1	Brasil	wa04		

Não foi possível incluir nas análises sequências do gene COI de *Xiphopenaeus kroyeri*, devido a não similaridade das sequências obtidas no presente trabalho com as disponíveis no *Genbank*.

Por meio do programa MEGA v. 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) calculou-se a distância genética utilizando o modelo de substituição de nucleotídeos Kimura-2-parâmetros (K2P) (Kimura, 1980) para COI e 16S rRNA. As árvores de distância foram geradas através dos métodos *Neighbor-Joining* (NJ) (Nei e Kumar, 2000) e Máxima Parcimônia (MP). Testes de *Bootstrap* (Felsenstein, 1985) com 1000 replicações foram realizados para as árvores de NJ e MP construídas e valores inferiores a 70% foram desconsiderados. Os dendrogramas foram editados no software FigTree v1.4.2 (Rambaut, 2014). A rede de haplótipos e o conteúdo nucleotídico foram obtidos com o programa DnaSP v.5.10 (Rozas *et al.*, 2010). Para grupo externo das árvores geradas foram escolhidas as espécies pertencentes à família Penaeidae: *Rimapenaeus constrictus*, (região parcial do gene COI, nº de acesso do *Genbank*: KF783863.1) e *Parapenaeus longirostris* (região do 16S rRNA nº de acesso do *Genbank*: KP059279.1) e a espécie pertencente à família Solenoceridae: *Solenocera crassicornis* para os dois genes (nº de acessos do *Genbank*: KC545791.1 / KC545792.1).

A verificação da ocorrência de saturação dos genes foi realizada com modelo de distância Kimura-2-parâmetros (K2P) (Kimura, 1980), para a construção de gráficos que demonstram a quantidade de transições (s) e transversões (v) por meio da análise de regressão linear (R^2), utilizando o programa DAMBE (Xia e Xie, 2001). Valores abaixo de 0,7 foram considerados com saturação e acima de 0,7 sem saturação.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 201 indivíduos foram coletados nas diferentes estações no município de Itacaré-BA. Dentre os indivíduos coletados no ano de 2014, foram identificados 106 fêmeas e 95 machos. Os indivíduos coletados de cada estação são mostrados na tabela 3. Todos os indivíduos foram identificados como sendo da espécie *Xiphopenaeus kroyeri* por meio da chave de identificação de Costa *et al.* (2003).

Tabela 3 – Indivíduos de *Xiphopenaeus kroyeri* coletados no município de Itacaré-BA nas quatro estações do ano de 2014.

Estações	Indivíduos
Verão	33 fêmeas e 17 machos
Outono	19 fêmeas e 27 machos
Inverno	25 fêmeas e 25 machos
Primavera	29 fêmeas e 26 machos

6.1. Morfometria geométrica

Os camarões que foram fotografados para a análise de morfometria geométrica estão representados na tabela 4. Os demais indivíduos foram excluídos das análises de morfometria devido a danos no cefalotórax, o que impossibilitou a captura das imagens.

Tabela 4 – Indivíduos de *Xiphopenaeus kroyeri* utilizados para análise de morfometria geométrica coletados no município de Itacaré-BA nas quatro estações do ano de 2014.

Estações	Indivíduos fotografados
Verão	32 fêmeas e 14 machos
Outono	19 fêmeas e 27 machos
Inverno	20 fêmeas e 24 machos
Primavera	29 fêmeas e 26 machos

A análise de morfometria geométrica detectou variações morfológicas dentro de *X. kroyeri* entre as estações do ano. O resultado da MANOVA para a forma das fêmeas demonstrou que houve diferenças significativas entre os indivíduos do verão em relação às outras estações ($p < 0.01$). Com base no método ACP para a forma do cefalotórax em fêmeas, os quatro primeiros eixos explicaram 79,7% da variabilidade total entre as estações. A variação aproximada do primeiro eixo foi de 35,5%, do segundo eixo 21,2%, do terceiro eixo 12,5% e do quarto eixo 10,5% (figura 9).

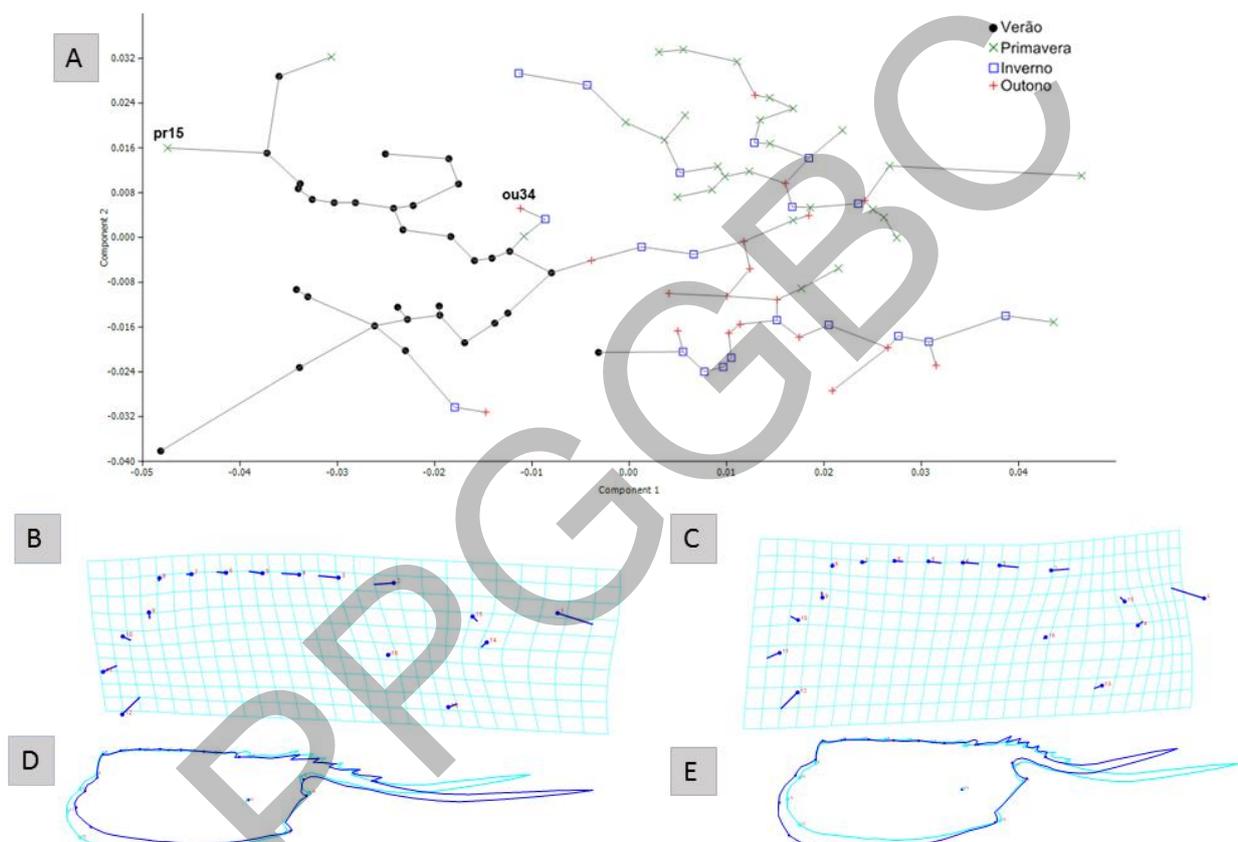


Figura 9: A - Análise de Componente Principal (ACP) para as fêmeas de *Xiphopenaeus kroyeri* em cada estação; B e C – Grade de deformação com a tendência da forma explicada pelo Componente Principal 1 para os indivíduos posicionados no lado negativo e positivo do gráfico; D e E - *outline* demonstrando a variação da forma. A linha na cor azul claro representa a forma média, e a linha na cor azul escuro representa a variação nos eixos. Os códigos ou34 e pr15 são destaque para indivíduos coletados na primavera e outono, que agruparam com os do verão.

Para a forma do cefalotórax dos machos o resultado da MANOVA demonstrou diferença significativa entre os indivíduos do verão em relação aos indivíduos do outono ($p < 0.05$). Também foram observadas diferenças significativas de indivíduos da primavera em relação aos do inverno ($p < 0.05$). Com base no método ACP os cinco primeiros eixos foram suficientes para explicar mais de 81% da variação total entre os indivíduos nas diferentes estações. A variação aproximada do primeiro eixo foi de 30,8%, do segundo eixo 21,1%, do terceiro eixo 14%, do quarto eixo 8,5% e do quinto eixo 7,3% (figura 10).

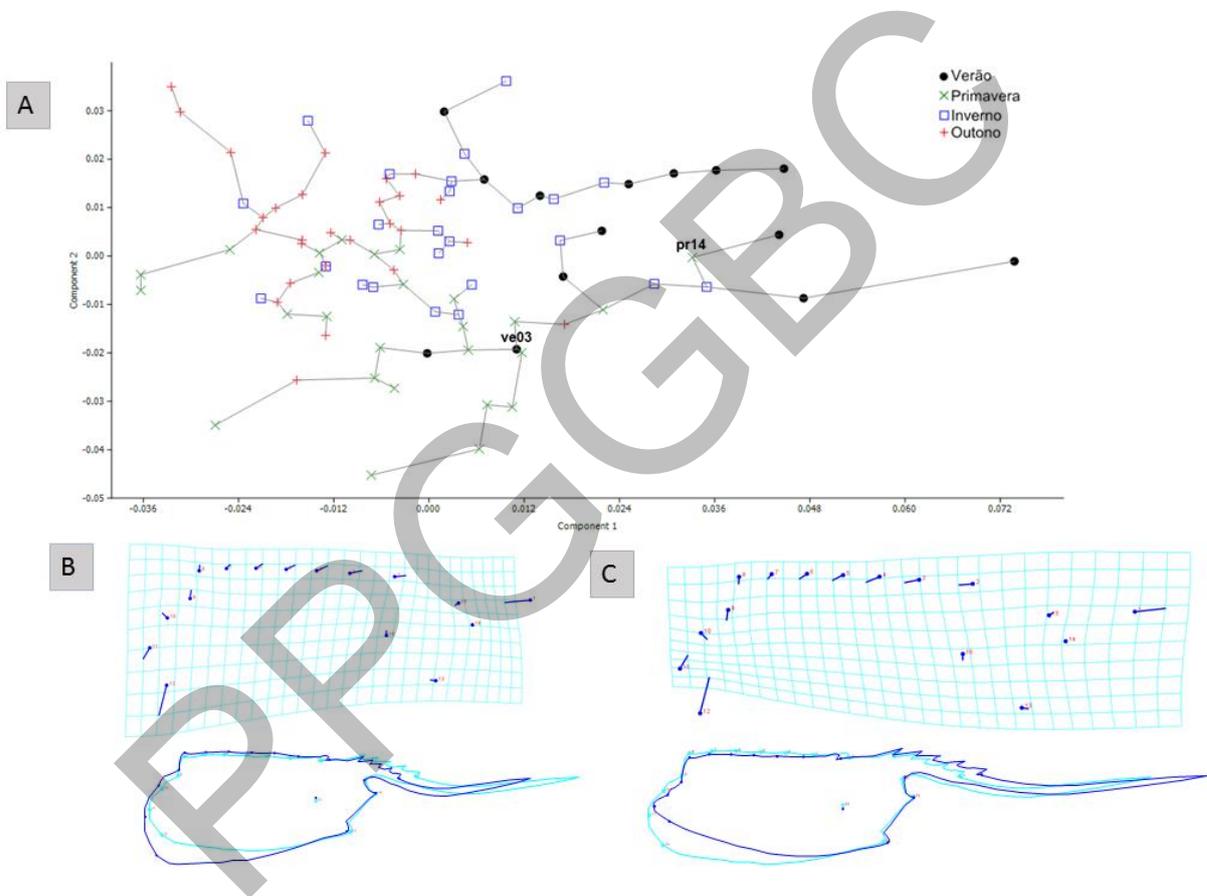


Figura 10: A - Análise de Componente Principal (ACP) para os machos de *Xiphopenaeus kroyeri* em cada estação; B e C – Grade de deformação com a tendência da forma explicada pelo Componente Principal 1 para os indivíduos posicionados no lado negativo e positivo do gráfico; D e E - *outline* demonstrando a variação da forma. A linha na cor azul claro representa a forma média, e a linha na cor azul escuro representa a variação nos eixos. Os códigos pr14 e ve03 são um destaque para indivíduos coletados na primavera e outono, que agruparam com os do verão.

Diante desses resultados, verificou-se que de acordo com a forma, dois grupos puderam ser separados para os dois sexos. O primeiro grupo, que foi típico da maioria dos indivíduos do verão, apresentou no componente principal (CP) 1 características como o rosto maior, alongado e o cefalotórax mais estreito. O segundo grupo, que foi típico da maioria dos indivíduos pertencentes ao inverno, outono e primavera, apresentou no CP1 o rosto menor e curto, e a o cefalotórax mais largo. As variações encontradas na forma dos indivíduos em geral não são uma variação influenciada por dimorfismo sexual, uma vez que as análises foram realizadas separadamente para os sexos. E, além disso, as características da forma verificadas para os machos coincidiram com as características da forma verificadas para as fêmeas em suas respectivas estações do ano.

Resultados similares em relação à forma do cefalotórax do *X. kroyeri* foram verificados por Bissaro (2012). O autor avaliou a forma do cefalotórax em machos e fêmeas de *X. kroyeri* em quatro localidades do litoral brasileiro: Caravelas, Vitória, Atafona e Farol de São Tomé. Bissaro (2012) verificou que a forma dos indivíduos do Farol de São Tomé possuía características como um rosto maior, espinho pós-orbital localizado mais próximo à região ventral e porção posterior do cefalotórax mais baixa. Enquanto que a forma dos indivíduos de Caravelas, Vitória e Atafona apresentaram rosto menor, espinho pós-orbital localizado mais próximo à região dorsal e porção posterior do cefalotórax mais alta. Com esses resultados o autor considerou a existência de dois estoques independentes na costa leste do Brasil.

Os indivíduos foram agrupados como indicado nos dendrogramas de UPGMA com 10000 de *bootstrap*, apresentando 99% de correlação cofenética para as fêmeas e 95% de correlação cofenética para os machos (figura 11). Valores de correlação cofenética altos (como 98%) representam que a acomodação da árvore é satisfatória (Matioli & Fernandes, 2012).

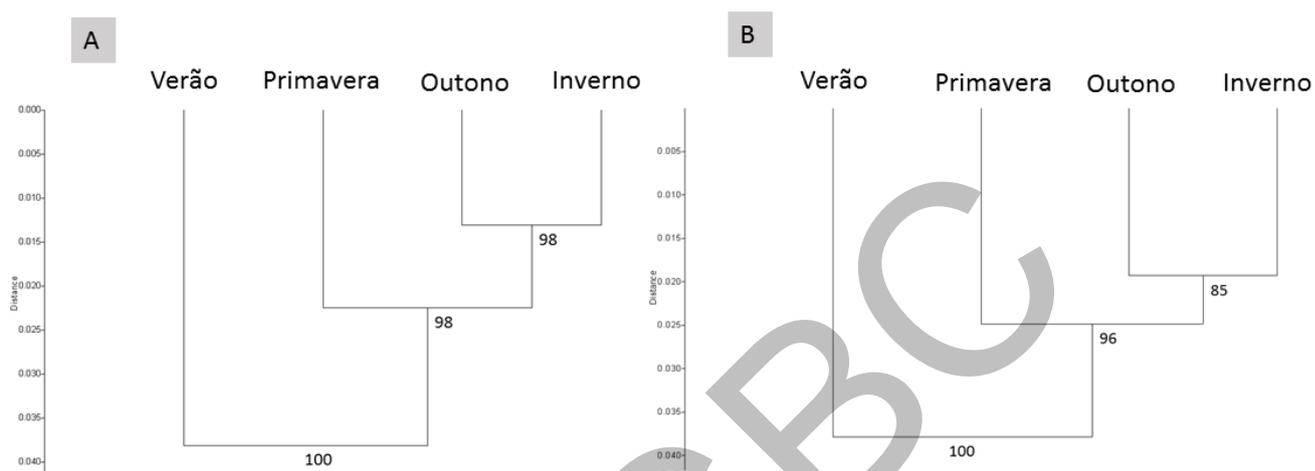


Figura 11. Dendrograma gerado por UPGMA com os valores de *bootstrap* com 10000 permutações geradas para A – fêmeas e B - machos de *Xiphopenaeus kroyeri*. Os valores nos ramos indica.

Com base no agrupamento UPGMA verificou-se que os indivíduos pertencentes ao verão são diferentes na forma (100% de *bootstrap*) quando comparados aos demais indivíduos pertencentes as outras estações. Por sua vez, os indivíduos do outono e inverno possuem a forma mais semelhantes entre si quando comparados aos indivíduos da primavera. Com relação ao observado na primavera, é provável que ocorra alguns indivíduos que possuem características do verão. No geral, verificou-se a formação de dois principais grupos: o primeiro com indivíduos do verão e o segundo com indivíduos da primavera, outono e inverno. Esses grupos também foram evidenciados nos gráficos de ACP.

Na análise de tamanho a partir do tamanho do centróide, os resultados da ANOVA mostraram que não houve diferenças significativas para as fêmeas nas estações ($p > 0.05$) (figura 12). Entretanto foi encontrada diferença significativa com relação ao tamanho do centróide dos machos ($p < 0.05$), sendo observado que a média dos indivíduos machos do verão é menor em relação aos indivíduos machos das demais estações pelo teste de Tukey ($p < 0,01$) (figura 12). A variação encontrada nos machos com relação ao tamanho do centróide pode estar associada à maior plasticidade fenotípica encontrada em machos (Stillwell, et al., 2010; Bonnie et al.,

2014), que atingem a maturidade sexual antes das fêmeas e crescem mais rapidamente (Branco et al., 1994; Mota-Alves & Rodrigues, 1997; Branco et al., 2005). Diante do exposto, verificou-se que o tamanho das fêmeas ao longo de um ano foi mais homogêneo em relação ao tamanho dos machos.

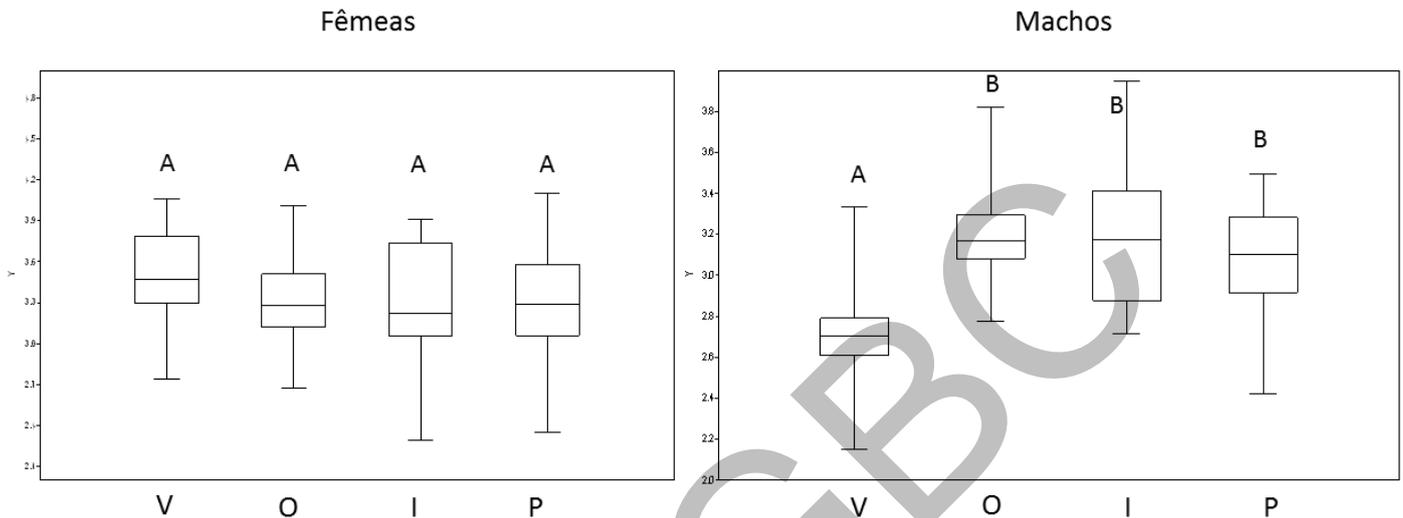


Figura 12: Boxplot do tamanho do centróide obtido para as fêmeas e machos de *Xiphopenaeus kroyeri*. As letras iguais indicam que não há diferenças pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). Letras diferentes indicam que há diferenças pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). verão (V); outono (O); inverno (I); primavera (P).

As análises de regressão, com 10000 permutações, demonstraram que existe relação entre a forma e o tamanho, tanto para as fêmeas ($p < 0,05$) quanto para os machos ($p < 0,01$). Esse resultado indica que as variações na forma, além de serem intrínsecas aos indivíduos, também estão associadas com as variações de tamanho.

Em vista dos resultados obtidos para a análise de morfometria geométrica do *X. kroyeri*, foi evidenciado que a metodologia detectou a formação de dois grupos altamente significativos dentre as estações do ano. Enquanto que a triagem realizada *a priori* para identificar a espécie de *X. kroyeri*, por meio da chave ilustrada de identificação de Costa et al, 2003, não permitiu tal discriminação

1.1. .

6.2 ANÁLISES MOLECULARES

Do total de 40 amostras selecionadas para as ampliações e sequenciamento de uma região do gene COI, apenas 33 sequências foram utilizadas.. Destas, 8 são do verão, 10 do outono, 5 do inverno e 10 da primavera. Para o gene 16S rRNA, 30 sequências foram utilizadas, sendo 9 do verão, 7 do outono, 9 do inverno e 5 da primavera (dados apresentados na tabela 1 do tópico Materiais e Métodos). As sete sequências que foram descartadas das análises não apresentaram qualidade suficiente para a obtenção das sequências consenso.

6.2.1. Obtenção das sequências

As 33 sequências consenso obtidas com o sequenciamento (de uma região do gene COI apresentaram 650 pb (aproximadamente). Após a edição das sequências, o tamanho dos fragmentos ficou em torno de 643 pb no total, com 572 sítios conservados, 71 sítios variáveis e 65 sítios informativos para parcimônia. Similar ao tamanho do fragmento de COI aqui obtido, Cheng et al. (2015) obtiveram 658 pb com os conjuntos LCO1490 e HCO2198 (Folmer *et. al*, 1994) em sequências dos camarões do gênero *Metapenaeopsis*.

As 30 sequências consenso obtidas com o sequenciamento (de uma região do gene 16S apresentaram 600 pb (aproximadamente), e após edição, o tamanho dos fragmentos ficaram em torno de 564 pb no total, composto de 550 sítios conservados, 14 sítios variáveis e 11 sítios informativos para parcimônia. Em relação ao tamanho do fragmento de 16S rRNA obtido, Magalhães E colaboradores (2014) obtiveram 543pb com os conjuntos 16Sar-5' e 16Sbr-3'(Palumbi, 1996) em sequências do caranguejo do gênero *Fredius*.

O alinhamento no *BLASTn* das sequências de 16S rRNA gerou 98% de similaridade com *X. kroyeri*. Diferentemente, as sequências parciais de COI obtidas no presente trabalho, cuja conferência no *BLASTn* não demonstrou similaridade com as regiões da espécie de *X. kroyeri* que estavam disponíveis no *Genbank* (Gusmão et al., 2006; Piergiorgio et al. no prelo). A fim de confirmar se a região obtida foi, de fato, a do gene COI, foi utilizada uma sequência completa do genoma mitocondrial da espécie *Farfantepenaeus californiensis*(n° de acesso NC012738.1), uma vez que não há a sequência completa do *X. kroyeri* depositada no *Genbank*. Além do genoma mitocondrial, uma sequência parcial do gene COI de *X. kroyeri* (n° de acesso DQ084376.1) foi também utilizada. Em seguida, as três sequências foram alinhadas no BioEdit versão 5.09 e verificou-se que a região parcial de COI de *X. kroyeri* do *Genbank* alinhou com

o gene COI de *F. californiensis* em uma região diferente da sequência do presente estudo. Comprovando que a região obtida no presente trabalho é do gene COI, mas que ainda não foi depositada no *Genbank* por outros trabalhos.

6.2.2. Haplótipos identificados

Em relação aos haplótipos existentes (figura 13), para o gene COI, foram verificados 2 haplótipos do verão (ve22 e ve17), 5 do outono (ou11, ou28, ou34, ou36 e ou40), 3 do inverno (in24, in28 e in41) e 4 da primavera (pr05, pr10, pr15 e pr24). Para o gene 16S rRNA foram encontrados 4 haplótipos do verão (ve03, ve12, ve30, ve44), 2 do outono (ou11 e ou34), 3 do inverno (in19, in24 e in38) e 2 da primavera (pr02, pr15).



Figura 13. Trechos dos alinhamentos dos haplótipos encontrados para os genes mitocondriais Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) (A) e 16S rRNA (B) editados no programa BioEdit v. 7.2.5. Os pontos representam as bases conservadas.

A verificação do grau de saturação que foi obtida através da curva de substituição por meio da plotagem do número de transições e tranversões *versus* a distância genética revelou ausência de saturação ($r^2 > 0,7$) para os dois genes (figura 14).

A verificação de grau de saturação confirma se o número de tranversões ultrapassa o de transições. Caso isso ocorra, significa que as sequências são bastante variáveis, o que pode diminuir a informação filogenética dos dados (Xia, 2009). Portanto, a ausência de saturação encontrada neste trabalho evidenciou que as sequências obtidas dos genes COI e 16S rRNA são satisfatórias para a análise proposta.

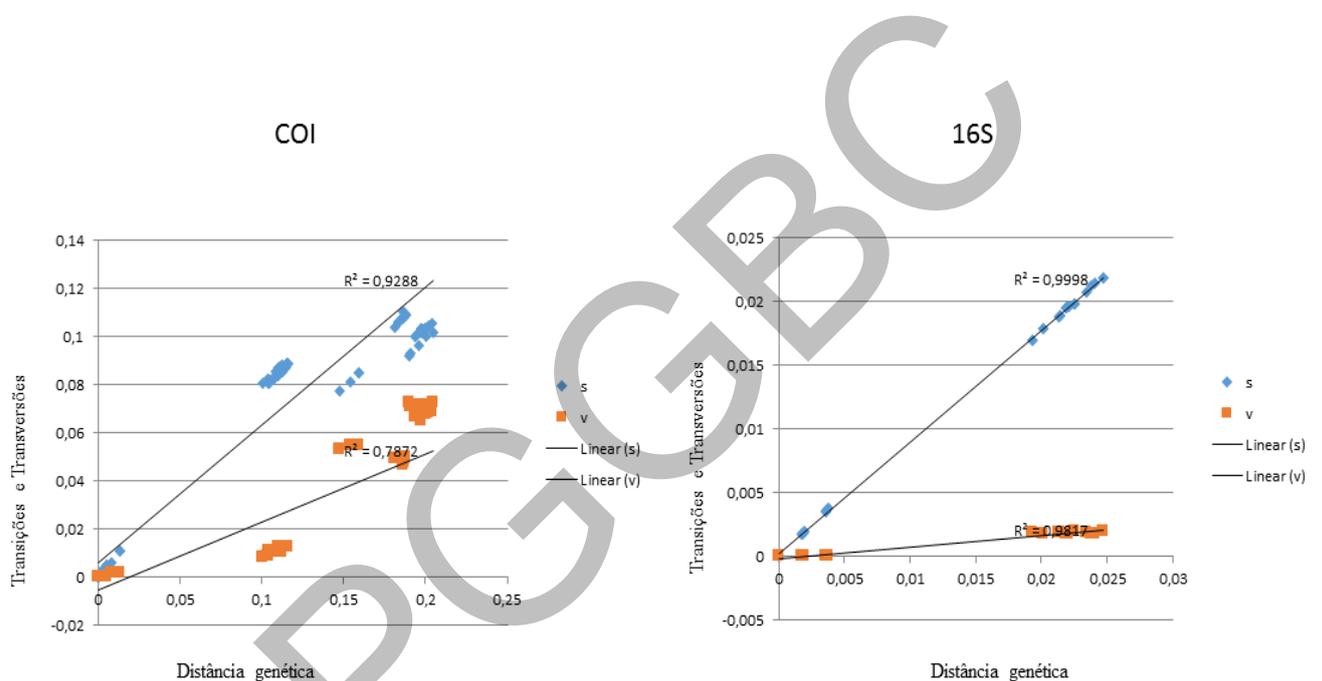


Figura 14. Gráficos da frequência observada de transições (s) e tranversões (v) em relação a distância genética estimada pelo modelo de Kimura-2-Parâmetros para os genes mitocondriais Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) e 16S rRNA. Os valores de R^2 superior a 0,7 indicam que não há saturação.

6.2.3. Distância genética

Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI)

A matriz de distâncias (tabela 5) gerada para o gene COI, representada pelos haplótipos de cada estação, mostrou que os valores de distâncias intraespecífica atingiram o máximo de 11,6% (ex. ve22 com ou28) e o mínimo de 0% (ex. in24 e ou11); os valores de distâncias congênica atingiram o máximo de 18% (ex. in28 e *R. constrictus*) e o mínimo de 14,3% (ex. in17 e *R. constrictus*); entre as duas famílias os valores de distâncias atingiram o máximo de 20,3% (ex. ou40 e *S. crassicornis*) e o mínimo de 18,7% (ex. in17 e *S. crassicornis*).

Tabela 5 Matriz de distâncias intraespecífica para parte do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) de *Xiphopenaeus kroyeri* com base no modelo evolutivo Kimura-2-Parâmetros (K2P). As duas últimas linhas representam as distâncias congênica (*Rimopenaeus constrictus*) e entre famílias (*Solenocera crassicornis*).

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1-in24																
2-in28	0,002															
3-in41	0,002	0,004														
4-ve17	0,100	0,102	0,102													
5-ve22	0,111	0,114	0,109	0,009												
6-pr10	0,002	0,004	0,004	0,102	0,114											
7-pr15	0,111	0,114	0,109	0,013	0,004	0,114										
8-pr24	0,002	0,004	0,004	0,102	0,114	0,004	0,114									
9-pr05	0,000	0,002	0,002	0,100	0,111	0,002	0,111	0,002								
10-ou11	0,000	0,002	0,002	0,100	0,111	0,002	0,111	0,002	0,000							
11-ou28	0,004	0,006	0,006	0,105	0,116	0,006	0,116	0,006	0,004	0,004						
12-ou34	0,111	0,114	0,109	0,013	0,004	0,114	0,000	0,114	0,111	0,111	0,116					
13-ou36	0,002	0,004	0,004	0,102	0,114	0,004	0,114	0,004	0,002	0,002	0,006	0,114				
14-ou40	0,002	0,004	0,004	0,102	0,114	0,004	0,114	0,004	0,002	0,002	0,006	0,114	0,004			
15- <i>R. constrictus</i>	0,177	0,180	0,180	0,143	0,150	0,175	0,154	0,180	0,177	0,177	0,182	0,154	0,180	0,180		
16- <i>S. crassicornis</i>	0,200	0,203	0,203	0,187	0,197	0,203	0,202	0,203	0,200	0,200	0,203	0,202	0,203	0,203	0,182	

De acordo aos resultados obtidos de distância genética para o gene COI, verificou-se que a diversidade média entre os indivíduos do clado 1 foi de 0,3% e entre os indivíduos do clado 2 foi de 0,7%. Entretanto, a divergência genética média encontrada entre os indivíduos dos dois clados foi de 11%. Entre os clados 1 e 2 e o grupo externo *R. constrictus*, foram encontradas médias de 18 e 15%, respectivamente.

Resultados semelhantes foram encontrados para outros grupos de crustáceos. Jeffery e colaboradores (2011), aplicaram a técnica de DNA *barcode* em 42 espécies de Branchiopoda. Foi verificado que indivíduos da mesma espécie possuíam uma divergência média de 0,52% e que, entre espécies, a média foi de 13,1%. O mesmo padrão foi encontrado por Costa et al. (2007) que avaliaram 150 espécies de variados gêneros de crustáceos com o gene COI e encontraram valor de distância intraespecífica média de 0,46% enquanto que, a distância média intraespecífica foi de 17,16%.

Outros trabalhos que utilizaram sequenciamento do gene COI, em camarões, também apresentaram resultados similares. Belgin, et al. (2014) ao estudarem 12 espécies de variados gêneros de camarões marinhos, encontraram valores de divergência intraespecífica entre 0,73 a 2,75% e interespecíficos de 12,6 a 26,8%. Gusmão et al. (2006), utilizando dados de COI e Aloenzimas, confirmaram a ocorrência de duas espécies crípticas de *X. Kroyeri*, ao longo da costa brasileira, as quais os autores denominaram de *Xiphopenaeus* sp.1 e *Xiphopenaeus* sp.2. Para essas considerações, foi observada variação de 0 a 0,8% de divergência dentro de *Xiphopenaeus* sp. 1 e de 0 a 0,3% de divergência dentro de *Xiphopenaeus* sp. 2. E, entre *Xiphopenaeus* sp. 1 e *Xiphopenaeus* sp.2 a divergência encontrada foi de 14 a 14,7%.

Com base nos resultados aqui apresentados, entende-se que a divergência genética entre os clados 1 e 2 é relativamente alta (11%). Além disso, é considerável que os valores de distância média entre *X. Kroyeri* e *R. constrictus* são próximos (15 e 18%) aos valores de divergência média entre os clados, dando-nos a possibilidade de indicar a ocorrência de espécies no litoral de Itacaré.

A árvore gerada para o gene COI formou uma mesma topologia tanto com *Neighbor-Joining* (NJ) quanto com Máxima Parcimônia (MP). Dessa maneira, apenas a topologia de *Neighbor-Joining* (NJ) foi considerada com os dois valores obtidos de *Bootstrap* de cada método inseridos nas árvores (figura 15).

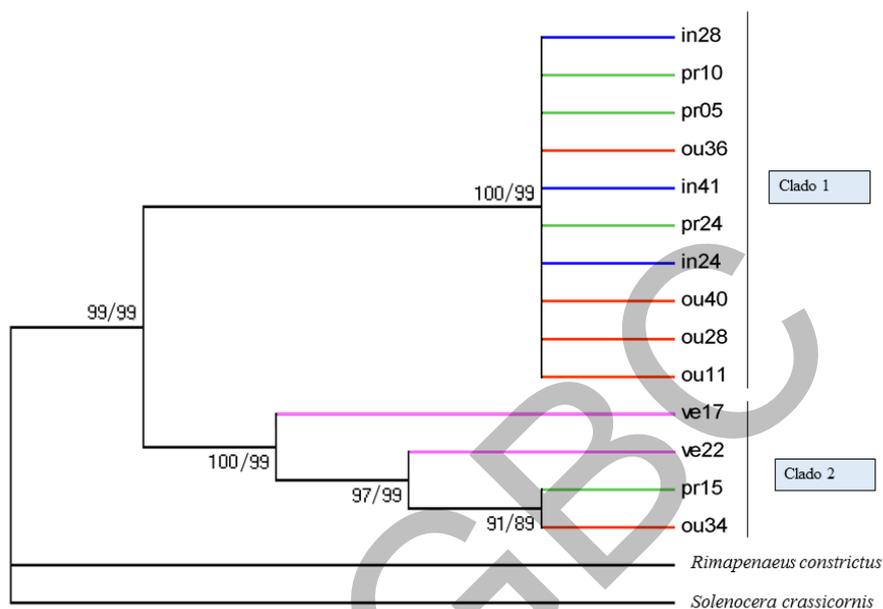


Figura 15. Árvore de *Neighbor Joining* (NJ) baseadas no método de substituição nucleotídica Kimura-2-Parâmetros (K2P) dos haplótipos do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI). As cores dos ramos dos haplótipos fazem referência a que estação pertencem: rosa = verão; vermelho = outono; azul = inverno; verde = primavera. Os números nas bases dos ramos são os valores de *bootstrap* de Neighbor Joining (NJ) e Máxima Parcimônia (MP), respectivamente.

Foi verificado na árvore de COI (figura 15), a formação de dois clados (1 e 2) com valores de *Bootstrap* confiáveis (99%). O clado 1 foi constituído da maioria dos indivíduos coletados no inverno, outono e primavera. Também foi observado homogeneidade na composição dos haplótipos pertencentes a este clado. Em contrapartida, o clado 2 apresentou em sua totalidade, indivíduos que foram coletados no verão, com representantes da primavera e outono (pr15 e ou34). O clado 2 apresentou uma composição dos haplótipos mais diversificada; os indivíduos pr15 e ou34 foram separados do indivíduo ve22 com 97-99% de confiança; enquanto que o ve22, pr15 e ou34 separaram de ve17 com 100-99% de confiança.

A rede de haplótipos que foi gerada para o gene COI (figura 16), mostra a distribuição dos 11 haplótipos. Assim como demonstrado na árvore de NJ, a rede de haplótipos confirma a formação de dois grupos, que correspondem aos clados 1 e 2, com a ocorrência de 50 mutações entre eles.

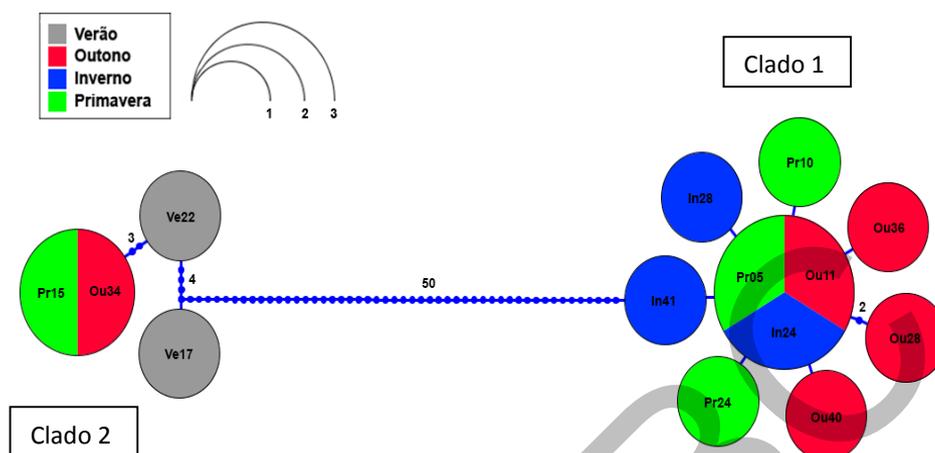


Figura 16. Rede haplotípica do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) entre indivíduos coletados nas quatro estações de *Xiphopenaeus kroyeri*. Cada cor representa uma estação e o tamanho dos círculos é proporcional ao número de indivíduos (detalhado dentro de cada círculo) que compartilham cada haplótipo. Os números nos ramos indicam o número de mutações entre os haplótipos.

Com relação aos haplótipos posicionados na porção direita da rede (representantes do clado1) verifica-se que pr05, ou11 e in24 representam as sequências mais frequentes. Os haplótipos da porção esquerda (representantes do clado 2) da rede demonstram que há uma maior diversidade entre eles, sendo a ocorrência de 4 mutações entre ve17 e ve22, 3 mutações entre ve22 e pr15/ou34 e 7 mutações entre ve17 e pr15/ou34.

16S rRNA

Para o gene 16S rRNA, a matriz de distâncias (tabela 6) gerada representada pelos haplótipos de cada estação, mostrou que os valores de distâncias intraespecífica atingiram o máximo de 2,6% (ex. ve30 e pr02) e o mínimo de 0% (ex. pr2 e in24); os valores de distância congênica o máximo de 9,9% (ex. ve30 e *P. longirostris*) e o mínimo de 8,7% (ex. pr02 e *P. longirostris*); e entre as duas famílias o máximo de 14,9% (ex. ve03 e *S. crassicornis*) e o mínimo de 14,3% (ex. ve44 e *S. crassicornis*).

Tabela 6. Matriz de distâncias intraespecífica para parte do gene mitocondrial 16S rRNA de *Xiphopenaeus kroyeri* com base no modelo evolutivo Kimura-2-Parâmetros (K2P). As duas últimas linhas representam as distâncias congênicas (*Parapenaeus longirostris*) e entre famílias (*Solenocera crassicornis*).

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1-ve03													
2-ve12	0,024												
3-ve30	0,026	0,002											
4-ve44	0,024	0,000	0,002										
5-pr15	0,024	0,000	0,002	0,000									
6-pr02	0,000	0,024	0,026	0,024	0,024								
7-ou34	0,024	0,000	0,002	0,000	0,000	0,024							
8-ou11	0,000	0,024	0,026	0,024	0,024	0,000	0,024						
9-in19	0,002	0,021	0,024	0,021	0,021	0,002	0,021	0,002					
10-in24	0,000	0,024	0,026	0,024	0,024	0,000	0,024	0,000	0,002				
11-in38	0,002	0,021	0,024	0,021	0,021	0,002	0,021	0,002	0,004	0,002			
12- <i>P. longirostris</i>	0,087	0,097	0,099	0,097	0,097	0,087	0,097	0,087	0,089	0,087	0,087		
13- <i>S. crassicornis</i>	0,149	0,143	0,146	0,143	0,143	0,149	0,143	0,149	0,149	0,149	0,146	0,111	

De acordo aos resultados obtidos de distância genética para o gene 16S rRNA, a distância média entre os indivíduos do clado 1 foi de 0,1% e os indivíduos do clado 2 foi de 0,2%. A divergência genética média encontrada entre os indivíduos dos clados 1 e 2 foi de 2%. Enquanto que, as distâncias encontradas utilizando sequências de referência (*Genbank*) foram de 0,1% no clado 1; 0,6% no clado 2 e 3% entre os dois clados. As distâncias médias dos clados 1 e 2 com o grupo externo *P. longirostris* foram de 9 e 10%, respectivamente.

Os resultados de distâncias aqui encontrados para o 16S rRNA, apresentaram similaridade com a pesquisa de Tsoi et al. (2007). Os autores encontraram, com gene 16S rRNA, valores de distâncias genéticas que variaram de 1,1 a 1,5% em duas variedades de *Penaeus japonicus*, porém os autores não consideraram o 16S rRNA como um caráter diagnóstico adequado entre as duas variedades.

Os valores de divergência encontrados no presente trabalho para o gene 16S rRNA são menores quando comparadas com o COI, e o mesmo resultado foi observado em outros trabalhos com crustáceos (Francisco e Galetti Junior, 2005; Lefébure et al., 2006; Vergamini et al., 2011). Em adição, Lefébure et al. (2006) sugeriram que o 16S rRNA não seria um marcador apropriado para delimitação de espécies em crustáceos. A exemplo de Quan et al. (2004) que não encontraram variação intraespecífica utilizando 16 rRNA de 12 espécies de peneídeos estudadas. Embora o 16S rRNA não seja um marcador apropriado para identificação de espécies, uma aplicação dos genes 16S rRNA e COI em espécies do gênero *Austinixa*, mostrou que, nesse grupo, o 16S rRNA foi mais adequado para identificar relações intraespecíficas

(Harrison, 2004).

A árvore gerada para o gene 16S rRNA formou uma mesma topologia tanto com *Neighbor-Joining* (NJ) quanto com Máxima Parcimônia (MP). Dessa maneira, apenas a topologia de *Neighbor-Joining* (NJ) foi considerada com dois valores obtidos de *Bootstrap* de cada método inseridos na árvore (figura 17).

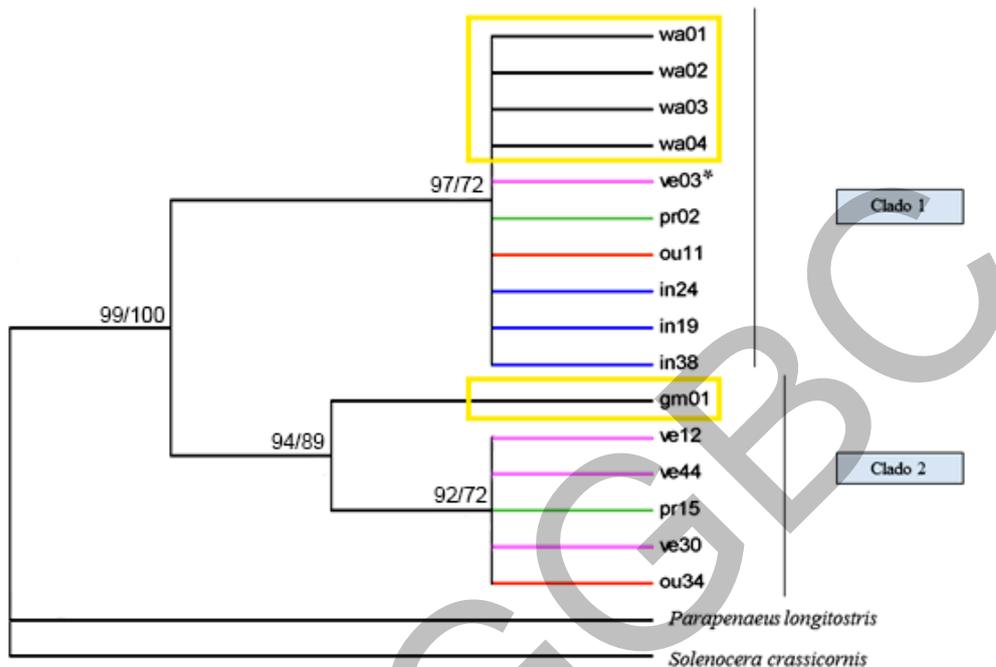


Figura 17. Árvore de Neighbor Joining (NJ) baseada no método de substituição nucleotídica Kimura-2-Parâmetros (K2P) para o gene 16S rRNA, com os haplótipos + acessos do *Genbank* (ramos que estão dentro da caixa amarela). As cores dos ramos (ve03, ve12, ve44, ou11, ou34, in24, in19, in38, pr02 e pr15) fazem referência a que estação pertence: rosa = verão; vermelho = outono; azul = inverno; verde = primavera. Os números que estão nas bases dos ramos são os valores de *bootstrap* de Neighbor Joining (NJ) e Máxima Parcimônia (MP), respectivamente.

Foi verificado na árvore de 16S rRNA (figura 17) a formação de dois clados (1 e 2) com valores confiáveis de *Bootstrap* (99% e 100%). No clado 1 foi agrupado: a maioria dos indivíduos coletados no inverno, outono e primavera, com a presença de apenas um indivíduo do verão (ve03*), além dos acessos obtidos do *Genbank* - wa01, wa02, wa03 e wa04. Verificou-se uma homogeneidade na composição das sequências pertencentes ao clado 1. Enquanto que, no clado 2 foi agrupado: a maioria dos indivíduos que foram coletados no verão, com representantes da primavera e do outono (pr15 e ou34), além do acesso obtido do *Genbank* - gm01.

Possivelmente, a diferença encontrada na divergência entre os indivíduos do clado 2, após ser inserida a sequência gm01 (0,6%) e a homogeneidade encontrada na divergência entre os indivíduos do clado 1 (0,1%), após a inserção das sequências de referência, seja referente à

distância geográfica entre os indivíduos amostrados. Uma vez que, a amostra de *X. kroyeri* (gm01) foi adquirida no Golfo do México-EUA (Chan et al., 2008) enquanto que as demais (wa01, wa02, wa03 e wa04) foram coletadas aqui no Brasil (Paraná e Maranhão) (Maggioni et al., 2001).

Embora a formação de dois grupos distintos seja clara com a análise de todas as metodologias, foi observado que tanto para as análises de morfometria geométrica quanto para as análises genéticas aqui realizadas, alguns indivíduos foram encontrados fora de suas estações esperadas (figuras 9, 10, 15 e 17). A hipótese elaborada para explicar esse fato é de que se tratam de indivíduos que se dispersaram do estoque e, no momento da pesca, foram capturados em conjunto. A possibilidade de introgressão² não foi considerada, pois nas análises de morfometria geométrica, os indivíduos ve03, pr14, pr15 e ou34 agruparam na mesma estação sem sobreposição, conforme os resultados genéticos. Esses resultados indicam ausência de intermediário entre esses indivíduos. No entanto, uma análise complementar com genes nucleares deve ser realizada para averiguar a possibilidade de hibridação.

6.3. Considerações gerais

Com base nos resultados apresentados, foi possível inferir que os dois grupos morfogenéticos apontados pelas análises integradas de morfometria geométrica e sequenciamento dos genes COI e 16S rRNA, representam espécies crípticas de *X. kroyeri*. Além disso, apesar delas ocorrerem em um mesmo local (simpatria), apresentaram distribuições sazonais diferentes. Para a definição de espécie, o conceito filogenético foi considerado. De acordo com Cracraft (1983) *apud* Mayden (1997) pode-se considerar como espécie: “o menor agrupamento diagnosticável de organismos individuais dentro do qual existe um padrão de ancestralidade e descendência parental”.

Variações sazonais na abundância e na biomassa de camarões foram evidenciadas em diferentes espécies em várias regiões da costa brasileira (Branco, 2005; Ferreira & Freire, 2009). Porém, até o momento, parece não haver ainda um consenso entre os pesquisadores a respeito da biologia da espécie *X. kroyeri*, a exemplo de Branco (2005) que afirma que as informações existentes sobre reprodução ainda são contraditórias.

A respeito dos ciclos reprodutivos do camarão sete-barbas, ao longo da costa brasileira, alguns estudos relatam diferentes padrões. De acordo com Branco (2005), na Armação do

² Introdução gênica de diferente espécie ou subespécie em uma população (Frankhan et al., 2008)

Itapocoroy-SP foram verificados dois picos de reprodução do camarão sete-barbas, sendo um principal durante a primavera (outubro-dezembro) e um secundário durante o outono (abril-maio); Já Coelho e Santos (1993) e Santos e Ivo (2000), sugerem que na região Nordeste o principal período de reprodução seja o período de dezembro a abril (primavera e verão). Enquanto que, no Espírito Santo, Martins et al. (2013) indicam um padrão de atividade reprodutiva contínua com picos no verão.

Quanto ao recrutamento, Castro et al. (2004) e Heckler et al. (2013) no litoral paulista e Fernandes et al. (2011) no litoral do Rio de Janeiro, verificaram picos durante o verão e inverno. Em contrapartida, Eutrópio (2009) no litoral do Espírito Santo e Couto et al. (2013) na costa sul baiana, verificaram que o período de recrutamento foi contínuo, sem picos.

Embora os trabalhos supracitados não sirvam de exemplo para verificação de espécies crípticas, pois não realizaram análises genéticas, pode-se visualizar uma variação sazonal nos ciclos reprodutivos. Tendo como base o presente trabalho, pode-se imaginar que estes ciclos, possivelmente estejam relacionados à ocorrência de espécies crípticas. Contudo, a incongruência dos períodos pode ser devida aos padrões de variação abiótica encontrados em cada localidade, como: tipo de sedimento, salinidade, temperatura, entre outros (Santos e Ivo, 2000; Freire, 2005; Fransozo, 2008).

Em relação aos padrões de variações abióticas que podem influenciar na distribuição das possíveis espécies crípticas de *X. kroyeri*, Santos (1997) sugeriu que a salinidade é um dos parâmetros abióticos mais importante, uma vez que os adultos utilizam preferencialmente águas com alta salinidade. No entanto, Lopes et al. (2010) encontraram uma correlação positiva entre a turbidez da água e a abundância, mas não encontraram uma relação significativa entre a abundância, salinidade e temperatura dos camarões sete-barbas estudados na costa de Ilhéus-BA. Segundo o IBAMA (2011), a ocorrência de variações no aporte continental (descarga fluvial dos rios) é apontada como o principal fator responsável pelas variações na abundância do camarão sete-barbas.

Neste estudo foi verificado que existe uma variação na abundância de captura do camarão-sete-barbas ao longo do ano na costa da cidade de Itacaré-BA (comunicação pessoal). Segundo os pescadores locais, nos últimos anos, as maiores quantidades de camarão sete-barbas são obtidas nos meses de agosto e setembro (inverno), em águas mais turvas e em maiores profundidades (aproximadamente 20 metros). Porém, a partir do mês de dezembro (verão), a pesca do camarão-sete-barbas em maiores profundidades torna-se dispendiosa, pois menores quantidades de camarão são obtidas. Sendo, assim os pescadores afirmaram que no verão a pesca é realizada em locais mais rasos e em águas mais claras (faixa de 5 metros). Eça (2009),

corroborar com as afirmações dos pescadores segundo às características da água, pois observaram águas mais transparentes em março (verão) e maior turbidez em agosto (inverno) no litoral de Itacaré.

O histórico a respeito da classificação taxonômica de *Xiphopenaeus* é marcada por irresoluções, com a delimitação de quantas espécies pertenciam ao gênero, ou se *X. riveti* seria uma espécie válida ou seria um sinônimo de *X. kroyeri* (Gusmão et al., 2013).

Diante das incertezas taxonômicas sobre o gênero *Xiphopenaeus*, Gusmão e Solé-Cava (2002) desenvolveram um sistema de diagnóstico molecular para identificar diferentes espécies de camarões comerciais brasileiros. Com essa metodologia, dois diferentes haplótipos PCR / RFLP do citocromo oxidase I (COI) gene mtDNA foram encontrados em populações de *X. kroyeri* do litoral brasileiro.

Gusmão et al. (2006), confirmaram a ocorrência de espécies crípticas de *Xiphopenaeus kroyeri* do Atlântico (os autores denominaram *Xiphopenaeus* sp. 1 e *Xiphopenaeus* sp. 2) com dados de COI e aloenzimas, e validaram a espécie *X. riveti* do Pacífico. Em adição, resultado semelhante foi encontrado em um estudo que utilizou 5 loci de microsatélite para o *X. kroyeri* (Francisco, 2010). A autora verificou temporalmente um $F_{st} = 0,045$ e $p < 0,05$, sugerindo a ocorrência de dois estoques, e ausência de estruturação genética espacial em localidades do litoral sudeste-sul do Brasil.

O período de defeso anual estipulado para o camarão sete-barbas no litoral de Itacaré é entre 1º de abril a 15 de maio (outono) e de 15 de setembro a 31 de outubro (primavera). A possibilidade de ocorrência de duas espécies crípticas com comportamentos diferentes constitui um fator importante a ser considerado nos períodos pré-definidos, pois as medidas de manejo atuais podem não estar protegendo devidamente as duas espécies (Santos et al., 2007). Portanto, estudos complementares com enfoque na análise temporal devem ser realizados para as populações de camarão sete-barbas.

7. CONCLUSÕES

- A análise de morfometria geométrica detectou variações temporais na forma do cefalotórax da espécie *X. Kroyeri*, separando-as em dois grupos significativamente distintos entre as estações, e os resultados sobre o tamanho do centróide demonstraram que a fêmeas possuem tamanhos mais uniformes em relação aos machos;

- Ao analisar a diversidade genética dos genes COI e 16S rRNA, dois grupos com altos valores de divergência foram formados para *X. kroyeri*.
- Ao compilar os dados morfológicos com os dados genéticos, concluiu-se que os dois grupos formados se tratam de duas possíveis espécies crípticas de *X. kroyeri* que ocorrem em simpatria, porém com distribuições sazonais distintas;
- Devido a possibilidade de ocorrência de duas espécies crípticas de *X. Kroyeri* sugere-se que o defeso estipulado para os camarões sete-barbas na região estudada talvez não seja efetivo por se tratarem de estoques diferenciados. Portanto, mais estudos são necessários para um delineamento de planos de manejo mais adequados.

PPGGGBC

8. REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, I. V., et al. 2013. Sexual dimorphism in *Litopenaeus vannamei* (Decapoda) identified by geometric morphometrics. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 8(4):276-281.
- ADAMS, D.C., et al. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Ital. J. Zool.*, 71: 5-16.
- AGUZZI, J. et al 2009 Influence of diel behaviour in the morphology of decapod natantia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 96, 517–532
- ALARCON, D. T., et al. 2005. Problemas e expectativas quanto ao processo de criação da Reserva Extrativista Marinha de Itacaré (BA) – Brasil. In: XI Congresso Latinoamericano de Ciencias del Mar 72p.
- ALMEIDA, A. O., et al. 2006. Crustáceos decápodos estuarinos de Ilhéus, Bahia, Brasil. *Biota Neotropica*, vol. 6, núm. 2, pp. 1-24, Instituto Virtual da Biodiversidade Brasil. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199114291023>.
- ARIAS, M. C.; FRANCISCO, F. O. SILVESTRE, D. 2003. O DNA mitocondrial em estudos populacionais e evolutivos de meliponíneos. Editora UNESC, Criciúma.
- AVISE JC. 1986. Mitochondrial DNA and the evolutionary genetics of higher animals. *Phil Trans R Soc Lond B*. 312: 325-342.
- BAHIA PESCA. Pesca artesanal. Disponível em <http://www.bahiapesca.ba.gov.br/pesca-artesanal>. Acesso em: 26 de jan. 2014.
- BARCODE OF LIFE. Disponível em < <http://www.barcodeoflife.org/>>. Acesso em: 03 de maio. 2015.
- BILGIN, R. et al 2014. DNA barcoding of twelve shrimp species (Crustacea: Decapoda) from Turkish seas reveals cryptic diversity. *Medit. Mar. Sci.*, 16/1, 2015, 36-45.
- BERTOCCHI S. et al. 2008. Morphometrical characterization of the *Austropotamobius pallipes* species complex. *Journal of Natural History*. Vol. 42, Nos. 31–32.
- BIOTECH.BIO5. 16s rdna sequencing to identify unknown microorganisms. Disponível em: <http://biotech.bio5.org/sites/default/files/pdf/16s%20rDNA%20SeqAnal.pdf>. Acesso em: 03 de maio. 2015

BISSARO, F. G.; GOMES-JR. J. L.; BENEDITTO, A. P. M. DI. 2012 Morphometric variation in the shape of the cephalothorax of shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* on the east coast of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 93(3), 683–691

BORREL, Y. J. *et al.* 2007. Spatial and temporal genetic analysis of the Cuban white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) schmitti*. *Aquaculture*, v. 272, p. 125-138.

BOOKSTEIN, F. L. 1991. *Morphometric Tools for Landmark Data. Geometry and Biology*. Cambridge University Press, Cambridge/New York/Port Chester/Melbourne/Sydney, XVIII, 435 p.

BOOKSTEIN, F. L. 2000. *Morphometrics*. University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA. Published online: April 2001. DOI: 10.1038/npg.els.0002648.

BONNIE, A. F. *et al.* 2014. Phenotypic and genomic plasticity of alternative male reproductive tactics in sailfin mollies. *Proc. R. Soc. B* 281: 20132310. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.2310>

BRANCO, J. O.; LUNARDON-BRANCO, M. J.; FINIS, A. D. E. 1994. Crescimento de *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Natantia, Penaeidae) da região de Matinhos, Paraná, Brasil. *Arq. Biol. Tecnol.*, v.37, n.1, p.1-8.

BRANCO, J. O.; VERANI J. R. 1998. Aspectos bioecológicos do camarão-rosa *Penaeus brasiliensis* Latreille (Natantia, Penaeidae) da Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 15, p. 345-351.

BRANCO, J. O., *et al.* 1999. Estrutura Populacional do Camarão Sete-Barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862), na Foz do Rio Itajaí-Açú, Itajaí, SC, Brasil. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/babt/v42n1/v42n1a16.pdf>. Acessado: 8 de setembro de 2014.

BRANCO, J.O. e MORITZ Jr., H.C. 2001. Alimentação natural do camarão-sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda) na Armação de Itapocoroy, Penha Santa Catarina. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18(1): 53-61.

BRANCO, J.O. 2005. Biologia e pesca do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Crustacea, Penaeidae), na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22(4): 1050-1062.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA. Balanço 2013. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Publicidade/Cartilha-Balan%C3%A7o-2013-Minist%C3%A9rio-Pesca-Aquicultura.pdf>. Acessado em 03 de janeiro de 2015.

_____. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Defeso. Disponível em www.ibama.gov.br/cepsul.

BURDA, C.L.; SCHIAVETTI, A. 2008. Análise ecológica da pesca artesanal em quatro comunidades pesqueiras da Costa de Itacaré, Bahia, Brasil: Subsídios para a Gestão Territorial Revista da Gestão Costeira Integrada, v. 8 (2), p. 149-168.

CADRIN S.X., 2000, Advances in morphometric identification of fishery stock. Rev. Fish. Biol. Fisher. 10, 91-112.

CADRIN S.X., 2010, Advances in morphometric identification of fishery stocks. Reviews in Fish Biology and Fisheries 10: 91–112, 2000. Kluwer Academic Publishers.

CASTRO, R. H. *et al.* 2004. Population structure of the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea: Penaeoidea) in the litoral of São Paulo, Brazil. SCIENTIA MARINA, 69 (1): 105-112.

CHAN, T. *et al.*, 2008. Phylogenetic relationships among the genera of the Penaeidae (Crustacea: Decapoda) revealed by mitochondrial 16S rRNA gene sequences. Zootaxa 1694: 38–50 (2008) www.mapress.com/zootaxa.

CHU, K. H *et al.* 2003. Application of mitochondrial control region in population genetic studies of the shrimp *Penaeus*. Molecular Ecology Notes. doi: 10.1046/j.1471-8286.2003.00376.x.

CHENG, J.; SHA, Z.; LI, R. 2015. DNA barcoding of genus *Metapenaeopsis* (Decapoda: Penaeidae) and molecular phylogeny inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences. Biochemical Systematics and Ecology 61 (2015) 376e384.

CLAVERIE.T.; CHAN. E.; PATEK S. N. 2010. Modularity and scaling in fast movements: power amplification in mantis shrimp. Evolution 65-2: 443–461.

COELHO, P. A.; SANTOS, M. C. F. 1993. Época da reprodução do camarão-sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) na região de Tamandaré, PE. Boletim Técnico Científico CEPENE, Rio Formoso, 1 (1): 171-186.

COSTA, R. C.; FRANSOZO, A.; MELO, G. A. S.; FREIRE, F. A. M. 2003. Chave Ilustrada Para Identificação Dos Camarões Dendrobranchiata Do Litoral Norte Do Estado De São Paulo, Brasil. Biota Neotropica, v3 (n1) - BN0150301.

- COSTA et al. 2007. Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 64: 272–295.
- COUTO, E. C. G. *et al.* 2013. O Camarão Sete-Barbas na Bahia: Aspectos da Sua Pesca e Biologia. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 39(3): 263–282.
- CREPALDI, D. V. *et al.* 2007. A situação da Aquacultura e da pesca no Brasil e no mundo. *Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte*, v.30, n.3/4, p.81-85. Disponível em www.cbra.org.br
- DALL, W. *et al.* 1990. Life Histories. In: *The biology of penaeid: Advances in Marine Biology*. Academic Press, Londres. p.283-314.
- DIAS NETO, J. 2010. Gestão do uso dos recursos pesqueiros marinhos no Brasil – Brasília: Ibama. 242 p.: il.; 22 cm
- EAS - Estudo Ambiental de Sísmica para a Atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 3D, Bacia de Campos, Bloco CAMPOS SW - FASES I e II Revisão 00 - Maio/2008 - Subseção 4.1 - Meio Físico. 16 p.
- EÇA, G. F. 2009. Biogeoquímica de nutrientes e clorofila-a na plataforma continental rasa entre Itacaré e Canavieiras – Bahia 56f. Dissertação mestrado- Programa de Pós-Graduação em Sistemas Aquáticos Tropicais, Universidade Estadual de Santa Cruz -Ilhéus.
- EUTRÓPIO, F.J. 2009. Biologia do camarão *Xiphopenaeus kroyeri* (Dendobranchiata: Penaeidae) e a fauna acompanhante relacionada a sua pesca em Anchieta, Espírito Santo, Brasil. 118f. Dissertação mestrado - Programa de Mestrado em Ecologia de Ecossistemas, Centro Universitário Vila Velha-ES.
- FAO. 2014. *The State of World Fisheries and Aquaculture: opportunities and challenges*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution*, v. 39, p.783-791,1985.
- FERNANDES, L. P. 2011. Crescimento e recrutamento do camarão sete barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, Heller, 1862, no norte do estado do Rio de Janeiro. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais). Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro –UENF, Campos dos Goytacazes – RJ.
- FÉRAL, J.P. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 268, p. 121-145.
- FERREIRA, N. C. & FREIRE, A. S. 2009. Spatio-temporal variation of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) associated to the seasonal overture of the sandbar in a subtropical lagoon. *Iheringia, Sér. Zool.*, Porto Alegre, 99(4):390-396.
- FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., LUTZ, R. & VRIJENHOEK, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294–299.

FRANCISCO, A. K.; GALETTI JUNIOR, P. M. 2005. Genetic distance between broodstocks of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Decapoda, Penaeidae) by mtDNA analyses. *Genetics and Molecular Biology*, v. 28, p. 258-261.

FRANCISCO, A. K. 2010. Caracterização genética populacional do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER, 1862) no litoral Sudeste-sul do Brasil. 101f. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

FRANCOY, T. M. & FONSECA, V. L. I. 2010. A Morfometria Geométrica de asas e a identificação automática de espécies de abelhas. *Oecologia Australis* 14(1): 317-321, Março 2010 doi:10.4257/oeco.2010.1401.20.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. 2008. Fundamentos de Genética da Conservação.: SBG (Sociedade Brasileira de Genética). Ribeirão Preto, SP. 280 p.

FRANSOZO, V. 2008. Morfologia dos caracteres sexuais secundários e caracterização gonadal masculina em *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller 1862) (Crustacea Dendrobranchiata, Panaeoidea). 73f. Dissertação mestrado – Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração: Zoologia. Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Botucatu – SP.

FRANSOZO, V. *et al.* 2011. Development of secondary sexual characters in the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller 1862) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae): a scanning electron microscope study. *Invertebrate Reproduction & Development*, 55:1, 6-15, DOI: 10.1080/07924259.2010.548633.

GIRI, F. & LOY, A. 2008. Size and shape variation of two freshwater crabs in argentinean patagonia: the influence of sexual dimorphism, habitat, and species interactions. *Journal of Crustacean Biology*, 28(1):37-45.

GRAÇA-LOPES, R. *et al.* 2007. Aportes ao Conhecimento da Biologia e da Pesca do Camarão-Sete-Barbas (*Xiphopenaeus kroyeri* HELLER, 1862) no Litoral do Estado de São Paulo, BRASIL. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 33(1): 63 - 84,

GRUENTHAL, K. M.; ACHESON, L. K.; BURTON, R. S. 2007. Genetic structure of natural populations of California red abalone (*Haliotis rufescens*) using multiple genetic markers. *Marine Biology*, v. 152, p. 1237–1248.

GUSMÃO, J. *et al.* 2006. Cryptic species and population structuring of the Atlantic and Pacific seabob shrimp species, *Xiphopenaeus kroyeri* and *Xiphopenaeus riveti*. *Marine Biology* (2006) 149: 491–502.

GUSMÃO, J.; PIERGIORGE, R. M.; TAVARES, C. 2013. The Contribution of Genetics in the Study of the Sea-Bob Shrimp Populations from the Brazilian Coast. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 39(3): 323 – 338.

GUSMÃO J.; SOLÉ-CAVA, A. M. 2002. Um sistema de diagnóstico molecular para a identificação de espécies comerciais de camarões marinhos brasileiros. In: I Congresso Iberoamericano Virtual de Acuicultura - CIVA 2002, 754-764. Disponível em: <http://www.civa2002.org>.

HAMER, Øy. & HARPER, D.A.T., 2008. PAST – Paleontological Statistics, version 1.81. <HTTP://folk.uio.no/ohammer/past/>, acessado em 07/Janeiro/2015.

HALL, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.

HARRISON, J.S., 2004. Evolution, biogeography, and the utility of mitochondrial 16s and COI genes in phylogenetic analysis of the crab genus *Austinixa* (Decapoda: Pinnotheridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30 (2004) 743–754. 1055-7903/\$ - see front matter _ 2003 Elsevier Inc. All rights reserved. doi:10.1016/S1055-7903(03)00250-1.

HEBERT, P.D.N, CYWINSKA, A., BALL, S. L., DE WAARD, J.R. 2003. Biological Identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.* DOI 10.1098/rspb.2002.2218.

HECKLER, G. S. *et al.* 2013. Biologia Populacional e Reprodutiva do Camarão Sete-Barbas na Baía de Santos, São Paulo. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 39(3): 283 – 297.

HOPKINS M. J. & THURMAN C. L. 2010. The geographic structure of morphological variation in eight species of fiddler crabs (Ocypodidae: genus *Uca*) from the eastern United States and Mexico. *Biological Journal of the Linnean Society*, 100, 248–270

INEMA -. Plano de Manejo – área de proteção ambiental do litoral de Itacaré e Serra Grande. Vol.I. parte 2. Disponível em: <http://www.inema.ba.gov.br/wp-content/uploads/2013/07/Vol-I-Parte-2-Plano-de-Manejo-Itacar%C3%A9-Serra-Grande1.pdf>. Acessado em 15 mai 2015.

_____. Plano de Manejo – área de proteção ambiental do litoral de Itacaré e Serra Grande. Vol.II. parte 1. Disponível em: <http://www.inema.ba.gov.br/wp-content/uploads/2013/07/Vol-II-Parte-1-Plano-de-Manejo-Itacar%C3%A9-Serra-Grande1.pdf>. Acessado em 15 mai 2015.

JEFFERY, N.W. *et al.*, 2011. Species Diversity and Phylogeographical Affinities of the Branchiopoda (Crustacea) of Churchill, Manitoba, Canada. *PLoS ONE* 6(5): e18364. doi:10.1371/journal.pone.0018364.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, v. 16, p. 111-120, 1980

KLINGENBERG, C. P. 2002. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. *Gene* 287 (2002) 3–10. Elsevier Science B.V.

KLINGENBERG, C. P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11:353–357.

- KREIVI, M. *et al.* 2005. Genetic structure and gene flow in an endangered perennial grass, *Arctophila fulva* var. *pendulina*. *Conservation Genetics*, v. 6, n. 5, p. 683-696.
- LANE, D. J., 1985. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82.
- LEFÉBURE *et al.* 2006. Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: Proposal of a molecular threshold to help species delimitation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40 (2006) 435–447.
- LOPES, J. B. B. S. *et al.* 2010. Proporção Sexual do Camarão Sete-Barbas *Xiphopenaeus kroyeri* na Costa de Ilhéus, Bahia, BRASIL. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 36(4): 251 – 262.
- MAGALHÃES, C. *et al.* 2014. Morphological and molecular characterization of a new species of *Fredius* (Decapoda, Pseudothelphusidae) from Rondônia, southern Amazonia, Brazil. *Koninklijke Brill NV, Leiden. Advances in freshwater decapod systematics and biology*: 101-114.
- MAGGIONI, R. *et al.* 2001. Molecular Phylogeny of Western Atlantic *Farfantepenaeus* and *Litopenaeus* Shrimp Based on Mitochondrial 16S Partial Sequences. *Mol Phylogenet Evol.* 2001 Jan;18(1):66-73.
- MARÉS E CORRENTES DE MARÉ; CORRENTES OCEÂNICAS Disponível em: <https://www.mar.mil.br/dhn/bhmn/download/cap10.pdf>. Acesso em: 15 de dezembro de 2014.
- MARTINS, A. S. *et al.* 2013. Biologia Reprodutiva do Camarão Sete-Barbas no Litoral Centro Sul e Sul do Espírito Santo, Brasil. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 39(3): 205 – 215.
- MATHEWS, L. M. *et al.* 2007. Variable microsatellite markers for a snapping shrimp (*Alpheus armillatus*) species complex. *Molecular Ecology Notes*, v. 7, p. 471–473.
- MATIOLI, S. R.; FERNANDES, F. M. C. 2012. *Biologia Molecular e Evolução*. Sociedade Brasileira de Genética. Editora Holos - Ribeirão Preto; 256 p.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA. Boletim estatístico da pesca marítima e estuarina do nordeste do Brasil 2005. Disponível em www.icmbio.gov.br/cepene/download.php?id_download=495.
- MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. 2011. Estatística da aquicultura e pesca no Brasil. Disponível em <http://www.mpa.gov.br/publicacoes><http://www.mpa.gov.br/#info-estatistica/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>.
- _____. 2015. Cartilha Programa e Ações. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/publicacoes><http://www.mpa.gov.br/#info-estatistica/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>
- MONTEIRO L.R., REIS S.F. 1999. *Princípios de morfometria geométrica*. Ribeirão Preto: Holos., 198p.
- MOTA-ALVES, M. I.; RODRIGUES, M. M., 1997. Aspectos da Reprodução do Camarão Sete-Barbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (DECAPODA, MACRURA) na Costa do Estado do Ceará. *Arq. Ciên. Mar*, 17 (1):29-35.

Nei M, Kumar S. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University.

Press. 333pp. OLIVEIRA, E. S. 2008. Impactos socioambientais e econômicos do turismo e suas repercussões no desenvolvimento local: o caso de Itacaré – Bahia. 153f. Dissertação mestrado- Programa de Pós-Graduação em Cultura e Turismo, Universidade Estadual de Santa Cruz -Ilhéus.

PALUMBI, S.R. (1996). Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: Hills D, Moritz C, Mable B, eds. Molecular Systematics. Massachusetts: Sinauer Associates, 205–248.

PEREIRA. L. G.de C. 2012. Pesca e aquicultura no brasil. Câmara dos Deputados Consultoria Legislativa Anexo III - Térreo Brasília – DF. Disponível em: <http://www2.camara.leg.br/documentos-e-pesquisa/publicacoes>

PHILIPP, D. P. et al. Point-Counterpoint - Conservation genetics and current stocking practices - Are they compatible? Fisheries, v. 18, p. 14-17, 1993

PIERGIORGE, R.M., et al. 2014. Haplotype-specific single-locus multiplex PCR assay for molecular identification of sea-bob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862), cryptic species from the Southwest Atlantic using a DNA pooling strategy for simultaneous identification of multiple samples. Biochemical Systematics and Ecology 54 (2014) 348 e 353.

PONTON, D. et al. 2013. Geometric morphometrics as a tool for identifying emperor fish (Lethrinidae) larvae and juveniles. Journal of Fish Biology, doi:10.1111/jfb.12138.

PRETO, A. L. 2009. Estruturação populacional do camarão-rosa sobre-explotado *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967) no litoral sul-sudeste brasileiro e seu significado para a conservação / Artur de Lima Preto. -- São Carlos : UFSCar, 2009.

PROPOSTA DE PLANO NACIONAL de Gestão para o uso sustentável de Camarões Marinhos do Brasil / José Dias Neto, Organizador. – Brasília: IBAMA, 2011. 242p. : il. color. ; 15 cm. (Série Plano de Gestão Recursos Pesqueiros, 3).

QUAN, J. et al., 2004. Phylogenetic Relationships of 12 Penaeoidea Shrimp Species Deduced from Mitochondrial DNA Sequences. Biochemical Genetics, Vol. 42, Nos. 9/10. 0006-2928/04/1000-0331/0 C _ 2004 Springer Science+Business Media, Inc.

RIEDLECKER. E. I.; ASHTON. G. V.; RUIZ. G. M. 2009. Geometric morphometric analysis discriminates native and non-native species of Caprellidae in western North America. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 89(3), 535–542.

ROHLF, F.J. & MARCUS. L. F. 1993. A Revolution in morphometrics. Tree vol. 8, no. 4,

ROHLF, F.,J. 2013 TpsDig, Digitize Landmarks and Outlines, Version 2.17. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

ROHLF F. J. 2013. TpsRelw, relative warps analysis, version 1.53. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook

ROHLF, F., J. 2013. TpsUtil, File Utility Program, Version 1.58. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

ROZAS J, et al. 2010. DnaSP, DNA Sequence Polymorphism 5.10. Disponível em: <http://www.ub.edu/dnasp/>. Acesso em: 29 Julho. 2015.

RUFINO. M. M.; ABELLÓ. P.; YULE. A. B. 2006. Geographic and gender shape differences in the carapace of *Liocarcinus depurator* (Brachyura: Portunidae) using geometric morphometrics and the influence of a digitizing method. Journal of Zoology. Print ISSN 0952-8369

SANTOS, J. B. B, et al s/d. Crescimento Relativo do Camarão Sete-Barbas *Xiphopenaeus Kroyeri* (HELLER, 1862) na Costa de Ilhéus (Bahia, BRASIL). * Parte do projeto de Pesquisa **A fauna acompanhante da pesca do camarão na costa de Ilhéus (Ba): estudos para regulação da exploração do camarão e estratégias para sua conservação (AFAPESCA)** financiado pelo CNPq e FAPESB. - Universidade Estadual de Santa Cruz – BA.

SANTOS, M.C.F. 2000. Biologia e Pesca de Camarões Marinhos ao largo de Maragogi (ALAGOAS – BRASIL). Bol. Téc. Cient. CEPENE Tamandaré v.8 n.1 p. 7.

SANTOS, M. C. F. & IVO, C. T. C. 2000. Biologia e pesca do camarão setebarbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) no município de Caravelas (Bahia - Brasil).

SANTOS, J. B. B. 2008 Variação Espaço-Temporal do Camarão Sete-Barbas *Xiphopenaeus Kroyeri* (HELLER, 1862) na Costa de Ilhéus (Bahia, BRASIL). 94 f. Dissertação (Mestrado em **Sistemas Aquáticos Tropicais - Área de concentração: Ecologia**). Programa de Pós-Graduação em Sistemas Aquáticos Tropicais da Universidade Estadual de Santa Cruz – BA.

SANTOS, M.C.F. 1997. O camarão Sete-Barbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) no Nordeste do Brasil./ Maria do Carmo Ferrão Santos. Recife: UFP, 232 p.

SANTOS, M.C.F. *et al.* 2001. Análise de Produção e Recrutamento do Camarão Sete-Barbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea: Decapoda: Penaeidae), no Litoral do Estado de Sergipe – Brasil. Bol. Técn. Cient. CEPENE, Tamandaré, v.9, n.1, p. 53 -71.

SANTOS, M.C.F.; FREITAS, A.E.T.S. 2007. Avaliação Biológica de Camarões Peneídeos Capturados no Município de São José da Coroa Grande (Pernambuco – Brasil). Bol. Téc. Cient. CEPENE, Tamandaré, v. 15, n. 1, p. 63-79.

SANTOS, M. C. F.; SILVA, C. G. M. 2008. Aspectos Biológicos do Camarão Sete-Barbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER, 1862) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae), no Município de Caravelas (Bahia – Brasil). Bol. Téc. Cient. CEPENE, Tamandaré - PE - v. 16, n. 1, p. 85-97.

SILVA, A. 2003. Morphometric variation among sardine (*Sardina pilchardus*) populations from the northeastern Atlantic and the western Mediterranean. e ICES Journal of Marine Science, 60: 1352e1360.

SILVEIRA, B. E. da. 2011. Morfometria geométrica comparativa de asas de Sarcophagidae (Diptera) de interesse forense: uma ferramenta eficaz para a identificação? 76 f. Dissertação de Mestrado - Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Entomologia) da Universidade Federal do Paraná.

- STILLWELL, R. C. et al. 2010 Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution. *Annu. Rev. Entomol.* 55:227–45
- STOECKLE, M. 2003. Taxonomy, DNA, and the Bar Code of Life. *Bioscience* Vol. 53 No. 9.
- TAMURA, K. et al., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30(12):2725–2729 doi:10.1093/molbev/mst197.
- TSOI, K.H. et al., 2007. Molecular population structure of the kuruma shrimp *Penaeus japonicus* species complex in western Pacific. *Mar Biol* (2007) 150:1345–1364 DOI 10.1007/s00227-006-0426-x.
- VALLES-JIMENEZ, R.; CRUZ, P.; PEREZ-ENRIQUEZ, R. 2005. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation. *Marine Biotechnology*, v. 6, p. 475-484,.
- VASEEHARAN, B. et al. 2013. Molecular markers and their application in genetic diversity of penaeid shrimp. *Aquacult Int* 21:219–241
- VERGAMINI, F.G. et al., 2011. Genetic variability of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). *Produção Intelectual - BDPI, Universidade de São Paulo. Contributions to Zoology*, v.80, n.1, p.67-83.
- WARD, R. D., HOLMES, B. H. 2007. An analysis of nucleotide and amino acid variability in the barcode region of cytochrome c oxidase I (cox1) in fishes. *Molecular Ecology Notes*. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01886.x.
- WORMS – World Register of Marine Species. Disponível em <http://www.marinespecies.org/>
- Xia. X. 2008. Assessing substitution saturation with DAMBE. In: *The Phylogenetic Handbook: a Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*, Philippe Lemey, Marco Salemi, and Anne-Mieke Vandamme (eds.) Published by Cambridge University Press
- XIA. X & XIE. Z, 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity*. 92:371-373.
- ZELDITCH et al 2004 *Geometric Morphometrics for Biologists*. Elsevier Ltda. Cap 7. Página 155.