

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – CAMPUS DE BOTUCATU

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – AC: ZOOLOGIA

MESTRADO

Caracterização das formas juvenis e adultas dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) (Decapoda: Penaeidae) por meio de técnicas moleculares e morfologia comparativa

Sarah de Souza Alves Teodoro

Orientador: Prof. Dr. Rogério Caetano da Costa

Co-orientadora: Dra. Mariana Terossi Rodrigues Mariano

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Câmpus de Botucatu, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – Área de Concentração: Zoologia.

Botucatu

- 2014 -

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Teodoro, Sarah de Souza Alves.

Caracterização das formas juvenis e adultas dos camarões-rosa
Farfantepenaeus brasiliensis (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Pérez-Farfante, 1967)
(Decapoda: Penaeidae) por meio de técnicas moleculares e morfologia comparativa /
Sarah de Souza Alves Teodoro. -
Botucatu, 2014

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências
de Botucatu.

Orientador: Rogério Caetano da Costa

Coorientador: Mariana Terossi Rodrigues Mariano

Capes: 20400004

1. Camarão - Identificação.
2. Decápode (Crustáceo).
3. Morfometria.
4. Biometria.
6. Genética molecular.

Palavras-chave: Biometria; Decapoda; São Paulo; Sistemática.

**De nuestros miedos
nacen nuestros corajes
y en nuestras dudas
viven nuestras certezas.
Los sueños anuncian
otra realidad posible
y los delirios otra razón.
En los extravíos
nos esperan hallazgos,
porque es preciso perderse
para volver a encontrarse.**

Eduardo Galeano

Dedico esta dissertação aos meus pais,

Cleusa e Ubirajara.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de estudos concedida nos 19 meses restantes do mestrado (#2011/16268-7), além de também ter financiado toda minha iniciação científica; pelos recursos financeiros concedidos ao BIOTA Temático (#2010/50188-8), propiciando a coleta e a análise dos dados utilizados, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fernando Luis Medina Mantelatto, e no qual está inserida esta dissertação como projeto vinculado; pelos recursos concedidos ao Prof. Dr. Rogério Caetano da Costa, e que propiciaram parte das coletas de dados para este projeto (AR: #2009/54672-4; JP: #2004/07309-8).

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudos concedida nos 4 primeiros meses do mestrado e ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de estudos concedida no 5º mês (133859/2012-6), e Bolsa Produtividade PQ2 (#304784/2011-7).

Agradeço ao Prof. Dr. Rogério Caetano da Costa por todo esse tempo de convivência e aprendizado, e por orientar toda a minha carreira científica, desde meu primeiro ano de graduação. Sua compreensão quando passei por difíceis momentos financeiros, sempre fazendo o que pôde para que eu continuasse no caminho científico, foi essencial para estar onde estou. Também pelas condições oferecidas para a realização desta dissertação e por todas as sugestões. Assim fica o compromisso de retribuir tudo o que fez e continua fazendo por mim.

Agradeço à Dra. Mariana Terossi, que mais do que uma co-orientadora, foi principalmente uma grande amiga, cujos conselhos ultrapassaram a barreira científica. Aprender uma técnica nova e fora da sua área é difícil para qualquer um, e a Mari com certeza foi peça chave para que eu conseguisse finalizar essa etapa sem enfiar a cabeça na autoclave de tanto desespero. Obrigada por segurar minha mão enquanto eu andava tão longe da minha zona de conforto. Você foi essencial para que tudo isso desse certo, e fica aqui meu agradecimento, *ad aeternum*.

Ao professor Dr. Fernando Luis Medina Mantelatto, por ter me recebido em seu laboratório e disponibilizado toda a estrutura necessária para realização desta dissertação, e por tudo o que aprendi nos meses em que estive lá. Agradeço por disponibilizar toda a infraestrutura e recursos no auxílio às coletas, possibilitando assim a realização deste trabalho. Obrigada também por todos os conselhos científicos, suas considerações foram muito valiosas para a tomada de decisões que definem nossas carreiras.

Aos Profs. Titulares Adilson Fransozo e Maria Lúcia Negreiros Fransozo, coordenadores do NEBECC (Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos) de Botucatu, pelo grande exemplo de profissionalismo e dedicação na área da pesquisa, e por sempre estarem de portas abertas nos auxiliando em qualquer atividade. Além disso, um agradecimento especial a Lúcia, que sempre me auxiliou durante minha iniciação científica e que admiro muito como pesquisadora.

Ao ministério do Meio Ambiente - IBAMA - (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais e Renováveis) por conceder a licença para coletar o material biológico nas áreas estudadas.

Ao curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas; ao Departamento de Zoologia e Instituto de Biociências de Botucatu (IBB – UNESP), pelas facilidades oferecidas durante a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências (FC) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Bauru, pela estrutura fornecida para a realização deste trabalho.

Aos Djalma Rosa (Passarinho) e aos pescadores que auxiliaram na coleta dos espécimes utilizados nesse projeto, não apenas por realizarem com muita competência e profissionalismo o trabalho amostral, mas também pela amizade e inúmeros ensinamentos sobre a vida no mar.

Ao professor Dr. Antonio Leão Castilho pelos conselhos e apoio científico. Ao pessoal de Botucatu, que sempre me acolheu durante o período de disciplinas e atividades da pós-graduação: Mi, Big Hair, Joyce, Dino e todo o pessoal do NEBECC, sempre nos acolhendo com um cafezinho.

A todos os amigos do LBSC, Mateus, Kelps, Naty, Isa, Rafa, Kana, Fabrício, Vanda, Raquel, Tati, Barbara, Leo, Juliana e Caio, por me acolherem tão bem no laboratório. Pela paciência com minhas saredas, pela amizade e pelos cafezinhos, sempre tão felizes. Agradeço também ao Mateus pela amizade científica durante quase todo o meu tempo no LABCAM e durante o meu período no LBSC. Sua ajuda e contribuições acerca dos camarões-rosa foram muito valiosas para a execução deste trabalho.

Aos companheiros de “cebolarório”, o famoso LABCAM, cuja ajuda de sempre também vai muito além do científico: Daphinera, Sá, Chuck, Nelito, Abner, Woody, Régis, Fi, Ana, Helena e Jordi.

Ao Thiago Maia Davanso (Chuck), por me ensinar a morfometria tradicional aplicada neste projeto. Sua empolgação com os resultados aqui obtidos foi renovadora para a finalização deste trabalho.

Ao João Alberto Farinelli Pantaleão (Nelito), amigo de dentro e fora do laboratório, pela amizade e pela parceria e pelas talentosas ilustrações desse trabalho, verdadeiras artes científicas.

Aos amigos de Ribeirão que me hospedaram de forma tão amigável, Mi, Mari, Matheus e o pessoal da Kala, Capeta, Baiano. Vocês fizeram minha estadia em Ribeirão um tempo muito feliz, carregando-os em meu coração por toda a vida.

Ao Rafael Campos Duarte (Mogli), por me ensinar com tanta paciência e gentileza a morfometria geométrica aplicada neste projeto, mesmo quando eu vinha com as dúvidas estatísticas mais básicas.

Aos meus grandes amigos de São Sebastião, Pôla e Pedrão, pela amizade e pela hospedagem amigável durante meu aprendizado de morfometria geométrica.

Ao Luiz Leonardo Saldanha (Leozin), por me emprestar a câmera fotográfica utilizada em algumas análises realizadas neste projeto.

Aos meus companheiros de Elza, minha família de Bauru: Naty, Coca, Fer, Flora, Lu, Diurno, Tamires e aos agregados, Leozin, Fer, Nelito e Thais, pela amizade e pelo tempo tão feliz que sempre passamos juntos. O amor de vocês é força pra vida!

Ao Quen, meu amor, por ser tão companheiro e compreensivo em uma fase tão difícil na minha vida. Obrigada pela ajuda com as figuras deste projeto e por ouvir sorrindo tantas vezes a diferença entre um camarão e outro. Sua ajuda e seu positivismo foram essenciais para acalmar meu coração nos momentos de ansiedade. Te amo, nego!

À minha irmã Bárbara, que sempre me ajudou durante toda a minha trajetória científica, inclusive financeiramente. Obrigada pela amizade e pelo amor infinitos. Estamos juntas sempre, seja na distância ou se abraçando de medo de uma grande onda no mar!

A todos da minha família, Nina, tias, tios, primos, Rosa. Mesmo com a distância, o apoio e o incentivo de vocês é essencial para eu continuar trilhando os caminhos da vida.

E por fim, aos meus pais, Cleusa e Bira, por estarem sempre ao meu lado, por acreditarem no meu sonho, me apoiando e me incentivando sempre. Eu sou todo o amor que vocês me deram, amor essencial para continuar nessa jornada. Vocês fazem parte disso tudo aqui. Muito Obrigada!

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Caracterização das espécies	11
1.2 A pesca de camarões.....	15
1.3 Análise dos estoques populacionais de camarão-rosa	17
2. OBJETIVOS	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Amostragem.....	22
3.2 Análises moleculares.....	24
3.2.1 Obtenção dos dados	24
3.2.2 Análise dos dados	26
3.3 Análises Morfométricas	28
3.3.1 Morfometria tradicional.....	28
3.3.2 Morfometria Geométrica	30
3.3.3 Morfologia comparativa.....	33
4. RESULTADOS.....	34
4.1 Análises moleculares.....	34
4.1.1 Análise dos indivíduos adultos	35
4.1.2 Análise dos indivíduos adultos + juvenis	41
4.2 Análises morfométricas.....	46
4.2.1 Morfometria tradicional.....	46
4.2.2 Morfometria Geométrica	56
4.2.3 Morfologia Comparativa	60
5. DISCUSSÃO	64
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
APÊNDICE	89

RESUMO

A dificuldade maior na identificação dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* ocorre principalmente na fase juvenil, quando os caracteres sexuais secundários ainda encontram-se em formação e o único modo de discerni-las é por meio da observação do sulco dorsal do sexto somito. Assim, para o presente estudo propôs-se verificar, por meio de técnicas moleculares e morfométricas, a identidade de *F. brasiliensis* e *F. paulensis*. Adicionalmente, foram comparados os estoques populacionais das espécies em questão em três diferentes localidades ao longo da costa da região Sudeste, no estado de São Paulo. Foi realizada a extração do DNA genômico, amplificação do gene COI (usado também para o sistema de DNA Barcoding), purificação e sequenciamento. As análises realizadas (rede de haplótipos, análise de distância genética e pelo dendrograma) não mostraram variabilidade genética entre os estoques populacionais. *F. brasiliensis* e *F. paulensis* são espécies válidas; o gene COI é eficiente para separar tais espécies; não há variação genética entre as localidades amostradas para as duas espécies e os caracteres tradicionais não permitem a correta identificação dos juvenis das duas espécies. Considerando somente a identidade molecular da espécie, todas as variáveis mensuradas para a morfometria tradicional foram significativas na separação dos grupos analisados. A análise de discriminante demonstrou diferenças estatísticas entre as duas espécies estudadas ($p < 0,05$). As análises de morfometria geométrica na forma da carapaça dos indivíduos de *F. brasiliensis* e *F. paulensis* resultaram em 16 *relative warps* e 2 componentes uniformes. Não foram encontradas diferenças visíveis na forma da carapaça entre as duas espécies analisadas, tanto para machos quanto para fêmeas. Ao contrário do esperado, as estruturas apontadas pelas morfometrias (tradicional e geométrica) como significativamente diferentes entre os indivíduos examinados foram de certa forma muito subjetivas e não foram confiáveis para a identificação de *F. brasiliensis* e *F. paulensis*. No entanto, ao analisar a morfologia externa dos juvenis, foi possível encontrar diferenças entre as duas espécies na posição do espinho orbital em relação aos dentes do rosto. Assim, os resultados do presente estudo, além de evidenciarem a dificuldade na identificação dessas duas espécies, ainda fornecem novos caracteres morfológicos que auxiliarão na separação dos juvenis de *F. brasiliensis* e *F. paulensis*.

ABSTRACT

The greatest difficulty in identifying the pink shrimps *Farfantepenaeus brasiliensis* and *F. paulensis* occurs mainly in the juvenile stage, when secondary sexual characters are still in formation and the only way to separate them is by observing the dorsal furrow of the sixth somite. In this way, the present study aimed to verify the identity of *F. brasiliensis* and *F. paulensis*, using molecular and morphometric techniques. Additionally, it was also compared the population stocks of these species at three different regions along the coast of the Southeastern region, at São Paulo State. Extraction of genomic DNA, amplification of the COI gene (also used for DNA Barcoding system), purification and sequencing were performed. The analyzes (haplotype network, analysis of genetic distance and dendrogram) showed no genetic variability among the population stocks. *F. brasiliensis* and *F. paulensis* are valid species, the COI gene is efficient to separate such species, there is no genetic variation among the sampled sites for both species and the traditional characters do not allow the correct identification of both species juveniles. Considering only the molecular identity of the species, all variables measured for the traditional morphometry were significant in separating the groups analyzed. The discriminant analysis showed significant differences between the two species studied ($p < 0.05$). The geometric morphometric analysis of the carapace shape of individuals of *F. brasiliensis* and *F. paulensis* resulted in 16 relative warps and 2 uniform components. There were no differences in the shape of the carapace between the two species analyzed, both for males and females. Contrary to the expected, the structures identified by morphometric (traditional and geometrics) as significantly different among individuals were very subjective and they were not reliable for the identification of *F. brasiliensis* and *F. paulensis*. However, when analyzing the external morphology of juveniles, it was possible to find differences between the two species in the position of the orbital spine in relation to rostrum teeth. In this context, the results of this study, besides demonstrating the difficulty in identifying these two species, they also show new morphological characters that will help on the identification of juveniles of *F. brasiliensis* and *F. paulensis*.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Caracterização das espécies

O subfilo Crustacea Pennant, 1777 é um dos mais populares grupos de invertebrados e inclui alguns artrópodes bem familiares, como caranguejos, camarões, lagostas e tatuzinhos. Dentro deste subfilo, a ordem Decapoda Latreille, 1802 é tema de diversas publicações, não somente pela sua importância econômica, mas também em parte pela sua enorme diversidade (MARTIN & DAVIS, 2001).

Os Decapoda dividem-se em duas subordens, os Pleocyemata Burkenroad, 1963 e os Dendrobranchiata Bate, 1888 (MARTIN & DAVIS, 2001). Os Dendrobranchiata, cujas características principais são as brânquias primárias bisseriais e presença de ovos planctônicos (WILLIAMS, 1984), abrangem duas superfamílias, os Penaeoidea Rafinesque, 1815 e os Sergestoidea Dana, 1852. Os Penaeoidea compreendem cinco famílias: Aristeidae Wood-Mason, 1891, Benthescymidae Wood-Mason, 1891, Penaeidae Rafinesque, 1815, Sicyoniidae Ortmann, 1898 e Solenoceridae Wood-Mason, 1891, enquanto que os Sergestoidea compreendem duas famílias: Luciferidae De Haan, 1849 e Sergestidae Dana, 1852 (PERÉZ-FARFANTE & KENSLEY, 1997).

Para os peneídeos na costa do estado de São Paulo, podemos citar os trabalhos de NAKAGAKI *et al.* (1995), que estudaram a composição dos camarões marinhos peneídeos na região de Ubatuba; COSTA (2002), que analisou a distribuição ecológica dos camarões Dendrobranchiata na mesma região; COSTA & FRANSOZO (2004) estudaram a biologia reprodutiva de *Rimapenaeus constrictus* (Stimpson, 1874); CASTRO *et al.* (2004) investigaram a estrutura populacional do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862); COSTA *et al.* (2005a) estudaram a abundância de *Artemesia longinaris* Bate, 1888; COSTA *et al.* (2005b) analisaram a ecologia de

Sicyonia dorsalis Kingsley, 1878; FREIRE (2005) investigou a biologia populacional de *Xiphopenaeus kroyeri*, cuja abundância e distribuição ecológica também foi estudada por COSTA *et al.*(2007); CASTILHO *et al.* (2007) investigaram a estrutura populacional de *Artemesia longinaris*; SIMÕES *et al.* (2010) e CARVALHO-BAPTISTA *et al.* (2012) estudaram a variação diuturna na captura de *X. kroyeri* e *A. longinaris*, respectivamente.

Dos 48 gêneros reconhecidos pela família Penaeidae – 23 deles sendo apenas registros fósseis (DE GRAVE *et al.*, 2009) – o gênero *Farfantepenaeus* Burukovsky, 1997 apresenta oito espécies, sendo todas elas economicamente importantes (PERÉZ-FARFANTE & KENSLEY, 1997).

O camarão *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) apresenta ampla distribuição geográfica, estendendo-se da Carolina do Norte, EUA, até a costa norte do Rio Grande do Sul, Brasil, sendo mais frequente entre 36 e 55 metros de profundidade (D'INCAO, 1995; COSTA *et al.*, 2003). Já *F. paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) distribui-se de forma mais restrita, desde Cabo Frio, Brasil, até as águas costeiras da província de Buenos Aires, Argentina, sendo mais presente entre os 40 e 80 metros de profundidade (D'INCAO, 1995; COSTA *et al.*, 2003).

No Brasil, apesar das espécies *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* serem conjuntamente conhecidas como camarões-rosa, em avaliações de estoques pesqueiros a partir de desembarques em entrepostos de postos geralmente não ocorre diferenciação entre elas (BRISSON, 1981; CHAGAS-SOARES *et al.*, 1995).

As duas espécies possuem ciclos de vida característicos das espécies do mesmo gênero, que correspondem ao padrão do “tipo 2” proposto por DALL *et al.* (1990). De acordo com esse padrão, o ciclo é completado da região estuarina ao mar aberto, *offshore*. Segundo D'INCAO (1991), os camarões do gênero *Penaeus* (*Farfantepenaeus*) apresentam um ciclo de vida relativamente curto, variando de 16 a 30 meses. A reprodução ocorre em mar aberto, na Plataforma Continental, em

profundidades de 30 a 100 m. Os ovos são bentônicos e, após a eclosão, seguem-se três fases larvais planctônicas, náuplios, protozoa e misis, cada uma com vários sub-estágios, que são desenvolvidos no oceano. Os camarões penetram em áreas estuarinas a partir do 6º sub-estágio de pós-larvas, através de correntes de maré, e passam a ter hábitos bentônicos. Uma vez alcançando o estágio juvenil, que pode ocorrer entre 4 e 6 meses de vida para a maioria dos peneídeos, os indivíduos migram para o mar aberto afim de completar seu desenvolvimento, maturar as gônadas e reproduzirem-se, recrutando-se ao estoque adulto (IWAI, 1978; COSTA & FRANSOZO, 1999; COSTA *et al.*, 2008; LOPES, 2012).

Quanto à morfologia (figura 1), *F. brasiliensis* apresenta como características distintivas o sulco dorso-lateral do sexto somito abdominal sem estreitamento, além de mancha escura na junção do terceiro e quarto somitos abdominais (COSTA *et al.*, 2003). As fêmeas da espécie apresentam o téllico fechado com a porção anterior das placas laterais cobrindo o processo posterior, i.e., apresentam um processo posterior não exposto. Por outro lado, quando analisamos *F. paulensis* (figura 1), a espécie apresenta como característica distintiva o sulco dorso-lateral do sexto somito abdominal estreito, os machos apresentam o petasma com a projeção distomedial curta com a parte dorsal pouco curva, e as fêmeas possuem o téllico fechado com a porção anterior das placas laterais não cobrindo o processo posterior, i.e., apresentam processo posterior exposto (COSTA *et al.*, 2003).

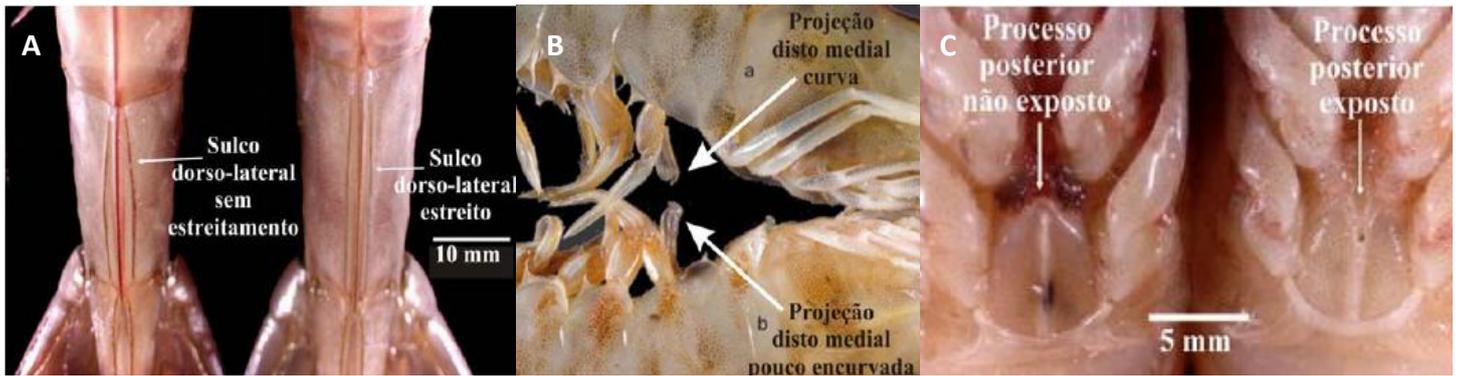


Figura 1. Diferenças morfológicas entre *Farfantepenaeus brasiliensis* (à esquerda na foto) e *F. paulensis* (à direita) quanto ao sulco (A), petasma (B) e télco (C). Retirado de COSTA *et al.* (2003).

A maior dificuldade na identificação de ambas as espécies ocorre principalmente na fase juvenil, quando os caracteres sexuais secundários ainda encontram-se em formação. Assim, o único modo é observar a característica do sulco dorsal do sexto somito, conforme descrito acima. Para machos adultos, muitas vezes tal característica também deve ser utilizada, uma vez que, durante as amostragens por meio de arrastos de barco, o petasma pode romper ou sofrer pequenas modificações em sua parte distal dificultando a diferenciação das duas espécies (COSTA *et al.*, 2003).

DITTY & BREMER (2011), em um trabalho realizado no Golfo do México com outras espécies do gênero *Farfantepenaeus*, mostraram por meio de técnicas moleculares que o uso de caracteres “tradicionais” resultou na identificação errônea de cerca de 30% dos indivíduos de *F. duorarum* (Burkenroad, 1939) e 35% dos *F. aztecus* (Ives, 1891) do total analisado. Os autores afirmaram ainda que nem sempre os caracteres utilizados na identificação dos táxons foram suficientes para a diferenciação correta das espécies, e reforçam a importância da associação

entre a análise molecular e a morfologia comparativa no estudo de padrões de diversidade e princípios ecológicos e evolutivos que rodeiam o gerenciamento pesqueiro.

Especificamente para os camarões-rosa, podemos encontrar estudos na região de Ubatuba também em COSTA & FRANSOZO (1999), que analisaram a estrutura populacional de duas espécies, *F. brasiliensis* e *F. paulensis*, enfatizando o recrutamento juvenil; COSTA *et al.* (2000) que reportaram a ocorrência dessas duas espécies na Baía de Ubatuba, dentre outros Dendrobranchiata; ALVES-COSTA & COSTA (2004), que analisaram os níveis de metais pesados em *F. brasiliensis*, na mesma região; COSTA *et al.* (2008), que investigaram a abundância e distribuição de juvenis de *F. paulensis* e *F. brasiliensis* no estuário e baía adjacente de Ubatuba.

Alguns estudos apontaram características diagnósticas na identificação para algumas espécies de *Farfantepenaeus*, porém os caracteres sugeridos aplicam-se, em sua maioria, para os indivíduos adultos, ou fornecem caracteres que não servem no diagnóstico dessas duas espécies especificamente. Para os adultos de *F. paulensis* e *F. brasiliensis* temos a chave de COSTA *et al.* (2003). Para o Atlântico Ocidental, PÉREZ-FARFANTE (1969; 1970; 1971) descreveu caracteres diagnósticos para *Farfantepenaeus* que permitiram a identificação de indivíduos com comprimento de carapaça entre 8 e 20mm, porém nenhum desses estudos abordou conjuntamente as espécies utilizadas no presente estudo (*F. brasiliensis* e *F. paulensis*). MAY-KÚ *et al.* (2005) analisaram diferenças morfométricas em estágios iniciais de juvenis de *F. brasiliensis* e *F. notialis* (Pérez-Farfante, 1967).

1.2 A pesca de camarões

Os camarões são recursos marinhos extremamente valiosos, representando cerca de 20% de todo o volume de dinheiro negociado no mercado mundial de produtos pesqueiros (DUMONT,

2008). A China atualmente domina a produção global, tendo capturado em 2011 aproximadamente 960 mil toneladas de camarões (VASEP, 2012). No Brasil, aproximadamente 39 mil toneladas de camarões foram pescados em 2011 (IBAMA, 2011).

Nas regiões costeiras em todo o mundo, a pesca é exercida sobre dois extratos populacionais: juvenis e sub-adultos em áreas estuarinas e lagunares (pesca artesanal) e captura de adultos em águas oceânicas (pesca industrial) (LOPES, 2008). A pesca artesanal de camarões na costa brasileira provavelmente iniciou-se na década de 40, após a Segunda Guerra Mundial, com a produção de criadouros principalmente nas regiões sudeste e sul (D'INCAO *et al.*, 2002). Os primeiros dados de captura industrial na região datam de 1965 (VALENTINI *et al.*, 1991), com a mecanização da frota pesqueira de São Paulo e do Rio de Janeiro. A frota atua basicamente sobre o estoque adulto em oceano aberto, estendendo-se desde a região norte do Brasil até o estado da Santa Catarina, na região sul (PAIVA, 1997).

Segundo o IBAMA (2011), o camarão-sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* e os camarões-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis*, *F. paulensis* e *F. subtilis* (Perez-Farfante, 1967)) foram as espécies mais capturadas no país em 2011 entre os crustáceos, com 15.417,8 t e 10.331,2 t, respectivamente. Essas quatro espécies representam juntas aproximadamente 45% do total da produção de crustáceos marinhos no Brasil. Para as regiões sul e sudeste do país, as principais espécies de camarões exploradas são *F. brasiliensis*, *F. paulensis* (camarões-rosa), *X. kroyeri* (camarão-sete-barbas), *Litopenaeus schimitti* (Burkenroad, 1936) (camarão-branco), *Pleoticus muelleri* (Bate, 1888) (camarão-santana) e *Artemesia longinaris* (camarão-barba-ruça) (IBAMA, 2011). Esses camarões possuem considerável valor econômico, representando, em termos de rentabilidade, aproximadamente 24% da produção pesqueira e 6% em peso de captura no sul e sudeste do país (PEREZ *et al.*, 2001).

A pesca dos camarões-rosa nas regiões sul e sudeste foi uma das primeiras a ser regulamentada no país, ainda no final dos anos 60 (LOPES, 2008). A partir daí, várias medidas adicionais foram adotadas a respeito da limitação da frota (através da concessão de licenças especiais para o exercício da pesca): tamanho mínimo de captura para a pesca artesanal, tamanho de malha das redes e tipo de apetrechos de pesca, delimitação de áreas regulamentadas e, a partir de 1983, a introdução do defeso (período pré-estabelecido de fechamento da pesca para uma determinada espécie) para a temporada de pesca do ano seguinte (SUDEPE, 1988). A atual legislação (Instrução Normativa nº 163; BRASIL, 2007) para pesca de camarão fundamenta-se em dois objetivos principais: estabilização da frota pesqueira e manutenção de um período de proibição da pesca para a proteção do recrutamento.

Um melhor entendimento dos processos que afetam esses estoques populacionais, incluindo o papel da pesca dentro do contexto dos impactos humanos, é necessário para o desenvolvimento de políticas de conservação e restauração, tanto dos ambientes estuarinos quanto no mar aberto (BLABER *et al.*, 2000). Nesse cenário, baseando-se na literatura existente sobre o tema e em razão da grande importância econômica da pesca do camarão rosa no Brasil e da visível diminuição do seu estoque, principalmente nas regiões sul e sudeste, é importante que sejam implementados esforços no sentido de aumentar o conhecimento da biologia deste recurso, criando fundamentos para futuras análises das medidas de controle e ordenamento da pesca dessas espécies.

1.3 Análise dos estoques populacionais de camarão-rosa

As variações genéticas entre os estoques podem fornecer, por exemplo, informações diretas sobre a estrutura das populações de uma mesma espécie ao longo de uma área de

distribuição (DUMONT, 2008). BENZIE (2000) ressalta a importância da aplicação de técnicas moleculares para o estudo pesqueiro, tais como a identificação da variabilidade genética, estrutura populacional e isolamento reprodutivo entre grupos. Técnicas moleculares demonstram ser, segundo BEGG *et al.* (1999), ferramentas mais confiáveis para estudos de conservação, auxiliando na identificação do isolamento reprodutivo entre os estoques e permitindo, assim, delinear unidades de gestão pesqueira e avaliar quais são as prioridades de conservação, a partir de uma perspectiva evolutiva.

DITTY & BREMER (2011) relataram dificuldade na identificação de pós-larvas e juvenis de *F. aztecus* e *F. duorarum*, pois os caracteres que discriminam esses estágios são completamente arbitrários, situação similar à que ocorre para a identificação de *F. paulensis* e *F. brasiliensis*. Os autores acima agruparam diversos conjuntos de caracteres utilizados na identificação morfológica e encontraram, por meio de análises moleculares, que até 35% dos juvenis capturados de *F. aztecus* e *F. duorarum* haviam sido identificados incorretamente. Tal fato pode estar ocorrendo com as espécies *F. paulensis* e *F. brasiliensis*, já que o critério mais utilizado na identificação desses dois táxons é o sulco no sexto somito abdominal - e este pode ser, em muitos casos, de difícil visualização, podendo resultar em uma identificação errônea das duas espécies.

Diversos estudos enfocando a temática molecular dos peneídeos têm sido realizados, porém a grande maioria deles identificando as populações do hemisfério norte. BALDWIN *et al.* (1998) estudaram as relações evolutivas entre 13 espécies representantes de 6 subgêneros de *Penaeus*, todas habitantes dos Oceanos Pacífico e noroeste do Atlântico. GUSMÃO *et al.* (2000) questionaram o status taxonômico de *Penaeus* (= *Farfantepenaeus*) *subtilis* e, também por meio de técnicas moleculares, inferiram que o então subgênero *Farfantepenaeus* é polifilético. GARCÍA-MACHADO *et al.* (2001) investigaram a diversidade genética entre populações de *Farfantepenaeus*

notialis na costa de Cuba, e verificaram que o nível de diferenciação das populações foi concordante com a posição geográfica e o regime hidrográfico.

MAGGIONI *et al.* (2001) obtiveram sequências a partir do rRNA mitocondrial 16S de 10 espécies de peneídeos, entre elas *F. brasiliensis* e *F. paulensis*. ROBAINAS *et al.* (2002) caracterizaram microssatélites como marcadores moleculares para o camarão rosa *F. notialis* em Cuba. LAVERY *et al.* (2004) reconstruíram a filogenia do gênero *Penaeus* no oeste do Indo-Pacífico, rejeitando, por meio de técnicas moleculares, a ideia de que os subgêneros *Farfantepenaeus* e *Litopenaeus* são parafiléticos. DÍAZ-JAIMES *et al.* (2006) analisaram a variação genética de populações do camarão marrom *F. californiensis* no leste do Pacífico. BREMER *et al.* (2010) identificaram molecularmente as espécies nativas do Golfo do México *F. aztecus*, *F. duorarum*, *F. brasiliensis* e *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767), além da exótica *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931).

Especificamente para as espécies do presente estudo, abordamos os estudos de PINHEIRO (2008), que por meio de estudos moleculares inferiu existir pelo menos dois estoques de *F. brasiliensis* na costa do Rio Grande do Norte, Brasil. BARRACCO *et al.* (2005), em um estudo de caracterização molecular de *F. paulensis* e *L. schmitti*, definiram uma sequência completa de genes dessas espécies, dados de fundamental importância para o entendimento da imunidade do camarão e controle de doenças na carcinicultura. MAGGIONI & ROGERS (2002) identificaram microssatélites para três espécies próximas de peneídeos, *Farfantepenaeus subtilis*, *F. paulensis* e *Farfantepenaeus sp.*, coletados ao longo da costa brasileira.

Recentemente, avanços nos procedimentos moleculares têm aprimorado as técnicas de identificação e de discriminação morfológica em organismos aquáticos que são muito similares (BALDWIN *et al.*, 1998; MAGGIONI *et al.*, 2001; DITTY & BREMER, 2011), permitindo a verificação

da identidade das espécies independentemente do seu estágio de vida. Abordagens moleculares (PALUMBI & BENZIE, 1991; POWELL *et al.*, 1997; MAGGIONI *et al.*, 2001) e morfométricas (CHUENSRI, 1968; HEALES *et al.*, 1985; MAI-KÚ *et al.*, 2005) tem sido aplicadas, porém de forma idendepente, na solução de problemas na taxonomia de peneídeos. Ou seja, poucos estudos (PENDREY *et al.*, 1999; DITTY & BREMER, 2011) combinaram técnicas moleculares e morfologia comparativa/morfometria para confirmar a identidade e definir características espécies-específicas para diferenciar camarões.

2. OBJETIVOS

O objetivo central do presente estudo foi verificar, por meio de técnicas moleculares e morfométricas, a identidade das espécies de camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Pretendeu-se também comparar os estoques populacionais das espécies em questão em três diferentes localidades ao longo da costa da região Sudeste, no estado de São Paulo. Dessa forma, foram averiguados os seguintes objetivos específicos: 1) Testar por meio de técnicas moleculares se os critérios morfológicos utilizados na identificação das espécies *F. brasiliensis* e *F. paulensis* são efetivos; 2) Investigar a existência ou não de variabilidade genética que permita a separação dos estoques das espécies *F. brasiliensis* e *F. paulensis* nas regiões de estudo; 3) Caso as técnicas moleculares acusem erros na identificação de indivíduos de ambas as espécies, buscar por meio da morfometria caracteres morfológicos para a identificação das fases juvenis e adultas dessas espécies de camarões-rosa. A finalidade deste último objetivo, além de evidenciar se a morfometria pode ser usada também na diferenciação destes importantes estoques pesqueiros, é ainda informar se esta pode ser uma opção nestes tipos de estudos, buscando uma alternativa para a problemática na identificação das duas espécies referidas. Apesar de seu alto valor comercial e da necessidade de entender a estrutura do estoque, ainda há pouca informação disponível sobre a genética populacional das duas espécies estudadas no presente trabalho. De forma o presente estudo, além de fornecer dados moleculares inéditos para as duas espécies, contribuirá para uma identificação mais precisa dos camarões-rosa presentes na costa sul e sudeste do Brasil.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem

As coletas foram realizadas no litoral paulista em locais onde havia registro da ocorrência das duas espécies objeto de estudo, *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Entretanto, sabe-se que em alguns pontos essas espécies são mais abundantes, e por isso foram listadas três localidades principais do litoral paulista, sendo elas: região Norte (Ubatuba), Central (Santos) e Sul (Cananéia) (figura 2). Em todos os pontos de coleta foram obtidos os espécimes utilizados para as análises moleculares e morfométricas. As coordenadas geográficas referentes a tais pontos foram registradas em cada local utilizando um GPS (Global positioning system).

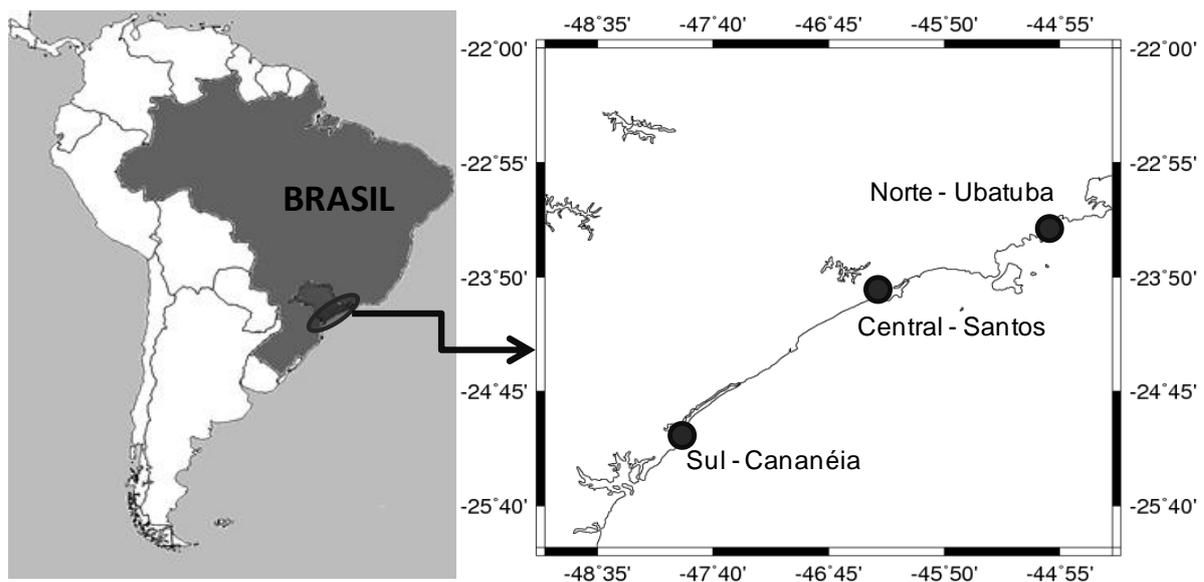


Figura 2. Mapa do litoral do estado de São Paulo mostrando as três localidades amostradas no presente estudo.

A captura dos animais foi efetuada com um barco de pesca camaroneira portando redes de arrasto, as quais tinham distâncias dos entrenós na panagem e no saco de 20 e 18 mm,

respectivamente. Após o término de cada arrasto, as redes foram recolhidas ao convés e o material biológico foi armazenado em gelo picado até seu transporte ao laboratório, onde cada espécime foi identificado morfológicamente seguindo a chave específica (COSTA *et al.*, 2003). Cada exemplar foi armazenado individualmente em álcool etílico 80%. Adicionalmente, foram obtidos espécimes provenientes do Rio Grande do Sul para complementar os resultados do trabalho, catalogados previamente na Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (CCDB/FFCLRP/USP).

Após a identificação segundo os critérios tradicionais (COSTA *et al.*, 2003), técnicas moleculares (ver descrição no item 2.2) foram empregadas nos indivíduos amostrados com intuito da confirmação da identificação morfológica prévia. Para garantir uma avaliação confiável da eficácia dos caracteres tradicionalmente utilizados, as técnicas morfométricas (descritas a seguir, no item 2.3) e de morfologia comparativa foram aplicadas somente naqueles espécimes cujo sequenciamento foi obtido com sucesso, ou seja, naqueles indivíduos com sua identidade molecular atestada. Para evitar o enviesamento dos dados e padronizar os erros, apenas a autora do presente estudo fez a identificação dos espécimes coletados, apoiada na chave de COSTA *et al.* (2003).

Embora as características diagnósticas dos adultos das duas espécies em questão estejam bem estabelecidas e, portanto, sua identificação é relativamente fácil (PÉREZ-FARFANTE, 1970), as características dos indivíduos jovens, especialmente nos menores indivíduos desta categoria demográfica, são mais difíceis de serem observadas. Dessa forma, como o objetivo do presente estudo foi testar a identificação das duas espécies, optou-se por classificar como juvenis aqueles indivíduos cujo comprimento da carapaça (CC) seja de 22 mm ou menos (juvenis menores e cujos

caracteres morfológicos são mais difíceis de serem observados) e como pré-adultos e/ou adultos todos aqueles indivíduos (machos ou fêmeas) com CC maior que 22 mm (caracteres diagnósticos mais fáceis de serem visualizados). Este tamanho foi definido baseando-se no menor adulto capturado em um estudo anterior (LOPES, 2012) realizado com as mesmas espécies e em uma região abrangida pelo presente estudo (costa do estado de São Paulo).

3.2 Análises moleculares

3.2.1 Obtenção dos dados

A obtenção e manipulação do material genético estão em conformidade com a licença do SISBIO para coleta e análise genética de decápodes, Nº 11777-1 Data da Emissão: 16/09/2007 emitida pelo CGEN ao coordenador do Projeto Temático Biota FAPESP (Processo 2010/50188-8), projeto ao qual este presente projeto está associado.

Foi utilizado o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI) para obtenção das sequências de todos os espécimes/espécies/localidade capturados. Primeiramente foi feita uma análise somente com espécimes adultos, com as seguintes finalidades: 1) verificar se o gene COI pode ser utilizado para separar as duas espécies; 2) testar a identificação baseada em caracteres morfológicos; e 3) avaliar a existência de variabilidade entre as localidades analisadas. O número de espécimes foi utilizado com o intuito de minimizar problemas relativos aos limites entre a variabilidade genética intra e interespecíficas, a fim de detectar a existência de haplótipos polimórficos cuja variação precede a divergência das espécies. O gene COI foi escolhido porque apresenta grande variabilidade de taxas de evolução (MORITZ *et al.*, 1987) e foi utilizado para verificar a ocorrência de variações interpopulacionais dentro das espécies, como já realizado em outros estudos com

camarões (GUSMÃO *et al.*, 2000; VERGAMINI *et al.*, 2011; TEROSSI & MANTELATTO, 2012). Outra vantagem do uso do COI é que este é o gene utilizado como “barcode” para a maior parte da vida animal (HEBERT *et al.*, 2003), e assim os resultados do presente estudo também fomentam este banco de dados, auxiliando estudos futuros.

O DNA genômico total foi obtido a partir dos tecidos musculares abdominais dos indivíduos. Este procedimento tem a vantagem de poder ser realizado a partir de pequenas quantidades de tecido biológico, eliminando na maioria dos casos a danificação do exemplar estudado. O protocolo de extração dos espécimes frescos e/ou fixados apenas em etanol 70-80% foi baseado no trabalho de MANTELATTO *et al.* (2007 e 2009). Os tecidos musculares extraídos de cada indivíduo foram colocados em lysis buffer e proteinase K (500 µg/mL) e incubados por 24h a 55°C. Após o banho seco, antes da centrifugação, foi adicionado em cada amostra 200µL de NH₄Oac (7,5M); depois desta, adicionou-se 600µL de isopropanol resfriado, para decantação do DNA. Após 48h de refrigeração das amostras a -20°C, o pellet resultante foi lavado com 15µL de ETOH 70%, centrifugado, liofilizado em um “Concentrator 5301 Eppendorf” e ressuspendido em 20µL de Tampão TE. A concentração do DNA extraído de cada amostra foi mensurada em um espectrofotômetro Nanodrop®2000.

As amostras com as concentrações de DNA foram utilizadas para a amplificação pela reação de PCR (Polymerase Chain Reaction) em um termociclador Veriti Applied Biosystems®. A amplificação foi realizada utilizando-se os primers específicos HCO1-2198 (TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA) e LCO1-1490 (GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG) (FOLMER *et al.*, 1994). A escolha dos primers foi baseada na aplicabilidade dos dados, os quais poderão ser utilizados para futuros estudos filogenéticos e para o sistema de DNA barcoding. Os produtos do PCR foram obtidos em uma reação de volume total de 25µL, contendo H₂O ultrapura, PCR Buffer (10X), MgCl₂

(25mM), betaína (5mM), solução BSA 1%, DNTPs (10 mM), primers (10 μ M), *Thermus aquaticus* polimerase (5 U/ μ L) e 140 ng do DNA previamente extraído. A amplificação do DNA pela técnica do PCR foi realizada com o ciclo termal com desnaturação inicial por 2 min a 94°C, anelamento por 35 ciclos (30s a 94°C; 30s a 46-50°C; 1min a 72°C) e extensão final por 2 min a 72°C. Os resultados de cada PCR foram observados em eletroforese com gel de agarose 1% e fotografados com câmera digital C-7070 da Olympus® em um transiluminador UV Transilluminator M20 da UVP®.

O DNA amplificado foi purificado com o kit de purificação Sureclean®. Após a purificação as amostras com concentração maior que 10ng/ μ l em volume de 20 μ l foram enviadas ao Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, onde foram realizadas as reações de preparação para o sequenciamento e posterior sequenciamento de uma fita por espécime utilizando-se o primer HCO1-2198.

3.2.2 Análise dos dados

A edição das sequências foi realizada no programa BIOEDIT versão 7.0.9 (HALL, 1999). Os fragmentos de DNA obtidos foram submetidos ao alinhamento no sistema BLAST para comparação com a assembleia do banco de dados NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>), visando a confirmação de suas respectivas identidades. Os espécimes testemunho destas sequências foram tombados (CCDB/FFCLRP/USP, Apêndice 1) constituindo assim o voucher genético. Todas as sequências obtidas neste estudo foram depositadas no Genbank (Apêndice 1). Adicionalmente foram obtidas sequências de outras espécies para comparação com as sequências obtidas no presente estudo.

As análises seguiram os métodos utilizados por VERGAMINI *et al.* (2011) para a comparação entre as localidades e entre as espécies analisadas. As sequências foram previamente alinhadas com parâmetros predefinidos no programa Clustal W (THOMPSON *et al.*, 1994), implementado no programa BioEdit 7.0.9.

Foram realizadas as seguintes análises:

- construção de uma matriz de divergência genética baseada no modelo Kimura-2-Parâmetros (KIMURA, 1980) no programa MEGA versão 5 (TAMURA *et al.*, 2011);

- análise de Maximum Likelihood (ML) no software RAxML 7.2.8 (STAMATAKIS, 2006; STAMATAKIS *et al.*, 2008) usando a versão online disponível na plataforma Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research (CIPRES) (MILLER *et al.*, 2010). Tal análise foi conduzida com os parâmetros padrões para RAxML utilizando o modelo de evolução GTR e foi selecionada a opção para determinar automaticamente o número de bootstraps necessários para a análise (STAMATAKIS *et al.*, 2008). Assim, para as análises de adultos e adultos+juvenis foram realizados 650 e 1000 pseudo-réplicas de bootstraps, respectivamente, e foram reportados apenas os valores maiores que 50%.

- o número de haplótipos foi calculado no programa DnaSP 4.10.9 (ROZAS & ROZAS, 1999), e as redes de haplótipos foram construídas pelo método de Median-Joining, no programa Network (BANDELT *et al.*, 1999), com preparação dos dados no programa DnaSP.

- A diferenciação genética das populações foi analisada por meio da Análise de Variância Molecular (AMOVA) (EXCOFFIER *et al.*, 1992), considerando a variação em cada sítio nucleotídico separadamente, no programa Arlequin 3.1 (EXCOFFIER *et al.*, 2005). Esta análise permite estimar o nível de subdivisão genética intra-específica, considerando a variação das frequências gênicas em

dois níveis hierárquicos: variação (1) entre regiões (Ubatuba, Cananéia, Santos e Rio Grande do Sul), e (2) entre indivíduos dentro das regiões.

3.3 Análises Morfométricas

3.3.1 Morfometria tradicional

Para a realização das mensurações referentes às análises morfométricas, foram selecionados todos os indivíduos cujas identidades foram atestadas molecularmente, pertencentes às duas espécies (*F. paulensis* e *F. brasiliensis*), de ambos os sexos e provenientes das quatro localidades amostradas (Ubatuba, Santos, Cananéia e Rio Grande do Sul). Todas as amostras foram mantidas sob refrigeração e/ou em álcool absoluto até o momento das análises. A identificação do sexo foi efetuada por meio da observação do primeiro par de pleópodos (macho: presença de petasma no primeiro par de pleópodos; fêmea: ausência de petasma) (PÉREZ-FARFANTE & KENSLEY, 1997; COSTA *et al.*, 2003). Esta observação foi realizada utilizando um estereomicroscópio com zoom de 0,67x a 4,5x. Para a biometria foi utilizado um paquímetro digital (precisão de 0,01mm). De cada indivíduo foram obtidas 12 medidas morfométricas: Comprimento da carapaça (CC), altura da carapaça (AC), comprimento da escama antenal ou escafocerito (CEA), comprimento do primeiro (CS1), segundo (CS2), terceiro (CS3), quarto (CS4), quinto (CS5) e sexto (CS6) somito abdominal, comprimento do telson (CT), comprimento do endopodito do urópodo (CEN) e exopodito do urópodo (CEX) (figura 3). Essas medidas foram modificadas de TZENG (2004), cujo estudo com o também peneídeo *Parapenaopsis hardwickii* (Miers, 1878) mostrou que os caracteres escolhidos constituem bons indicadores para o estudo da morfometria.

A partir dos indivíduos testados molecularmente, os dados foram tratados de duas maneiras: em uma análise inicial, considerou-se apenas a identidade morfológica dos indivíduos, a

fim de verificar se as estruturas escolhidas para a análise (figura 3) mostravam diferenças morfométricas suficientes para separar os indivíduos (cada grupo referente a uma espécie). Após essa etapa inicial, todas as análises estatísticas foram realizadas novamente, porém dessa vez considerando apenas a identidade molecular dos espécimes utilizados. Decidiu-se analisar os dados dessa forma para que a exibição dos resultados fosse mais didática e assim facilitasse a visualização do problema apontado pelo presente estudo, sobre a dificuldade na identificação dos juvenis de *F. brasiliensis* e *F. paulensis*.

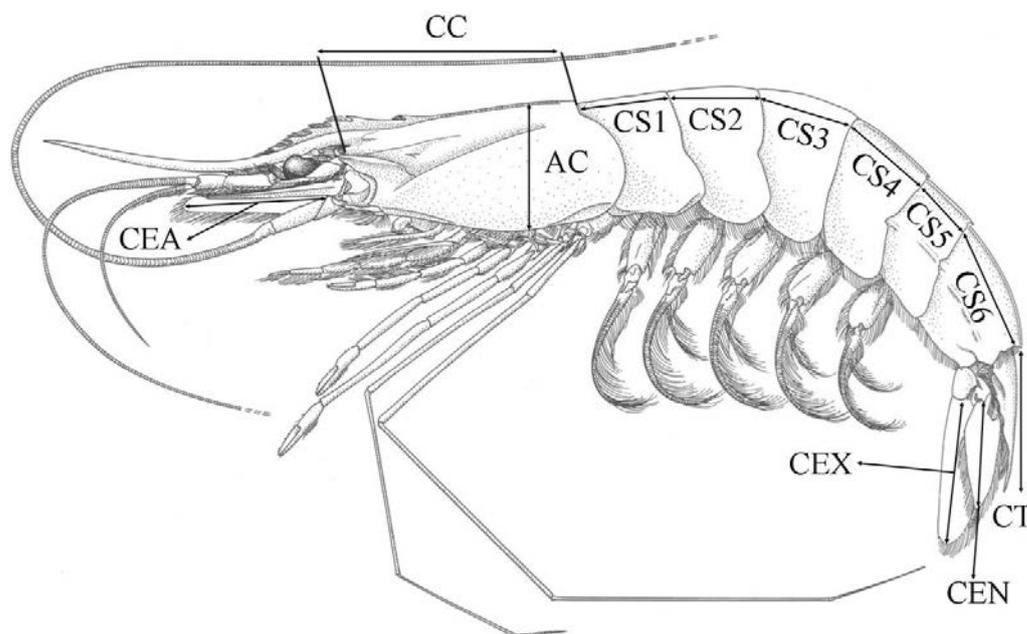


Figura 3. Caracterização das medidas tomadas de cada indivíduo de cada espécie. CC: comprimento da carapaça; AC: altura da carapaça; CEA: comprimento da escama antenal ou escafocerito, CS1: comprimento do primeiro somito abdominal; CS2: comprimento do segundo somito abdominal; CS3: comprimento do terceiro somito abdominal; CS4: comprimento do quarto somito abdominal; CS5: comprimento do quinto somito abdominal; CS6: comprimento do sexto somito abdominal; CT: comprimento do telson; CEN: comprimento do endopodito do urópodo; CEX: comprimento do exopodito do urópodo. Modificado de PÉREZ-FARFANTE & KENSLEY, 1997.

A equação alométrica ($y = ax^b$) foi utilizada para encontrar o valor de b para os cálculos de remoção do efeito da variação do comprimento da carapaça (CC, variável independente), nas estruturas corporais mensuradas (variáveis dependentes), separadamente (TZENG, 2004). Todas as características de tamanho foram padronizadas de acordo com: $Y_i^* = Y_i [X/X_i]^b$, no qual Y_i^* é o tamanho padronizado da característica que se deseja; Y_i é o tamanho da característica que vai ser padronizada; X é a média do comprimento da carapaça da amostra analisada e X_i é o comprimento da carapaça dos indivíduos analisados (TZENG, 2004).

Posteriormente foi realizada uma Análise Discriminante (AD), para buscar evidências da existência de diferenças morfométricas entre os indivíduos e determinar quais variáveis (estruturas corporais) foram mais relevantes na divisão das espécies em estudo. O poder de discriminação de cada variável foi observado pelo Wilks'lambda associados aos valores estatísticos de F e P (valores de $F < 1$, foram considerados na AD) (ANASTASIADOU & LEONARDOS, 2008). Valores de Wilks'lambda podem variar de 0 a 1, sendo, 0 = total discriminação e 1 ausência de discriminação. Adicionalmente, foi realizada uma análise de discriminantes canônicos para evidenciar graficamente a separação dos grupos (espécies). As variáveis canônicas ("Roots") foram testadas quanto à sua significância pelo teste do Chi-quadrado.

Em seguida, uma análise de covariância (ANCOVA $\alpha = 0,05$) foi realizada para comparar os coeficientes angulares (b) e lineares (a) de cada relação morfométrica entre as populações estudadas.

3.3.2 Morfometria Geométrica

Para verificar variações morfológicas e buscar estruturas que possam auxiliar na identificação dos indivíduos de *F. paulensis* e *F. brasiliensis*, foram realizadas também análises de morfometria geométrica sobre a carapaça dos indivíduos que tiveram sua identidade molecular

atestada. Imagens digitais da vista lateral da carapaça foram obtidas utilizando uma câmera Canon 60D acoplada com uma lente Sigma 17-50mm f/2.8. As imagens foram obtidas em vista desarmada. Dez *landmarks* (marcos anatômicos) foram definidos ao longo da margem da carapaça (figura 4).

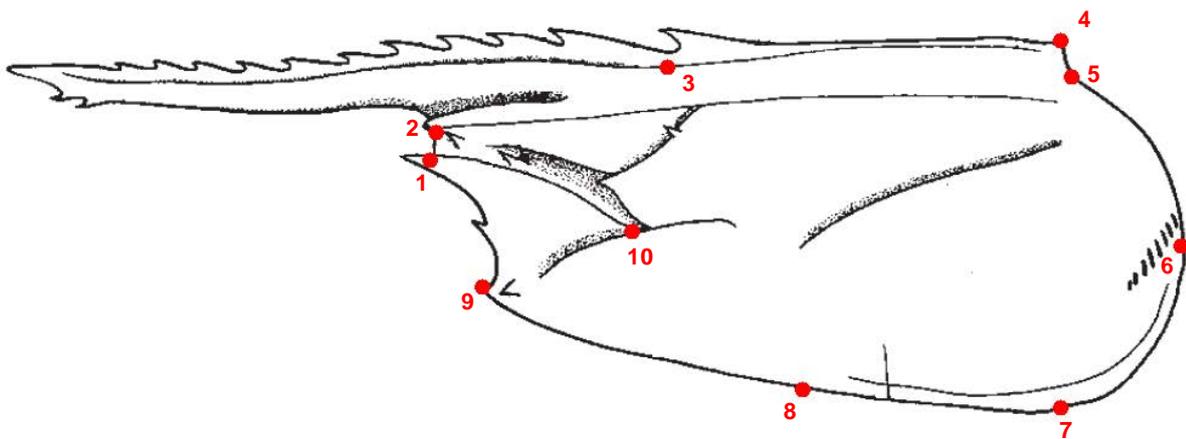


Figura 4. *Landmarks* utilizados para as análises de morfometria geométrica da carapaça dos indivíduos de *F. paulensis* e *F. brasiliensis*, vista lateral. 1: Base do espinho antenal; 2: Base do espinho orbital; 3: base do primeiro dente rostral; 4: ponto mais alto da margem posterior da carapaça; 5: início da curva da margem posterior da carapaça; 6: ponto mais alto da curva da margem posterior da carapaça; 7: primeiro ponto da reta da base da carapaça; 8: metade da distância entre a margem posterior e a margem anterior da base da carapaça; 9: base do espinho pterigostomal; 10: margem posterior da base do espinho antenal. Adaptado de CHAN (1998).

Todos os *landmarks* foram definidos utilizando o software tpsDig 2.14 (ROHLF, 2009), seguindo os critérios de padronização (ADAMS *et al.*, 2004; ZELDITCH *et al.*, 2004). A maior parte dos *landmarks* foi do tipo I (atendem aos princípios de homologia, pois não necessitam de nenhuma estrutura adicional para serem localizados), mas para que pudesse ser obtida uma

cobertura adequada da estrutura corporal utilizada, também foram utilizados *landmarks* do tipo II (atendem aos princípios de homologia, mas são suportados por características geométricas) e do tipo III (não atendem aos princípios da homologia e são pontos relativos a um referencial conhecido) (BOOKSTEIN, 1997).

Após a digitalização, os *landmarks* homólogos foram alinhados através de um procedimento de superimposição por mínimos quadrados (Análise de Procrustes Generalizada), removendo qualquer informação não relacionada à forma, tais como posição, orientação e tamanho (ROHLF & SLICE, 1990). A variação morfológica foi estimada utilizando o procedimento de deformação *thin plate spline* (TPS), que adapta uma função de interpolação a uma configuração consenso (BOOKSTEIN, 1991) derivando a variação da forma em dois componentes principais: um componente uniforme (UC), descrevendo a variação global, e um componente não uniforme, que descreve a variação local em regiões específicas (ZELDITCH *et al.*, 2004). Finalmente, uma análise de *relative warps* (RW), análoga à análise de componentes principais, foi empregada nos componentes não uniformes, gerando novas variáveis de forma (RWs) (ROHLF, 1993). Todas essas rotinas numéricas foram realizadas utilizando o software tpsRelw 1.46 (ROHLF, 2008). Explicações mais detalhadas acerca dos métodos morfométricos aqui empregados podem ser encontradas em ROHLF (1990), ADAMS *et al.* (2004) e ZELDITCH *et al.* (2004).

Os valores dos componentes uniformes e dos *relative warps* foram comparados entre as espécies, separadamente para cada um dos sexos, utilizando uma análise de variância multivariada (MANOVA – Wilks test, n=98) no Statistica 11. O tamanho do centroide (TC), definido como a raiz quadrada da somatória do quadrado das distâncias entre todos os landmarks e o centro de gravidade (centroide) da respectiva configuração, foi comparado entre as espécies

através de um teste t de Student. A variação da forma da carapaça através dos *relative warps* ou dos eixos uniformes foi descrita pelas grades de deformação obtidas nas análises TPS.

3.3.3 Morfologia comparativa

Além das análises moleculares e morfométricas, também foram realizadas análises comparativas da morfologia externa das duas espécies utilizadas no presente estudo. Essa análise morfológica teve o intuito de buscar novos caracteres não apontados pelas técnicas empregadas e/ou pelas chaves de identificação existentes.

Dessa forma, todos os indivíduos cuja identidade molecular pôde ser atestada foram minuciosamente analisados quanto à sua morfologia, utilizando uma Estereomicroscópio Olympus SZX7 acoplada de câmara clara. A busca de novos caracteres foi direcionada através de trabalhos realizados com outras espécies do mesmo gênero (PÉREZ-FARFANTE, 1967; COSTA *et al.*, 2003; DITTY & BREMER, 2011).

4. RESULTADOS

4.1 Análises moleculares

Para as análises do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I foram utilizados 103 camarões (tabela 1), tanto exemplares juvenis (carapaça menor ou igual a 22 mm) quanto pré-adultos e/ou adultos (carapaça maior que 22 mm) das duas espécies de cada uma das regiões amostradas. Desses, 39 foram identificados morfologicamente como *Farfantepenaeus brasiliensis* e 64 como *F. paulensis*. Todos os exemplares de *F. brasiliensis* capturados na região de Santos apresentaram CC inferior a 22 mm, portanto, todos juvenis.

Tabela 1. Quantidade de indivíduos analisados, por espécie e por localidade amostrada; CCDB: Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia, FFCLRP/USP;

		Localidade	Sequenciados	
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Juvenis (CC<22mm)	Ubatuba	8	
		Santos	6	33
		Cananéia	19	
	Pré-adultos e/ou adultos (CC>22mm)	Ubatuba	3	
		Santos	0	6
		Cananéia	3	
TOTAL				39
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Juvenis (CC<22mm)	Ubatuba	9	
		Santos	10	45
		Cananéia	26	
	Pré-adultos e/ou adultos (CC>22mm)	Ubatuba	7	
		Santos	2	19
		Cananéia	6	
		Rio Grande do Sul	4	
TOTAL				64

4.1.1 Análise dos indivíduos adultos

Verificou-se que ocorre separação das duas espécies, na qual os indivíduos adultos de *F. brasiliensis* formaram um clado separado de *F. paulensis* (figura 5) e, também foi possível observar que não houve estruturação por localidades amostradas. Tais resultados também foram constatados pela análise de distância genética (tabela 2). A distância genética intra-específica (0 a 0,6%) foi menor que a distância inter-específica (4,3 a 18,1%) e entre *F. brasiliensis* e *F. paulensis* a divergência genética inseriu-se na faixa na divergência inter-específica (10,1 a 10,9%) (tabela 2), comprovando a validade taxonômica das duas espécies. Já as variações genéticas entre localidades de uma mesma espécie se sobrepõem, não permitindo a separação por localidade.

Tabela 2. Matriz de distância genética do gene Citocromo Oxidase I construída para os adultos das espécies analisadas. Foram agrupados e apresentados os valores mínimos e máximos de distância genética (Kimura-2-Parâmetros).

	<i>F. brasiliensis</i> - Ubatuba	<i>F. brasiliensis</i> - Cananéia	<i>F. paulensis</i> - SANTOS	<i>F. paulensis</i> - UBATUBA	<i>F. paulensis</i> - RIO GRANDE DO SUL	<i>F. paulensis</i> - CANANÉIA	<i>F. californiensis</i>	<i>F. notialis</i>	<i>F. subtilis</i>	<i>L. vannamei</i>	<i>L. stylirostrus</i>
<i>F. brasiliensis</i> - UBATUBA (N=3)	0,000 - 0,004										
<i>F. brasiliensis</i> - CANANÉIA (N=3)	0,000 - 0,006	0,002 - 0,006									
<i>F. paulensis</i> - SANTOS (N=2)	0,101 - 0,105	0,101 - 0,105	0,000								
<i>F. paulensis</i> - UBATUBA (N=7)	0,101 - 0,105	0,101 - 0,105	0,000	0,000							
<i>F. paulensis</i> - RIO GRANDE DO SUL (N=4)	0,101 - 0,109	0,101 - 0,109	0,000 - 0,004	0,000 - 0,004	0,000 - 0,004						
<i>F. paulensis</i> - CANANÉIA (N=5)	0,101 - 0,109	0,101 - 0,109	0,000 - 0,004	0,000 - 0,004	0,000 - 0,004	0,000 - 0,004					
<i>F. californiensis</i>	0,043	0,041 - 0,043	0,121	0,121	0,121 - 0,125	0,121 - 0,125	-				
<i>F. notialis</i>	0,118 - 0,120	0,118 - 0,120	0,137	0,137	0,137 - 0,142	0,137 - 0,142	0,125	-			
<i>F. subtilis</i>	0,101 - 0,106	0,101 - 0,106	0,092	0,092	0,092 - 0,096	0,092 - 0,096	0,115	0,111	-		
<i>L. vannamei</i>	0,172	0,172 - 0,105	0,176	0,176	0,176 - 0,181	0,176 - 0,181	0,177	0,152	0,148	-	
<i>L. stylirostrus</i>	0,139 - 0,141	0,139 - 0,141	0,150	0,150	0,150 - 0,155	0,150 - 0,155	0,155	0,136	0,127	0,117	-

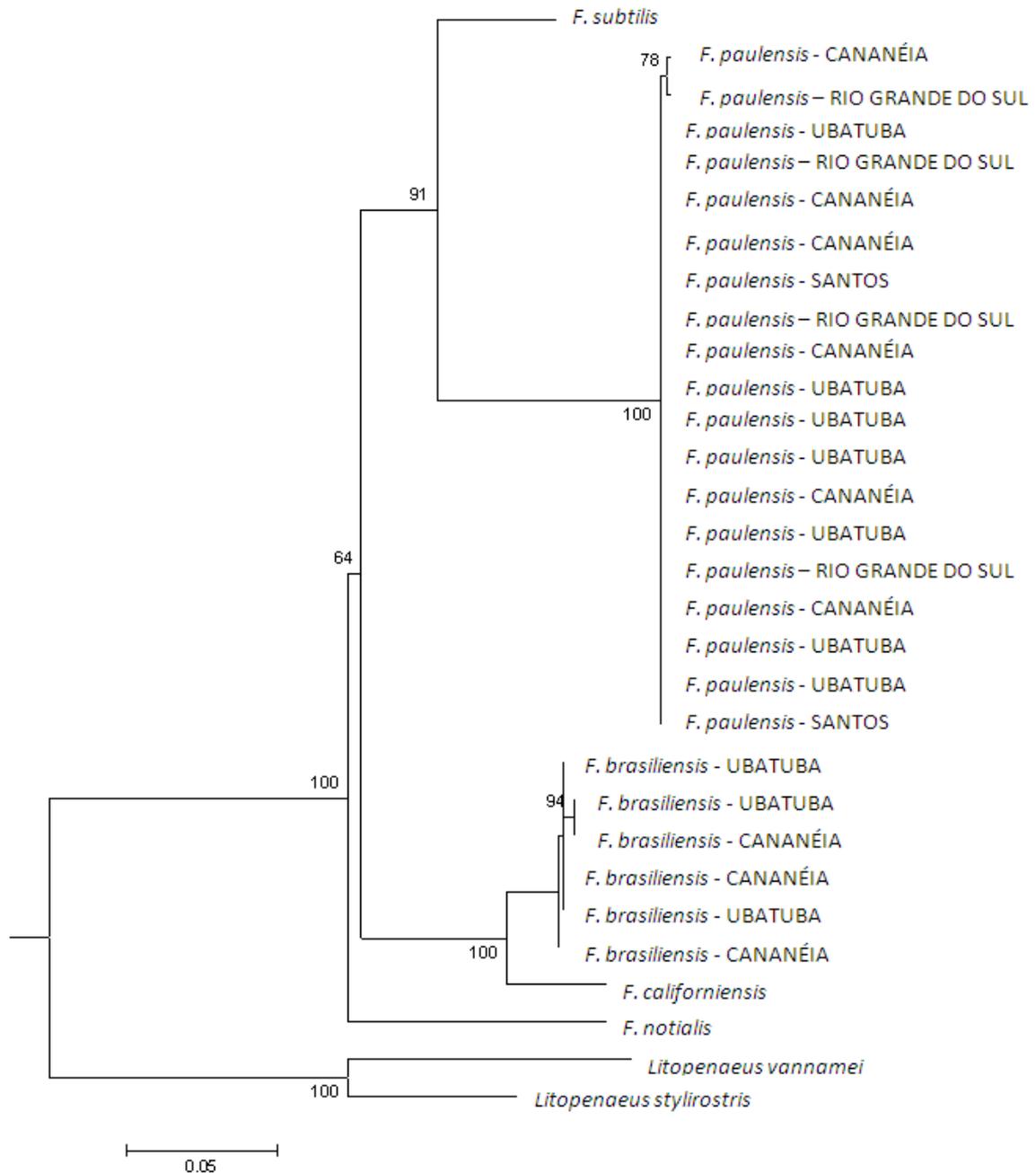


Figura 5. Dendrograma do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I para os espécimes adultos de *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* para as três localidades amostradas e grupo externo construída por meio de Maximum-Likelihood. Os números apresentados correspondem aos valores de significância para 650 pseudo-réplicas de bootstrap, apenas são mostrados valores de bootstrap > 50%.

Baseando-se nos fragmentos parciais do gene COI dos 25 adultos das espécies alvo sequenciados das quatro localidades amostradas (Ubatuba, Santos, Cananéia e Rio Grande do Sul) e das espécies do mesmo gênero utilizadas como grupo externo (*F. californiensis*, *F. notialis* e *F. subtilis*), foram definidos 9 haplótipos (H), dos quais 4 (cerca de 57%) representaram haplótipos individuais, ou seja, encontrados em apenas um indivíduo (tabela 3). A rede de haplótipos construída mostrou que, dentro de cada espécie, há compartilhamento de haplótipos entre as localidades (figura 6; tabela 3).

Dentre os haplótipos compartilhados por mais de um indivíduo, o H4 foi o mais frequente entre os adultos de *F. paulensis* analisados, tendo sido compartilhado por 17 indivíduos provenientes das quatro localidades amostradas. Para os adultos de *F. brasiliensis*, o H1 foi o mais frequente, tendo sido compartilhado por 3 indivíduos (tabela 3). Observa-se também que o número de mutações entre as espécies é muito maior que o número de mutações entre espécimes da mesma espécie.

A análise de variância molecular (AMOVA) com estrutura hierárquica simples (ausência de estrutura) detectou que não há diferença significativa entre as localidades amostradas, tanto para *F. paulensis* (tabela 4) quanto para *F. brasiliensis* (tabela 5).

Tabela 3. Distribuição dos haplótipos identificados (H) nos adultos sequenciados pertencentes às quatro localidades amostradas. N: número de indivíduos amostrados em cada localidade. FB: *Farfantepenaeus brasiliensis*; FP: *F. paulensis*; FN: *F. notialis*; FS: *F. subtilis*; FC: *F. californiensis*.

Localidades	Haplótipos								
	FB			FP			FC	FS	FN
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ubatuba	2	1		7					
Santos				2					
Cananéia	1	1	1	5		1			
Rio Grande do Sul				3	1				
Total	3	2	1	17	1	1	1	1	1

Tabela 4. *Farfantepenaeus paulensis*. Resultados da análise de variância molecular (AMOVA) considerando as 4 regiões amostradas.

Estruturação	Fonte de variação	Componentes de Variância		%
ausente	Entre regiões	-0,00298	Va	-1,94
	Dentro das regiões	0,15684	Vb	101,94
Índice de Fixação	FST:	-0,01939		

Tabela 5. *Farfantepenaeus brasiliensis*. Resultados da análise de variância molecular (AMOVA) considerando as 3 regiões amostradas.

Estruturação	Fonte de variação	Componentes de Variância		%
ausente	Entre regiões	0,00199	Va	0,55
	Dentro das regiões	0,36021	Vb	99,45
Índice de Fixação	FST:	0,0055		

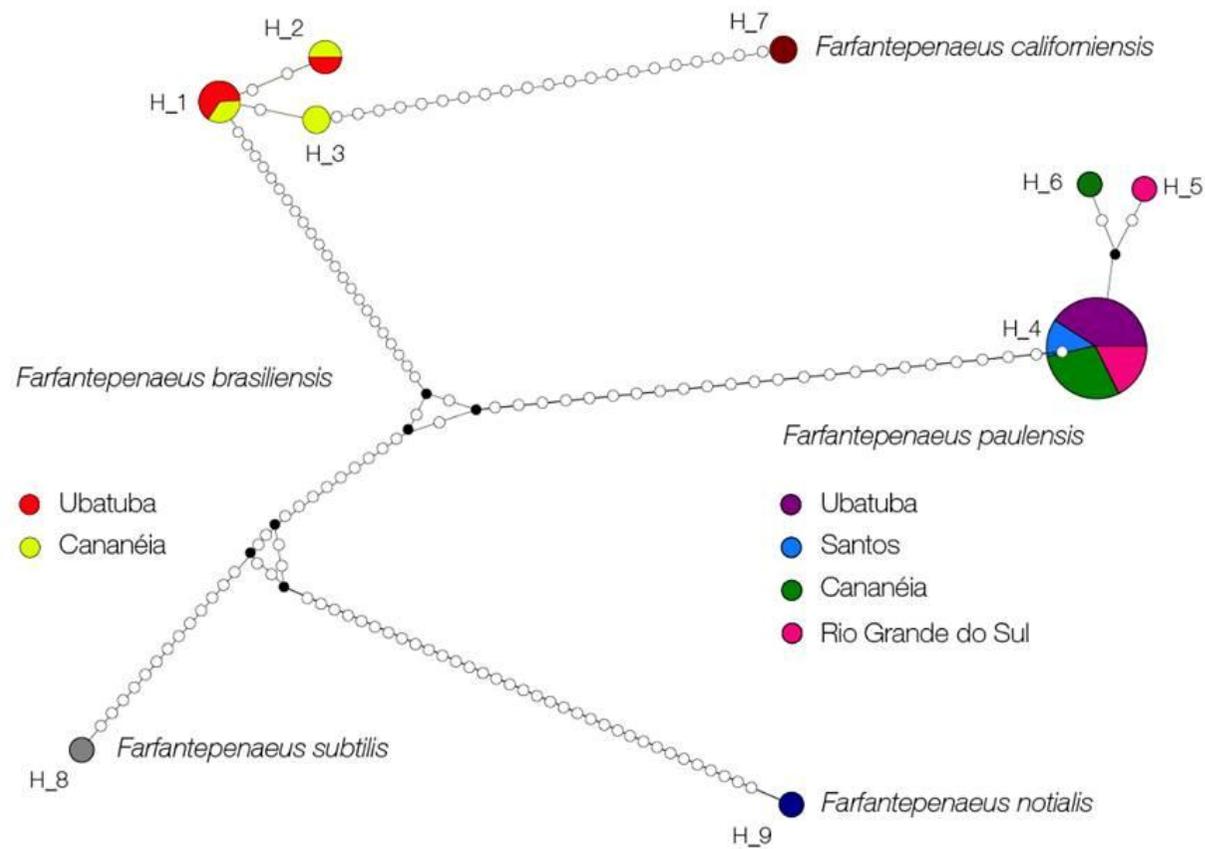


Figura 6. Rede de haplótipos construída pelo método Median-Joining, indicando a distribuição dos 9 haplótipos referentes aos espécimes adultos coletados das espécies *Farfantepenaeus* analisadas. O número ao lado do círculo corresponde ao número do haplótipo (H). O tamanho do círculo é proporcional à frequência do haplótipo. Os pequenos círculos pretos representam os vetores médios. Os círculos brancos representam passos mutacionais.

Mesmo com o relativamente baixo número de sequências utilizadas, essa análise inicial foi suficiente para demonstrar que: 1) o gene COI foi eficaz para separar as duas espécies; 2) os caracteres morfológicos utilizados para a identificação dos adultos são eficientes; e 3) não há estruturação genética entre as localidades dentro de cada espécie (figuras 5 e 6). Dessa forma, a partir da confirmação de tais aspectos, como o foco do presente estudo foi verificar a identidade dos juvenis, os esforços foram direcionados para obtenção de sequências dos indivíduos com CC menor que 22 mm, não importando as localidades nas análises seguintes.

4.1.2 Análise dos indivíduos adultos + juvenis

Para o presente estudo foram sequenciados então 45 juvenis morfológicamente identificados como *F. paulensis* e 33 juvenis morfológicamente identificados como *F. brasiliensis* (tabela 6). Vale ressaltar que mais esforços foram direcionados para obter sequências de juvenis identificados morfológicamente como *F. paulensis*, pois esta é a espécie que apresenta maior dificuldade quanto à identificação morfológica. A quantidade de indivíduos juvenis com sua identificação morfológica testada por meios moleculares encontra-se na tabela 6, onde se constata que a identificação molecular mostrou que 60% dos juvenis morfológicamente identificados como *F. paulensis* sequenciados eram na realidade *F. brasiliensis*, fato evidenciado na rede de haplótipos (figura 7) e no dendrograma (figura 8); com exceção de um indivíduo (cerca de 3%), todos os juvenis identificados como *F. brasiliensis* tiveram sua identidade confirmada pela análise molecular (tabela 6, figuras 7 e 8).

Tabela 6. Relação dos espécimes juvenis morfologicamente identificados como *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* sequenciados e cuja identidade foi atestada molecularmente.

	Juvenis sequenciados	Status Identificação	Indivíduos identificados erroneamente
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	33	32 <i>F. brasiliensis</i> 1 <i>F. paulensis</i>	3%
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	45	19 <i>F. paulensis</i> 27 <i>F. brasiliensis</i>	60%

Como houve uma nítida separação das outras espécies de *Farfantepenaeus* demonstrada na análise com adultos, foram utilizados apenas adultos das espécies de interesse (*F. brasiliensis* e *F. paulensis*) para a rede de haplótipos que inclui os juvenis. Essa rede de haplótipos construída mostrou que há compartilhamento de haplótipos entre indivíduos morfologicamente separados em duas espécies diferentes (figura 7; tabela 6). Baseado nos fragmentos parciais do gene COI dos 103 espécimes sequenciados das quatro localidades amostradas (Ubatuba, Santos, Cananéia e Rio Grande do Sul), foram definidos 31 haplótipos (H), dos quais 26 (aproximadamente 84%) representaram haplótipos individuais, ou seja, encontrados em apenas um indivíduo (tabela 7).

Dentre os haplótipos compartilhados por mais de um indivíduo, o H15 foi o mais frequente entre os *F. paulensis* analisados, tendo sido compartilhado por 30 indivíduos. Entre os *F. brasiliensis*, o H1 foi o mais frequente, tendo sido compartilhado por 27 indivíduos (tabela 7). Observa-se também que o número de mutações entre as espécies é muito maior que o número de mutações entre espécimes da mesma espécie.

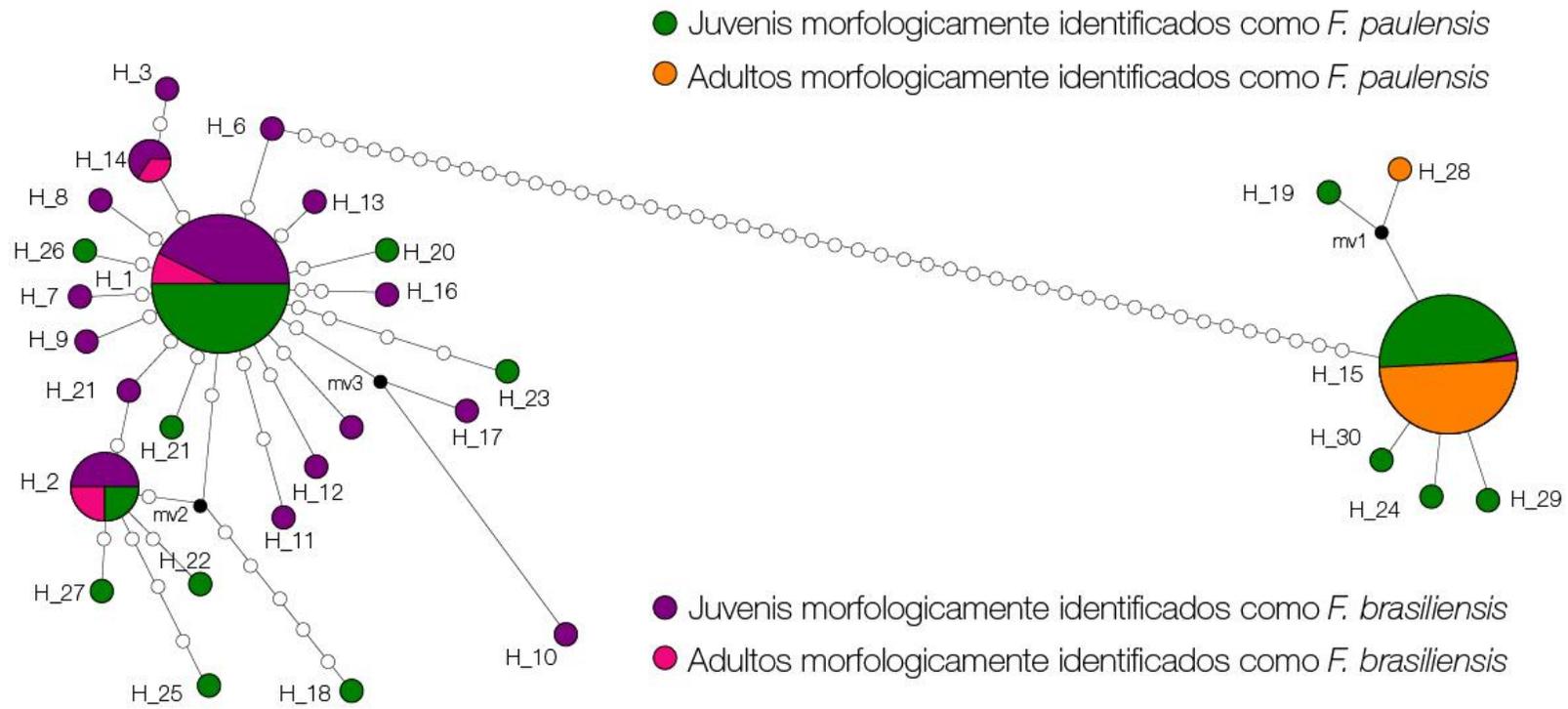


Figura 7. Rede de haplótipos construída pelo método Median-Joining, indicando a distribuição dos 30 haplótipos referentes aos espécimes adultos e juvenis coletados das espécies de *Farfantepenaeus* analisadas. O número ao lado do círculo corresponde ao número do haplótipo (H). O tamanho do círculo é proporcional à frequência do haplótipo. Os pequenos círculos pretos representam os vetores médios. Os círculos brancos representam passos mutacionais.

Tabela 7. Distribuição dos haplótipos identificados (H) nos indivíduos sequenciados pertencentes às duas espécies amostradas. N: número de indivíduos amostrados em cada região. FB: molecularmente identificado como *Farfantepenaeus brasiliensis*. FP: molecularmente identificado como *Farfantepenaeus paulensis*.

	Haplótipos																													
	FB															FP		FB		FP		FB		FP						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Morfologia: <i>F. paulensis</i>	16	6												32			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Morfologia: <i>F. brasiliensis</i>	17	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1														
Total	33	8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	33	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

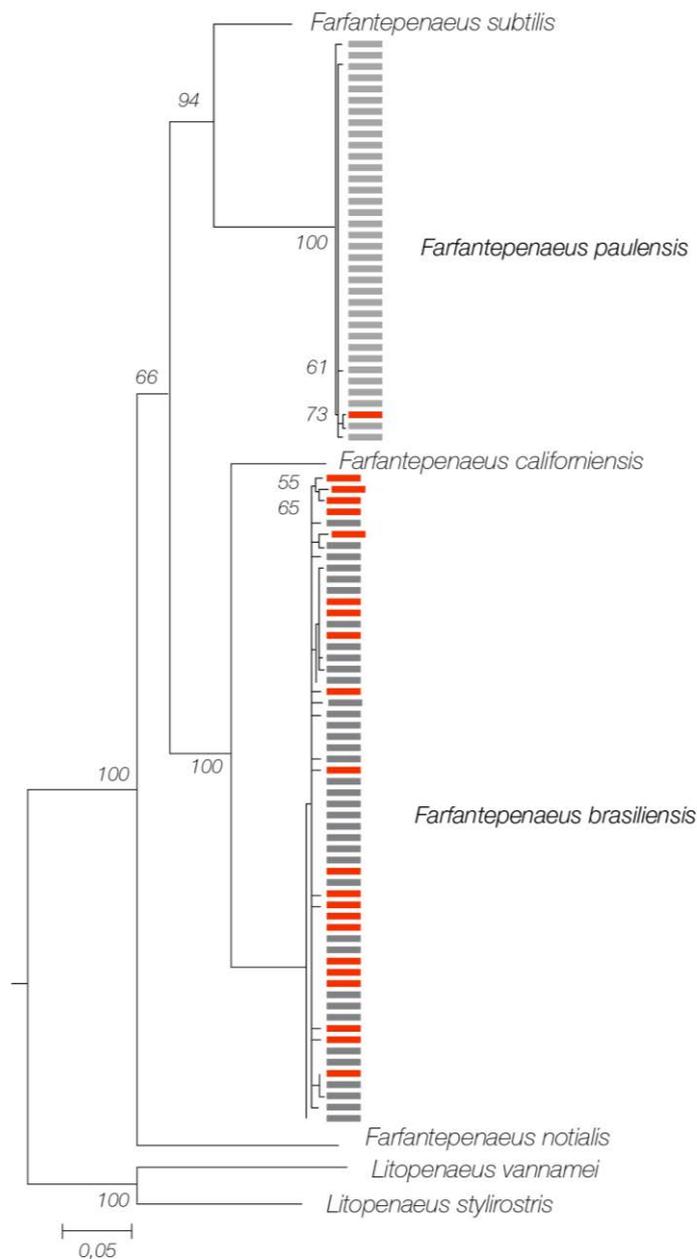


Figura 8. Dendrograma do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I para os espécimes adultos e juvenis de *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* para as três localidades amostradas mais o grupo externo. Construído por meio de Maximum-Likelihood. Os números apresentados correspondem aos valores de significância para 1000 réplicas de bootstrap; apenas são mostrados valores de bootstrap > 50%. As anotações em cores indicam os indivíduos analisados, onde os traços cinzas são aqueles cuja identificação molecular mostrou que a identificação morfológica foi correta e os vermelhos indicam os espécimes cuja identificação molecular acusou uma identificação morfológica errônea.

4.2 Análises morfométricas

4.2.1 Morfometria tradicional

Para a realização das análises morfométricas foram utilizados todos os indivíduos coletados cuja identidade foi atestada molecularmente. Assim, foram mensurados no total 65 indivíduos morfológicamente identificados como *F. paulensis* (32 fêmeas e 33 machos) e 38 indivíduos morfológicamente identificados como *F. brasiliensis* (19 fêmeas e 19 machos). O tamanho (CC) variou de 9,36 a 49,51 CC mm para *F. paulensis* e de 12,55 a 26,88 CC mm para *F. brasiliensis*.

Primeiramente foi realizada uma análise morfométrica considerando apenas a identidade morfológica dos indivíduos. Nessa primeira análise, as relações morfométricas das duas espécies analisadas apresentaram diferenças estatísticas significativas nas variáveis de altura da carapaça (AC), comprimento do terceiro somito abdominal (CS3) e comprimento do exopodito do urópodo (CEX) (tabela 8). A análise de discriminante demonstrou diferenças estatísticas significativas entre as duas espécies estudadas ($p < 0,05$) (tabela 9). A análise de discriminantes canônicas apresentou duas variáveis (Roots) como significativas ($p < 0,05$) (tabela 10). Os escores das variáveis canônicas (Roots 1 e 2) para machos e fêmeas das duas espécies analisadas estão ilustradas na figura 9.

Tabela 8. *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*, considerando apenas a identificação morfológica. Poder de discriminação de cada variável morfométrica e seu respectivo valor de significância.

Variáveis	Wilks' Lambda	F	Valor de p
AC	0,198927	7,819394	0,0001061448*
CEA	0,158587	0,082442	0,969432
CS1	0,160851	0,516779	0,671769
CS2	0,166365	1,574362	0,201011
CS3	0,183620	4,883710	0,003409449*
CS4	0,161679	0,675580	0,569208
CS5	0,160431	0,436204	0,727617
CS6	0,164488	1,214294	0,309109
CT	0,170367	2,341847	0,078403
CEN	0,166370	1,575245	0,200796
CEX	0,175443	3,315343	0,02343487*

*diferenças estatísticas significativas

CC: comprimento da carapaça; AC: altura da carapaça; CEA: comprimento da escama antenal ou escafocerito, CS1: comprimento do primeiro somito abdominal; CS2: comprimento do segundo somito abdominal; CS3: comprimento do terceiro somito abdominal; CS4: comprimento do quarto somito abdominal; CS5: comprimento do quinto somito abdominal; CS6: comprimento do sexto somito abdominal; CT: comprimento do telson; CEN: comprimento do endopodito do urópodo; CEX: comprimento do exopodito do urópodo.

Tabela 9. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação morfológica. Valores de significância da análise discriminante entre as duas espécies estudadas.

	Machos <i>F. paulensis</i>	Machos <i>F.</i> <i>brasiliensis</i>	Fêmeas <i>F. paulensis</i>	Fêmeas <i>F.</i> <i>brasiliensis</i>
Machos <i>F. paulensis</i>	—	0,000000	0,031990	0,000001
Machos <i>F.</i> <i>brasiliensis</i>	0,000000	—	0,000000	0,000000
Fêmeas <i>F. paulensis</i>	0,031990	0,000000	—	0,000000
Fêmeas <i>F.</i> <i>brasiliensis</i>	0,000001	0,000000	0,000000	—

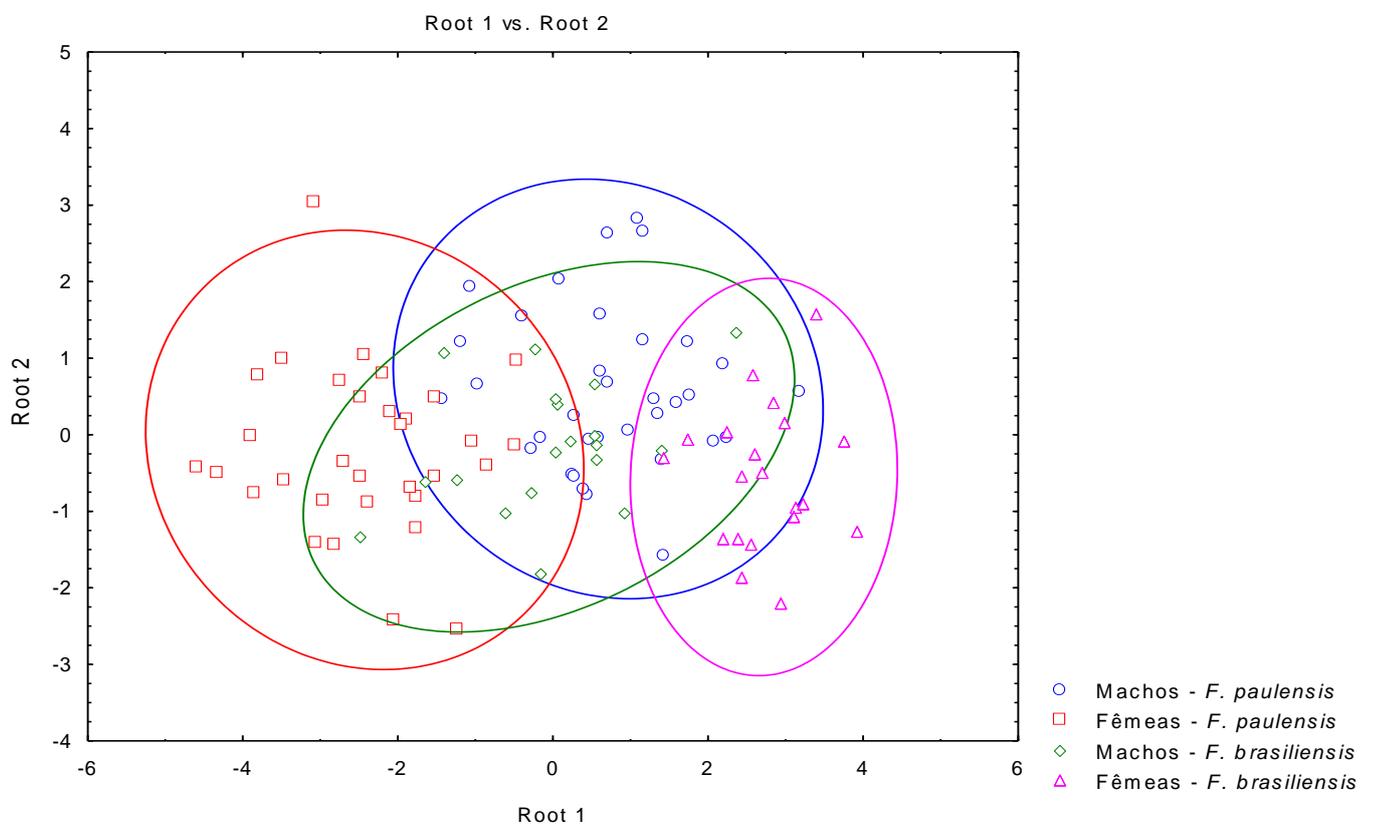
*diferenças estatísticas significativas

Tabela 10. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação morfológica. Análise de significância das variáveis canônicas (Roots) pelo teste do χ^2 .

"Roots" removidos	Autovalores	R Canônico	Wilks' Lambda	χ^2	GL	Valor de p
0	3,503689	0,882020	0,158157	177,9623	33	0,000000
1	0,197908	0,406462	0,712289	32,7398	20	0,036026
2	0,171980	0,383071	0,853257	15,3141	9	0,082662

*diferenças estatísticas significativas

Figura 9. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação morfológica. Visualização gráfica gerada a partir da relação entre duas variáveis (discriminantes canônicas) para as espécies estudadas.



Complementando as análises morfométricas, as relações entre os machos das duas espécies analisadas apresentaram diferenças estatísticas (ANCOVA, $\alpha=0,05$) nas variáveis de AC, CS2, CS3 e CS4 (tabela 11). Já para as fêmeas de *F. brasiliensis* e *F. paulensis*, houve diferença significativa apenas na variável CEN (tabela 12).

Tabela 11. Machos de *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação morfológica. Resultado da análise de covariância (ANCOVA, $\alpha=0,05$) para cada relação morfométrica (CC como variável independente) entre as duas espécies estudadas.

Relação	Variável	Intercepto (a) (valor de p)	Inclinação (b) (valor de p)
Machos <i>F. brasiliensis</i> X <i>F. paulensis</i>	AC	—	0,020071*
	CEA	0,164106	0,580405
	CS1	0,566797	0,437291
	CS2	—	0,02260*
	CS3	0,0027984*	0,261885
	CS4	—	0,01541*
	CS5	0,67373	0,328996
	CS6	0,3455	0,169662
	CT	0,466225	0,189488
	CEN	0,085417	0,109649
	CEX	0,073212	0,344242

*diferenças estatísticas significativas

CC: comprimento da carapaça; AC: altura da carapaça; CEA: comprimento da escama antenal ou escafoerito, CS1: comprimento do primeiro somito abdominal; CS2: comprimento do segundo somito abdominal; CS3: comprimento do terceiro somito abdominal; CS4: comprimento do quarto somito abdominal; CS5: comprimento do quinto somito abdominal; CS6: comprimento do sexto somito abdominal; CT: comprimento do telson; CEN: comprimento do endopodito do urópodo; CEX: comprimento do exopodito do urópodo.

Tabela 12. Fêmeas de *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação morfológica. Resultado da análise de covariância (ANCOVA $\alpha= 0,05$) para cada relação morfométrica (CC como variável independente) entre as duas espécies estudadas.

Relação	Variável	Intercepto (a) (valor de p)	Inclinação (b) (valor de p)
Fêmeas <i>F. brasiliensis</i> X <i>F. paulensis</i>	AC	0,179356	0,438934
	CEA	0,241314	0,51611
	CS1	0,128335	0,883104
	CS2	0,52512	0,180088
	CS3	0,060879	0,371505
	CS4	0,060879	0,960788
	CS5	0,558607	0,328021
	CS6	0,557366	0,922047
	CT	0,250624	0,423267
	CEN	—	0,026359*
	CEX	0,42813	0,161734

*diferenças estatísticas significativas

CC: comprimento da carapaça; AC: altura da carapaça; CEA: comprimento da escama antenal ou escafoerito, CS1: comprimento do primeiro somito abdominal; CS2: comprimento do segundo somito abdominal; CS3: comprimento do terceiro somito abdominal; CS4: comprimento do quarto somito abdominal; CS5: comprimento do quinto somito abdominal; CS6: comprimento do sexto somito abdominal; CT: comprimento do telson; CEN: comprimento do endopodito do urópodo; CEX: comprimento do exopodito do urópodo.

Posteriormente, as mesmas análises morfométricas foram aplicadas, considerando apenas a identidade molecular dos indivíduos, independente de qual espécie eles haviam sido identificados pela morfologia anteriormente. Nessa nova análise, todas as variáveis mensuradas foram significativas na separação dos grupos analisados (machos e fêmeas das duas espécies, tabela 13). A análise de discriminante demonstrou diferenças significativas entre as duas espécies estudadas ($p < 0,05$) (tabela 14).

Tabela 13. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação molecular. Poder de discriminação de cada variável morfométrica e seu respectivo valor de significância.

Variáveis	Wilks' Lambda	F	Valor de p
AC	0,000591	25,51769	0,000000*
CEA	0,001375	98,74012	0,000000*
CS1	0,000595	25,90119	0,000000*
CS2	0,000722	37,76031	0,000000*
CS3	0,000583	24,80418	0,000000*
CS4	0,000552	21,92899	0,000000*
CS5	0,000591	25,55247	0,000000*
CS6	0,000503	17,29751	0,000000*
CT	0,000761	41,40755	0,000000*
CEN	0,000357	3,63866	0,015786*
CEX	0,000390	6,76330	0,000367*

*diferenças estatísticas significativas

CC: comprimento da carapaça; AC: altura da carapaça; CEA: comprimento da escama antenal ou escafoerito, CS1: comprimento do primeiro somito abdominal; CS2: comprimento do segundo somito abdominal; CS3: comprimento do terceiro somito abdominal; CS4: comprimento do quarto somito abdominal; CS5: comprimento do quinto somito abdominal; CS6: comprimento do sexto somito abdominal; CT: comprimento do telson; CEN: comprimento do endopodito do urópodo; CEX: comprimento do exopodito do urópodo.

Tabela 14. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação molecular. Valores de significância da análise discriminante entre as duas espécies estudadas. *diferenças estatísticas significativas

	Machos <i>F. paulensis</i>	Machos <i>F. brasiliensis</i>	Fêmeas <i>F. paulensis</i>	Fêmeas <i>F. brasiliensis</i>
Machos <i>F. paulensis</i>	—	0,000000	0,000000	0,000000
Machos <i>F. brasiliensis</i>	0,000000	—	0,000000	0,000000
Fêmeas <i>F. paulensis</i>	0,000000	0,000000	—	0,000000
Fêmeas <i>F. brasiliensis</i>	0,000000	0,000000	0,000000	—

A análise de discriminantes canônicas apresentou duas variáveis (Roots) como significativas ($p < 0,05$) (tabela 15). Os escores das variáveis canônicas (Roots 1 e 2) para machos e fêmeas das duas espécies analisadas estão ilustradas na figura 10. Diferentemente do visto quando analisamos somente a identidade morfológica dos indivíduos (figura 9), na análise onde foi considerada apenas a identificação molecular, pode-se visualizar uma separação completa das categorias (machos e fêmeas de cada uma das duas espécies), não havendo intersecção entre os grupos formados (figura 10).

Tabela 15. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação molecular. Análise de significância das variáveis canônicas (Roots) pelo teste do χ^2 .

"Roots" removidos	Autovalores	R Canônico	Wilks' Lambda	χ^2	GL	Valor de p
0	168,854994	0,997052	0,000318	761,1734	33	0,000000
1	8,498344	0,945896	0,053944	275,9211	20	0,000000
2	0,951664	0,698296	0,512383	63,1905	9	0,000000

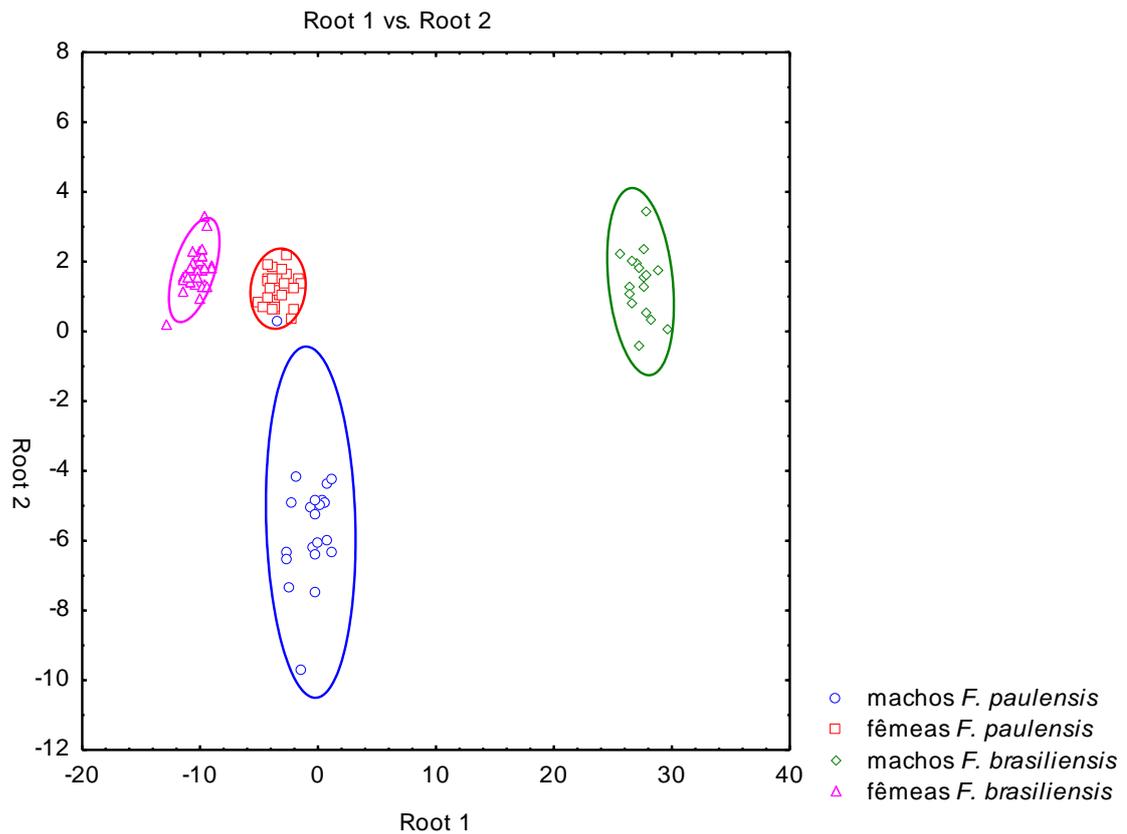


Figura 10. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967) *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação molecular. Visualização gráfica gerada a partir da relação entre duas variáveis (discriminantes canônicos) para as espécies estudadas.

Quando consideramos apenas a identidade molecular dos indivíduos, as relações morfométricas dos machos entre as duas espécies analisadas apresentaram diferenças significativas (ANCOVA, $\alpha= 0,05$) nas variáveis de CEA, CS2, CS3, CS5, CS6 e CT (tabela 16). Já para as fêmeas de *F. brasiliensis* e *F. paulensis*, houve diferença significativa nas variáveis CS1, CS2, CS3, CS5, CS6, CT, CEN e CEX (tabela 17).

Tabela 16. Machos de *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação molecular. Resultado da análise de covariância (ANCOVA, $\alpha = 0,05$) para cada relação morfométrica (CC como variável independente) entre as duas espécies estudadas.

Relação	Variável	Intercepto (a) (valor de p)	Inclinação (b) (valor de p)
Machos <i>F. brasiliensis</i> X <i>F. paulensis</i>	AC	0,899655	0,104672
	CEA	—	0,019955*
	CS1	0,423930	0,075790
	CS2	—	0,006900*
	CS3	0,001726*	0,182716
	CS4	0,231092	0,630115
	CS5	0,026623*	0,666588
	CS6	0,000368*	1,000000
	CT	0,000537*	0,191504
	CEN	0,229802	0,557365
	CEX	0,174151	0,596622

*diferenças estatísticas significativas

CC: comprimento da carapaça; AC: altura da carapaça; CEA: comprimento da escama antenal ou escafocerito, CS1: comprimento do primeiro somito abdominal; CS2: comprimento do segundo somito abdominal; CS3: comprimento do terceiro somito abdominal; CS4: comprimento do quarto somito abdominal; CS5: comprimento do quinto somito abdominal; CS6: comprimento do sexto somito abdominal; CT: comprimento do telson; CEN: comprimento do endopodito do urópodo; CEX: comprimento do exopodito do urópodo.

Tabela 17. Fêmeas de *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) e *F. paulensis* (Perez-Farfante, 1967), considerando apenas a identificação molecular. Resultado da análise de covariância (ANCOVA $\alpha= 0,05$) para cada relação morfométrica (CC como variável independente) entre as duas espécies estudadas.

Relação	Variável	Intercepto (a) (valor de p)	Inclinação (b) (valor de p)
Fêmeas <i>F. brasiliensis</i> X <i>F. paulensis</i>	AC	0,074311	0,327147
	CEA	0,377518	0,394102
	CS1	0,001345*	0,556876
	CS2	0,003533*	0,607901
	CS3	0,025600*	0,871565
	CS4	0,227370	0,705506
	CS5	0,026225*	0,106733
	CS6	0,013600*	0,537039
	CT	0,000001*	0,478991
	CEN	0,012564*	0,984612
	CEX	0,029508*	0,817231

*diferenças estatísticas significativas

CC: comprimento da carapaça; AC: altura da carapaça; CEA: comprimento da escama antenal ou escafoerito, CS1: comprimento do primeiro somito abdominal; CS2: comprimento do segundo somito abdominal; CS3: comprimento do terceiro somito abdominal; CS4: comprimento do quarto somito abdominal; CS5: comprimento do quinto somito abdominal; CS6: comprimento do sexto somito abdominal; CT: comprimento do telson; CEN: comprimento do endopodito do urópodo; CEX: comprimento do exopodito do urópodo.

4.2.2 Morfometria Geométrica

Devido à grande quantidade de dados trabalhados e com o objetivo de se encontrar caracteres que pudessem auxiliar na identificação das duas espécies de *Farfantepenaeus*, utilizou-se somente a identidade molecular dos indivíduos examinados pelas análises de morfometria geométrica.

Foi realizada inicialmente uma análise morfométrica completa, utilizando todos os indivíduos disponíveis (machos e fêmeas das duas espécies analisadas), para verificar se há variação morfológica entre os sexos e as espécies. No entanto, essa análise inicial mostrou uma elevada variabilidade nos dados obtidos, dificultando na detecção de possíveis padrões de variação morfológica existentes entre as duas espécies. Dessa forma, uma segunda análise foi realizada separadamente para machos e fêmeas, a fim de observar possíveis diferenças de forma entre as espécies.

As análises de morfometria geométrica na forma da carapaça dos indivíduos de *F. paulensis* e *F. brasiliensis* resultaram em 16 *relative warps* (RW) e 2 componentes uniformes (UCs). Com relação aos machos, os quatro primeiros *relative warps* explicaram 72,57% da variação morfológica total, porém não foram diferentes entre indivíduos de *F. paulensis* e *F. brasiliensis* (MANOVA Wilks test: $F = 0,308$; $gl = 16$; 26 ; $p = 0,871$) (tabela 18). Também não foram observadas diferenças significativas entre as espécies para as componentes uniformes (MANOVA Wilks test: $F = 0,245$; $gl = 2$; 40 ; $p = 0,784$) e o tamanho do centroide ($t = 1,345$; $p = 0,186$). Para as fêmeas, nenhuma das variáveis de forma foi diferente entre as espécies (*relative warps*: MANOVA Wilks test; $F = 1,513$; $gl = 4$; 40 ; $p = 0,217$ / componentes uniformes: MANOVA Wilks test; $F = 2,574$; $gl = 2$; 42 ; $p = 0,088$). Entretanto, fêmeas de *F. paulensis* foram significativamente maiores que fêmeas de *F. brasiliensis* ($TC_{paulensis} = 3,328$; $TC_{brasiliensis} = 2,209$; $t = 3,901$; $p < 0,001$) (tabela 18).

Tabela 18. Resultados das análises de morfometria geométrica para *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Resumo das estatísticas para o Teste T para o tamanho do centroide e Análise de Variância Multivariada (MANOVA) para as variações da forma (Relative Warps, RW; Componentes Uniformes, UC) obtidas para a carapaça dos indivíduos que tiveram sua identidade molecular atestada.

	Teste T para centroide		MANOVA para os 4 primeiros RWs					MANOVA para UCs				
	t	p	teste	F	gl - efeito	gl - erro	p	teste	F	gl - efeito	gl - erro	p
Machos	1,345523202	0,185850789	0,968559	0,308382	4	38	0,870572	0,987903	0,244913	2	40	0,783938
	Teste T para centroide		MANOVA para os 4 primeiros RWs					MANOVA para UCs				
	t	p	teste	F	gl - efeito	gl - erro	p	teste	F	gl - efeito	gl - erro	p
Fêmeas	3,901309055	0,000331475	0,868592	1,512879	4	40	0,216774	0,890809	2,574065	2	42	0,088203

Não foram encontradas diferenças na forma da carapaça entre as duas espécies analisadas, tanto para machos (figura 11) quanto para fêmeas (figura 12). Não houve uma separação gráfica clara entre as duas espécies para os dois sexos, e as formas extremas para cada categoria (figuras 11 e 12) não apontaram variações morfológicas que pudessem ser utilizadas como critério para separar as duas espécies. A variação morfológica encontrada para os dois sexos foi muito grande, visto que os dois eixos principais explicaram apenas pouco mais da metade da variação total da forma (51,07% para machos e 53,39% para fêmeas).

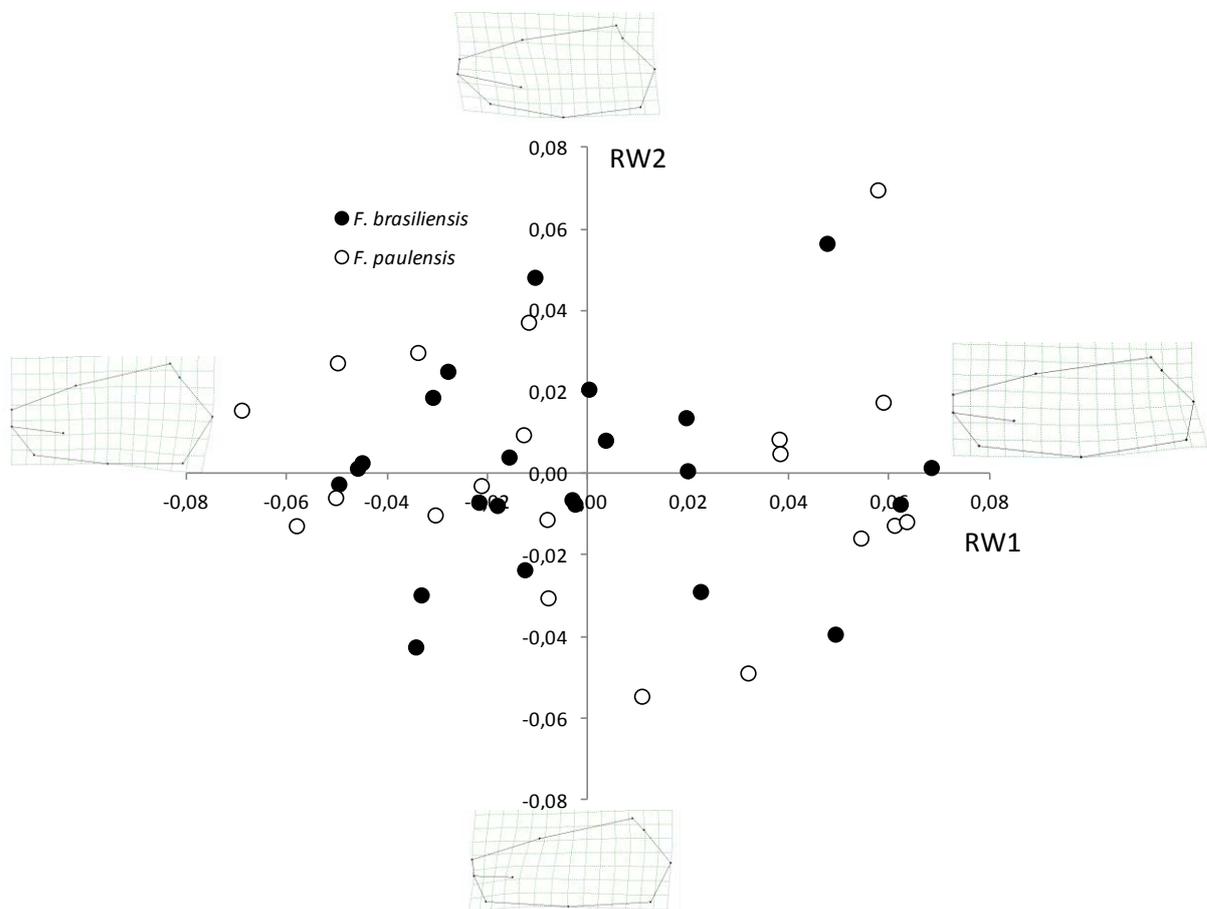


Figura 11. Resultados da morfometria geométrica para as diferenças na forma da carapaça para os machos de *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* considerando apenas a identidade molecular dos indivíduos. A ordenação ao longo dos dois primeiros *relative warps* (RWs) mostrados explicou 51,07% da variação morfológica total.

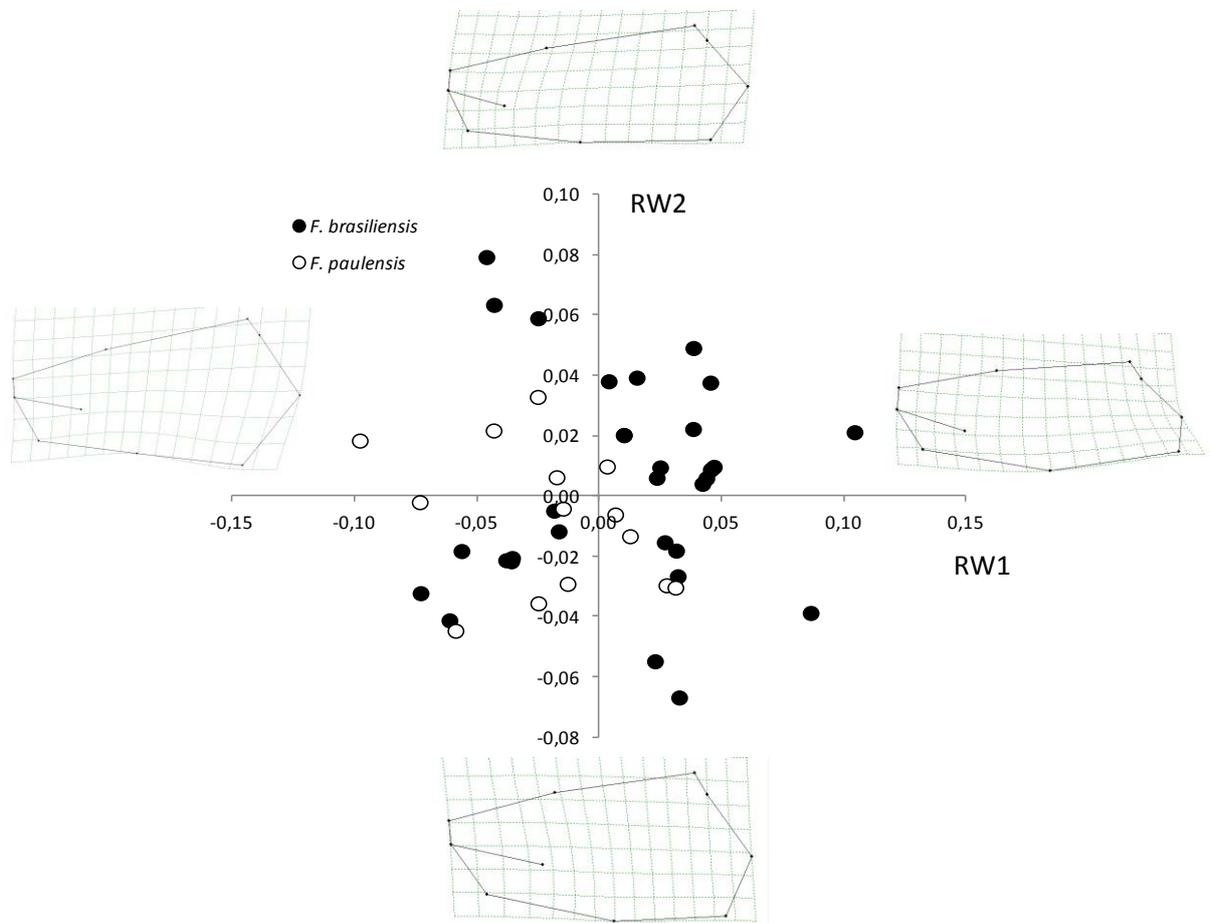


Figura 12. Resultados da morfometria geométrica para as diferenças na forma da carapaça para as fêmeas de *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* considerando apenas a identidade molecular dos indivíduos. A ordenação ao longo dos dois primeiros *relative warps* (RWs) mostrados explicou 53,39% da variação morfológica total.

4.2.3 Morfologia Comparativa

Devido ao fato das análises morfométricas (tanto a tradicional quanto a geométrica) não apontarem estruturas que auxiliassem de fato na separação das duas espécies, buscou-se então fazer uma análise comparativa morfológica entre os indivíduos analisados cuja identidade molecular foi atestada.

Nessa análise comparativa foi possível observar diferenças entre as duas espécies na posição do espinho orbital da carapaça em relação aos dentes do rostro (figura 13). *Farfantepenaeus brasiliensis* apresenta a extremidade final do espinho orbital sempre alinhada com o 4º dente do rostro, nunca antes, geralmente próximo ou depois da extremidade do 4º dente rostral (figura 13). Por outro lado, *F. paulensis* apresenta a extremidade final do espinho orbital sempre alinhada com no máximo até a extremidade do 3º dente rostral, nunca depois (figura 13).

Dessa forma, considerando as espécies presentes na região, ao identificar um indivíduo do gênero *Farfantepenaeus* no sudeste brasileiro, sugere-se que o primeiro caracter a ser observado seja o sulco da carapaça (figura 14), a fim de diagnosticar se o espécime é um *Farfantepenaeus subtilis* ou se é *F. brasiliensis* ou *F. paulensis*. Segundo PÉREZ-FARFANTE (1967), *F. paulensis* é intimamente associado com *F. subtilis* no Atlântico Ocidental da América do Sul e as duas espécies podem facilmente ser confundidas devido à semelhança morfológica. Essas espécies podem ser diagnosticadas observando o sulco adrostral (figura 14), que em *F. subtilis* termina de forma bem mais estreita do que em *F. paulensis* e *F. brasiliensis*. A genitália externa também pode ser utilizada para separar essas espécies, visto que as fêmeas de *F. paulensis* apresentam o processo apical e a protuberância posterior do télico muito mais estreita do que em *F. subtilis*, e os machos de *F. paulensis* apresentam a costa ventral do petasma quase reta ou ligeiramente curva, em vez

de acentuadamente convexa e distal em *F. subtilis* (PÉREZ-FARFANTE, 1967). Porém, esses critérios aplicam-se somente em indivíduos que já apresentam os caracteres sexuais desenvolvidos, tornando difícil a identificação dos juvenis, cujas genitálias ainda estão em formação. Portanto, recomenda-se que somente após a confirmação de que não se trata de um *F. subtilis* deve-se utilizar então a posição do espinho orbital em relação aos dentes do rosto e identifica-se se o espécime analisado é um *F. paulensis* ou um *F. brasiliensis*.

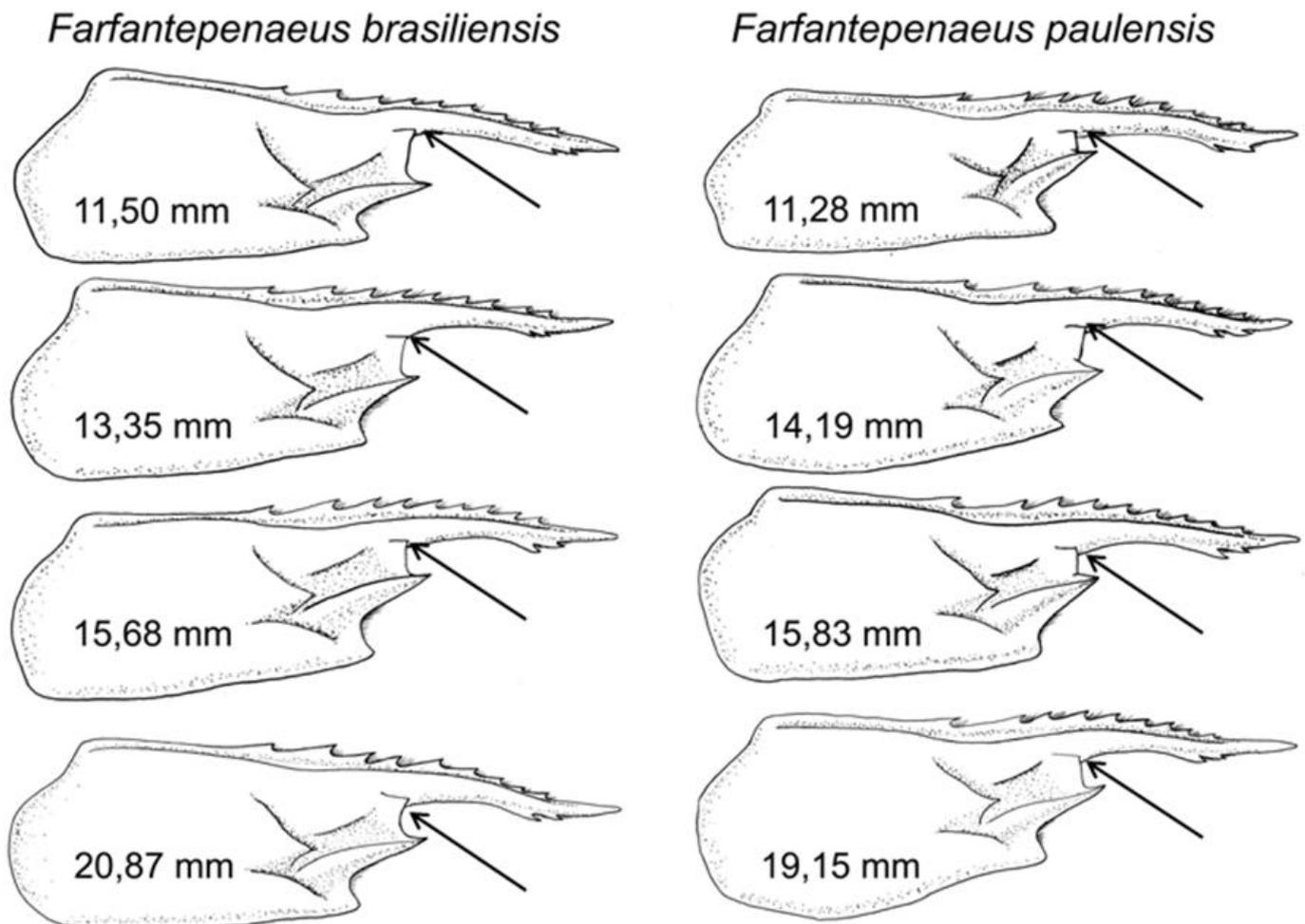
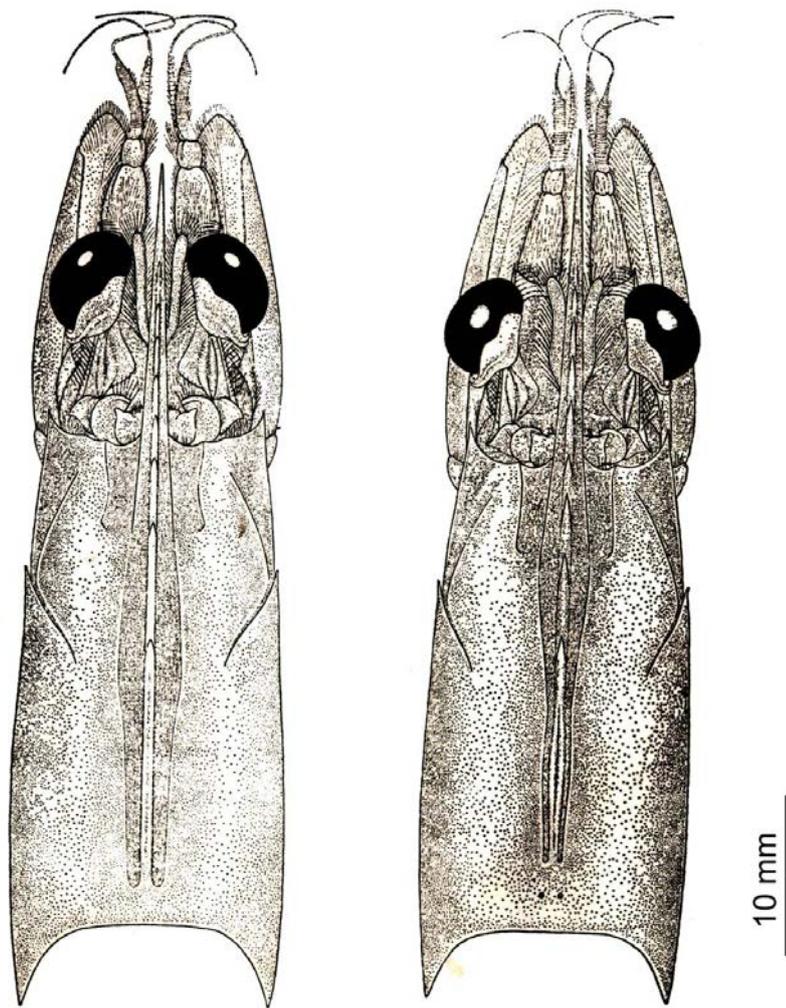


Figura 13. Diferenças na posição do espinho orbital em relação aos dentes do rostrum para *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*, para diferentes tamanhos de carapaça, considerando-se apenas a identidade molecular dos indivíduos. As setas indicam a extremidade do espinho orbital e os valores expressam o comprimento da carapaça (mm).



Farfantepenaeus brasiliensis
ou *F. paulensis*

Farfantepenaeus subtilis

Figura 14. Comparação da morfologia da carapaça das espécies *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis* em relação à carapaça de *F. subtilis*. Essas espécies podem ser diagnosticadas observando o sulco adrostral, que em *F. subtilis* termina de forma bem mais estreita do que em *F. paulensis* e *F. brasiliensis*. Adaptado de PÉREZ-FARFANTE (1967).

5. DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I pode ser utilizado para separar *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Os espécimes de ambas as espécies formaram dois grupos geneticamente separados, compreendendo assim dois estoques diferentes. Dessa forma, como o foco do presente estudo foi atestar molecularmente a identidade dessas espécies e o gene COI mostrou-se eficiente para responder a tal pergunta, não houve a necessidade do uso de outros genes.

Devido ao elevado custo para a obtenção dos dados moleculares, optou-se por ampliar a variabilidade amostral e focada no gene COI, em vez de proceder a uma análise com poucos indivíduos com outros genes. O gene COI tem sido frequentemente usado para analisar relações filogenéticas em muitos crustáceos marinhos, incluindo espécies de *Penaeus* e outros Decapoda (QUAN *et al.*, 2001). Além disso, como a dificuldade na utilização dos caracteres morfológicos tradicionais ocorre principalmente na fase juvenil (nos adultos esses caracteres são bem evidentes), uma vez confirmada a identidade dos indivíduos adultos, focou-se em analisar a identidade molecular sobretudo dos espécimes juvenis das duas espécies alvo do estudo.

Para as duas espécies analisadas, não houve separação genética em relação às localidades amostradas, fato evidenciado pelas análises de Maximum-Likelihood, divergência genética, rede de haplótipos e AMOVA. Isso provavelmente se deveu à ausência de barreiras geográficas entre os pontos amostrados e também por esses locais situarem-se em latitudes muito próximas.

Este perfil associa-se à história de vida geral para os camarões do gênero *Farfantepenaeus*, a qual inclui a desova em águas oceânicas e um período de desenvolvimento inicial de vida no estuário, conforme proposto pelo ciclo de vida tipo II descrito por DALL *et al.* (1990).

Adicionalmente, é comum que análises genéticas de estruturas de populações marinhas apontem somente uma ligeira diferenciação geográfica em espécies com alto potencial de dispersão (PALUMBI, 2003).

McMILLEN-JACKSON & BERT (2003) compararam a estrutura filogenética e a biogeografia do camarão marrom *Farfantepenaeus aztecus* e do camarão branco *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767), no leste dos Estados Unidos. No referido estudo, não houve estruturação filogenética significativa para *F. aztecus* e os haplótipos próximos compartilhados estavam geograficamente dispersos, enquanto que para *L. setiferus* os haplótipos estavam geograficamente estruturados. Ainda na mesma região de estudo, McMILLEN-JACKSON & BERT (2004) não encontraram uma diferença na população de *F. duorarum*, sugerindo uma distribuição em longo prazo e um fluxo de genes alto o suficiente para manter uma estrutura populacional geneticamente homogênea, ao longo da distância geográfica estudada.

Para as duas espécies analisadas no presente estudo, considerando esse deslocamento dos indivíduos devido ao seu ciclo de vida, é provável que o fluxo gênico ocorra conforme sugerido pelo modelo *stepping stone*. Segundo KIMURA & WEISS (1964), esse modelo assume que uma população inteira é subdividida em colônias e a migração dos indivíduos em cada geração é restrita a colônias próximas – o que justificaria a ausência de variabilidade genética entre as três regiões da região sudeste estudadas. Esse modelo já foi sugerido para outras espécies de Decapoda em estudos anteriores (PALUMBI, 2003; RHODES *et al.*, 2003). Uma espécie pode estar apta a ser mantida em uma reserva não *self-seeding* por meio do recrutamento larval produzido por outras reservas populacionais, dispostas em um sistema coordenado (GAINES *et al.*, 2003; HASTINGS & BOTSFORD, 2003; PALUMBI, 2003). Segundo os autores, se essas conexões larvais seguem o fluxo médio das correntes oceânicas, então essas redes de reservas marinhas serviriam

de “trampolins” (*stepping-stone*) para o recrutamento de populações distantes – o que poderia explicar o fato de os estoques populacionais do ponto norte (Ubatuba) e do ponto sul (Cananéia para *F. brasiliensis* e Rio Grande do Sul para *F. paulensis*) terem apresentado pouca variabilidade genética entre si.

Os aspectos acima certamente são favorecidos pelo regime de correntes oceânicas que regem a dinâmica de águas do litoral sudeste do país. Segundo CASTRO-FILHO *et al.* (1987), pode-se afirmar que a região de estudo é fortemente influenciada por três massas de água : as Águas Centrais do Atlântico Sul, com temperatura e salinidade baixas; as Águas Tropicais, com salinidade e temperatura altas; e as Águas Costeiras, com temperatura alta e salinidade baixa. Essas massas de água interagem e modificam a temperatura, a salinidade e as condições de nutrientes durante as estações (CASTRO *et al.*, 2004). No entanto, a inclusão nas análises de espécimes provenientes de localidades mais distantes, abrangendo os limites de distribuição, seria importante para propor com maior consistência inferências sobre a variabilidade genética e o modelo de *stepping-stone* para ambas as espécies.

Embora não forneçam evidências diretas de isolamento genético, as variações fenotípicas entre os estoques podem também ser usadas para identificar as populações (BEGG *et al.*, 1999). Todavia, conforme relatou DUMONT (2008), em muitos casos onde se assumiu que a causa da variação em caracteres morfométricos era genética, o cultivo de indivíduos do mesmo grupo, criados em condições experimentais diferentes, resultou em alometrias no crescimento. DITTY & BREMER (2011) também relatam a importância da temperatura nos caracteres morfológicos, ressaltando o fato de que condições ambientais podem induzir diferenças nas taxas de desenvolvimento dos camarões. Segundo os autores, um caráter definido como mais confiável para discriminar os táxons poderia variar de acordo com a temperatura da água, por exemplo.

Assim, a temperatura é um parâmetro que pode influenciar diretamente nos fenótipos observados em natureza, de maneira que os estoques podem apresentar variações morfológicas e merísticas relacionadas a variáveis ambientais, tal qual camaleões que mudam sua aparência de acordo com o ambiente (SWAIN & FOOTE, 1999). Dessa forma, a busca de mais caracteres que auxiliem na identificação de espécies com morfologias tão parecidas torna-se essencial, de modo a evitar ao máximo que os critérios utilizados variem ao longo de sua distribuição ou de seu estágio de vida.

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram a hipótese inicial do projeto, ou seja, de que os caracteres morfológicos tradicionais utilizados para separar as espécies *F. brasiliensis* e *F. paulensis* podem não ser totalmente eficazes para indivíduos juvenis. As técnicas aqui empregadas só reforçaram essa hipótese, uma vez que os resultados moleculares mostraram que a maioria (60%) dos juvenis morfologicamente identificados como *F. paulensis* eram, na verdade, *F. brasiliensis*.

Pôde ser observado também que a dificuldade na identificação ocorre, principalmente, nos juvenis de *F. paulensis*, visto que apenas um *F. brasiliensis* (3%) foi identificado erroneamente. Isso também pode ser facilmente observado quando comparamos os resultados morfométricos utilizando a identidade morfológica (Figura 9) e utilizando a identidade molecular (Figura 10). Na primeira análise, que considerou apenas a identificação através da morfologia, apesar da separação entre os grupos definidos (machos e fêmeas das duas espécies), notou-se intersecção entre eles, com indivíduos apresentando características de mais de um grupo. Isso não ocorre quando observamos o gráfico baseado apenas na identificação molecular (figura 8), onde a separação dos grupos foi bastante evidente e não houve intersecção entre eles.

Tal resultado consolida a dificuldade existente em identificar os juvenis de *F. paulensis* e *F. brasiliensis* utilizando os caracteres morfológicos tradicionais. Isso não é novidade no gênero:

ocorre com essas duas espécies um problema similar ao apontado por DITTY & BREMER (2011), onde os autores mostraram que, para as espécies congêneres *F. aztecus* e *F. duorarum*, a identificação molecular mostrou que mais de 30% dos indivíduos haviam sido identificados erroneamente.

PARDO *et al.* (2009) salientaram que uma limitação importante a ser considerada em muitos campos baseados em estudos ecológicos é a inabilidade em identificar corretamente os estágios iniciais de muitas espécies de crustáceos. Segundo os autores, os estágios larvais e juvenis de crustáceos decápodes frequentemente não exibem caracteres diagnósticos específicos tão evidentes quanto nos adultos, e muitas vezes apresentam morfologias crípticas dentro do grupo relacionado. Os crustáceos decápodes, assim como a maioria das espécies, são primariamente descritos e identificados por caracteres morfológicos que podem ser estudados em espécimes preservados (McLAUGHLIN *et al.*, 1982). Porém, embora esse procedimento defina efetivamente a maioria das espécies, táxons morfológicamente similares, mas isolados reprodutivamente, não podem ser facilmente resolvidos pelas técnicas tradicionais de reconhecimento de espécies. Esses táxons “problemáticos” são denominados de espécies crípticas (KNOWLTON, 1986). Segundo a autora, o termo “críptico”, quando usado taxonomicamente (ao contrário de ecologicamente), é utilizado com frequência para conjuntos de espécies que são muito difíceis de serem distinguidas utilizando os caracteres morfológicos tradicionais. Sugere-se aqui que as espécies *F. paulensis* e *F. brasiliensis* sejam espécies crípticas nos estágios juvenis, visto que sua identificação através dos caracteres até então utilizados para distingui-las é difícil e o presente estudo provou que muitas vezes podem induzir ao erro na identificação. Além disso, é comum que espécies sejam mais crípticas em seus estágios juvenis (SCHEIBLING, 1995).

Ao contrário do esperado, infelizmente as estruturas apontadas pelas morfometrias (tanto pela tradicional quanto pela geométrica) como significativamente diferentes entre os indivíduos examinados foram de certa forma muito subjetivas e, provavelmente, não confiáveis para a identificação de *F. brasiliensis* e *F. paulensis*. Os marcos anatômicos utilizados apenas confirmaram a grande semelhança morfológica entre as duas espécies, visto que não houve diferenças significativas que apontassem para algum caráter morfológico possível de ser aplicado na identificação.

Resultados relacionados aos tamanhos dos indivíduos analisados não devem ser considerados, pois devido aos objetivos do projeto, propositalmente escolheram-se os menores indivíduos para as análises moleculares e morfométricas. Os caracteres morfométricos utilizados, tais como altura da carapaça e comprimento dos somitos, por exemplo, mostraram-se significantes, porém estes caracteres são muito subjetivos quando analisamos indivíduos das duas espécies, e não foi possível observar diferenças morfológicas confiáveis o suficiente para defini-los como um caráter diagnóstico.

Essa variabilidade nos dados também pode refletir flutuações na captação e alocação de energia (PÉREZ-CASTAÑEDA & DEFEO, 2002). Essas variações morfométricas também podem ser afetadas por diversos fatores, tais como disponibilidade de alimento, stress ou ciclo reprodutivo (PAULY, 1984; CHU *et al.*, 1995), e talvez por isso não tenham sido visualizadas como caracteres confiáveis na identificação. No entanto, ao analisar a morfologia externa de juvenis de cada espécie, foi possível encontrar diferenças na posição do espinho orbital em relação aos dentes do rosto.

Caracteres morfológicos e morfométricos do rosto têm sido amplamente utilizados na identificação de espécies de camarões peneídeos (HEALES *et al.*, 1985; DALL *et al.*, 1990; PENDREY

et al., 1999; MAY-KÚ *et al.*, 2005; DITTY & BREMER, 2011). Porém, é importante reforçar que a posição do espinho orbital representa apenas mais um caráter diagnóstico na diferenciação somente das duas espécies aqui analisadas e, para o reconhecimento dos juvenis em nível de espécie, todos os caracteres conhecidos (sulco da carapaça, figura 14; sulco no sexto somito, figura 1; posição do espinho orbital, figura 13; forma dos caracteres sexuais, quando possível) devem ser considerados, pois algum deles sendo utilizado isoladamente pode não provar ser diagnóstico, principalmente nos indivíduos com comprimento de carapaça menor que 10 mm.

Possivelmente outras espécies de *Farfantepenaeus* tenham a posição similar entre tais características morfológicas. O que fortalece a escolha da posição do espinho orbital em relação aos dentes do rostro para separar as espécies estudadas no presente trabalho é que apenas elas deste gênero ocorrem entre São Paulo e Rio Grande do Sul. Apesar disso, capturar indivíduos de *F. subtilis* no litoral paulista pode ser apenas uma questão de tempo, visto que esta é uma espécie cujo limite final de sua distribuição é o estado do Rio de Janeiro. Por isso a análise diversos critérios morfológicos é tão importante, pois se analisássemos apenas o sulco do sexto somito, poderia confundir-se um *F. subtilis* com um *F. paulensis*, por exemplo.

Para sanar esta possível sobreposição de espécies, a qual geraria dificuldade na identificação, inseriu-se no presente estudo uma ilustração (figura 14) mostrando uma característica morfológica que pode ser usada para separar *F. subtilis* das duas espécies aqui estudadas. Especificamente, a morfologia do sulco dorsal da carapaça pode ser usada e separa com facilidade as espécies. Assim, sugere-se que somente após a confirmação de que não se trata de um *F. subtilis*, utiliza-se então a posição do espinho orbital em relação aos dentes do rostro e identifica-se se o espécime analisado é um *F. paulensis* ou um *F. brasiliensis*.

Nesse contexto, pode-se afirmar que no presente estudo foi possível fornecer informações quantitativas e qualitativas que permitem uma separação confiável das espécies *F. brasiliensis* e *F. paulensis*. O conhecimento da estrutura dos estoques é pré-requisito básico para que medidas de manejo de pesca sejam efetivas (BEGG *et al.*, 1999). Um melhor entendimento dos processos que afetam esses estoques populacionais, incluindo o papel da pesca dentro do contexto dos impactos humanos, é necessário para o desenvolvimento de políticas de conservação e restauração, tanto dos ambientes estuarinos quanto no mar aberto (BLABER *et al.*, 2000). Em razão da grande importância econômica da pesca do camarão rosa no Brasil e da visível diminuição do seu estoque, principalmente nas regiões sul e sudeste, é importante que sejam implementados esforços no sentido de aumentar o conhecimento da biologia deste recurso, criando fundamentos para futuras análises das medidas de controle e ordenamento da pesca dessas espécies.

Sendo assim, em um cenário onde em menos de 40 anos registrou-se uma redução de 87% da população de *F. brasiliensis* e *F. paulensis* (NETO & DORNELLES, 1996), um melhor entendimento da estrutura desse estoque é necessário, não somente por seu alto valor comercial, mas também para que medidas de manejo mais efetivas possam ser aplicadas. Porém, deve ser lembrado que, conforme ressaltam EBACH & HOLDREGE (2005), o uso de marcadores moleculares gera apenas informação – e não o conhecimento. Sequenciar os dados não diz muito sobre os genes, a não ser que se os coloque em um contexto. Estudos genéticos frequentemente não suportam diferenças populacionais que impliquem prolongada separação ecológica ou mudanças rápidas em traços fenotípicos (BEGG *et al.*, 1999; SWAIN & FOOTE, 1999; WAPLES *et al.*, 2008; DITTY & BREMER, 2011). Dessa forma, as técnicas moleculares provêm informações significativas apenas se os estudiosos as colocarem dentro do contexto de conhecimento morfológico, fisiológico e comportamental.

A identificação correta das espécies é essencial como ferramenta para estudos básicos em biologia como, por exemplo, investigações ecológicas, estudos de dinâmica populacional, impactos da sobrepesca e estimativas do desembarque pesqueiro (PÉREZ-FARFANTE, 1998). E conforme reportado por DITTY & BREMER (2011), a integração da taxonomia molecular e da morfologia comparativa pode fornecer informações importantes sobre padrões de diversidade e sobre os princípios ecológicos e evolutivos que abrangem o manejo pesqueiro.

A identificação das populações ou estoques pesqueiros é um componente integral na avaliação pesqueira recente. Apesar disso, não se tem dado a devida relevância para esse tipo de estudo, dado o número insuficiente de publicações sobre o assunto. E conforme alertam BEGG *et al.* (1999), essa escassez de estudos pode produzir resultados enganadores, deixando os modelos das estruturas dos atuais estoques populacionais com consideráveis níveis de incerteza. A complexidade do problema na identificação das espécies *F. brasiliensis* e *F. paulensis* exige uma abordagem multidisciplinar. A identificação e o conhecimento do estoque de camarões devem ser baseados em mais do que uma única metodologia e devem compreender outras abordagens de identificação dos estoques, tais como história de vida (taxa de crescimento, recrutamento, etc), análises genéticas e estudos em laboratório, como cultivos dos sucessivos estágios larvais (BEGG & WALDMAN, 1999; CADRIN, 2000; PARAMO & SAINT-PAUL, 2010).

A pesca no litoral de São Paulo é o típico caso no qual a alta exploração, combinada com um manejo pesqueiro não efetivo, tem resultado em um sério esgotamento dos estoques de camarão. A região tem sido impactada negativamente pelo excesso de pesca, onde o estoque de desova pode ter sido reduzido a um nível em que o número de recrutas produzidos é insuficiente para manter a população. Nesse contexto, conclui-se que a ferramenta molecular forneceu uma evidência precisa na identificação das espécies quando a análise morfológica foi duvidosa,

constando, portanto, que a combinação de três importantes ferramentas (análise molecular, análise morfológica e análise morfométrica) é imprescindível para auxiliar no conhecimento desse valioso recurso marinho. Entender o ciclo de vida, a variabilidade, o nicho ecológico e o papel da espécie na comunidade e no ecossistema requer uma abordagem multidisciplinar (DITTY & BREMER, 2011).

O emprego de técnicas moleculares permite a verificação da identidade das espécies com segurança, porém os altos custos associados ainda requerem o uso de abordagens tradicionais no reconhecimento das espécies. A integração da taxonomia molecular e da morfologia comparativa, assim como feito no presente estudo, pode prover informações valiosas para padrões de diversidade e para os princípios ecológicos e evolutivos que abrangem a área de recursos pesqueiros. O que pôde ser observado é que existe literatura que auxilie na identificação de *F. brasiliensis* em relação a algumas outras espécies do gênero, e/ou trabalhos que mostrem diferenças entre *F. paulensis* e outras espécies, porém os caracteres apontados por esses estudos não ajudam na identificação dos juvenis quando comparamos *F. paulensis* e *F. brasiliensis*, específica e conjuntamente. Não existem estudos que comparem os juvenis de *F. paulensis* e *F. brasiliensis* e que forneçam caracteres confiáveis para separar essas duas espécies de morfologia tão similar. Assim, os resultados do presente estudo, além de evidenciarem a dificuldade na identificação dessas duas espécies, ainda fornecem caracteres morfológicos que auxiliarão na separação dos juvenis de *F. brasiliensis* e *F. paulensis*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, D.; ROHLF, F.; SLICE, D. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Italian Journal of Zoology*, 71: 5–16.
- ALVES-COSTA, F.A.; COSTA, R.C. 2004. Níveis de metais pesados no camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda) na Enseada de Ubatuba, Ubatuba, São Paulo. *Revista Biociências de Taubaté*, 10(4): 199-203.
- ANASTASIADOU, C.A.; LEONARDOS, I.D. 2008. Morphological variation among populations of *Atyaephyra desmarestii* (Millet, 1831) (Decapoda: Caridea: Atyidae) from freshwater habitats of northwestern Greece. *Journal of Crustacean Biology*, 28(2): 240-247.
- BALDWIN, J.D.; BASS, A.L.; BOWEN, B.W.; CLARK Jr, W.H. 1998. Molecular Phylogeny and Biogeography of the Marine Shrimp *Penaeus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 10(3): 399-407.
- BANDELT, H.J.; P. FORSTER; A. RÖHL. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48.
- BARRACCO, M.A.; LORGERIL, J.; GUEGUEN, Y.; BACHÈRE, E. 2005. Molecular characterization of penaeidians from two Atlantic Brazilian shrimp species, *Farfantepenaeus paulensis* and *Litopenaeus schmitti*. *Microbiology Letters*, 250: 117-120.
- BEGG, G.A.; FRIEDLAND, K.D.; PEARCE, J.B. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fisheries Research*, 43: 1-8.
- BEGG, G.A.; WALDMAN, J.R. 1999. A holistic approach to fish stock identification. *Fisheries Research*, 43:35–44.

- BENZIE, J.A.H. 2000. Population genetic structure in penaeid prawns. *Aquaculture Research*, 31: 95-119.
- BLABER, S.J.M.; CYRUS, D.P.; ALBARET, J.-J.; CHING, C.V.; DAY, J.W.; ELLIOTT, M.; FONSECA, M.S.; HOSS, D.E.; ORENSANZ, J.; POTTER, I.C.; SILVERT, W. 2000. Effects of fishing on the structure and functioning of estuarine and nearshore ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 590-602.
- BOOKSTEIN, F.L. 1997. Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. *Cambridge University Press*. 456pp.
- BRASIL, 2007. Instrução Normativa nº 163, de 12 de julho de 2007, que traz resoluções às proposições apresentadas pela Diretoria de Uso Sustentável da Biodiversidade e Florestas no Processo Ibama nº 02033.000024/2005-00. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Ministério da Pesca e Aquicultura, Diário Oficial de União, 13 de julho de 2007, página 117, Seção 1.
- BREMER, J.R.A.; DITTY, J.G.; TURNER, J.S.; SAXTON, B.L. 2010. Molecular species identification of commercially important penaeid shrimp from the Gulf of Mexico using a multiplex haplotype-specific PCR assay. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38: 715-721.
- BRISSON, S. 1981. Estudo da população de peneídeos da área de Cabo Frio. IV-Limite da penetração das post-larvas de camarão-rosa na Laguna de Araruama. *Publicações do Instituto Pesqueiro da Marinha*, Rio de Janeiro, 141: 1-11.
- CADRIN, S.X. 2000. Advances in morphometric analysis of fish stock structure. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10: 91-112.
- CARVALHO-BAPTISTA, A.; CASTILHOS, A.L.; FRANSOZO, A.; COSTA, R.C. 2012. Diel comparison of the catch and size of the shrimp *Artemesia longinaris* (Dendrobranchiata: Penaeidae) in the Ubatuba region, Northern Coast of the State of São Paulo. *Crustaceana*, 85(10): 1179-1191.

- CASTILHO, A.L.; GAVIO, M.A.; COSTA, R.C.; BOSCHI, E.E.; BAUER, R.T.; FRANSOZO, A. 2007. Latitudinal variation in population structure and reproductive pattern of the endemic South American shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda: Penaeoidea). *Journal of Crustacean Biology*, 27(4): 548-552.
- CASTRO, R.H.; COSTA, R.C.; FRANSOZO, A.; MANTELATTO, F.L.M. 2004. Population structure of the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1962) (Crustacea: Penaeioidea) in the littoral of São Paulo, Brazil. *Scientia Marina*, 69(1): 105-112.
- CASTRO-FILHO, B.M.; MIRANDA, L.B.; MYAO, S.Y. 1987. Condições hidrográficas na plataforma continental ao largo de Ubatuba: variações sazonais e em média escala. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, 35(2): 135-151.
- CHAGAS-SOARES, F.; PEREIRA, O.M.; SANTOS, E.P. 1995. Contribuição ao ciclo biológico de *Penaeus schmitti* BURKENROAD, 1936, *Penaeus brasiliensis* LATREILLE, 1817 e *Penaeus paulensis* PÉREZ-FARFANTE, 1967, na região Lagunar-Estuarina de Cananéia, São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 22(1): 49-59.
- CHAN, T. Y. 2008. Shrimps and prawns: FAO species identification guide for fishery purposes. *The living marine resources of the Western Central Pacific*, 2: 851-966.
- CHU, K.H.; CHEN, Q.C.; HUANG, L.M.; WONG, C.K. 1995. Morphometric analysis of commercially important penaeid shrimps from the Zhujiang estuary, China. *Fisheries Research*, 23:83-93.
- CHUENSRI, C. 1968. *A morphometric and meristic study of postlarval brown shrimp, Penaeus aztecus Ives, pink shrimp P. duorarum Burkenroad, and white shrimp P. setiferus (Linnaeus)*. M.S. thesis, University of Miami, Coral Gables, Florida. 108 pp.
- COSTA, R.C. 2002. *Biologia e distribuição ecológicas das espécies de camarões Dendrobranchiata (Crustacea: Decapoda) na região de Ubatuba (SP)*. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, SP, 186 pp.

- COSTA, R.C.; FRANSOZO, A. 1999. A nursery ground for two tropical pink-shrimp *Penaeus* species: Ubatuba bay, northern coast of São Paulo, Brazil. *Nauplius*, 7:73–81.
- COSTA, R.C., FRANSOZO, A., MANTELATTO, F.L.M.; CASTRO, R.H. 2000. Occurrence of shrimp species (Natantia: Penaeidea: Caridea) in Ubatuba Bay, Ubatuba, SP, Brazil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 113(3): 776-781.
- COSTA, R.C.; FRANSOZO, A.; MELO, G.A.S.; FREIRE, F.A.M. 2003. An illustrated key for Dendrobranchiata shrimps from the northern coast of São Paulo, Brazil. *Biota Neotropica*, 3: 1-12. Disponível em www.biotaneotropica.org.br/v3n1, acesso em 02/01/2014.
- COSTA, R.C.; FRANSOZO, A. 2004. Reproductive biology of the shrimp *Rimapenaeus constrictus* (Decapoda, Penaeidae) in the Ubatuba Region of Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 24(2): 274-281.
- COSTA, R.C.; FRANSOZO, A.; CASTILHO A.L.; FREIRE, F.A.M. 2005a. Annual, seasonal and spatial variation of abundance of the shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda; Penaeoidea) in southeastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, Plymouth, UK*, 85: 107-112.
- COSTA, R.C.; FRANSOZO, A.; NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. 2005b. Ecology of the rock shrimp *Sicyonia dorsalis* Kingsley, 1878 (Crustacea: Sicyoniidae) in a subtropical region of Brazil. *Gulf and Caribbean Research, Ocean Springs*, 17(1): 49-56.
- COSTA, R.C.; FRANSOZO, A.; FREIRE, A.M.; CASTILHO, A.L. 2007. Abundance and ecological distribution of the “sete-barbas” shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1962) (Decapoda: Penaeoidea) in three bays of the Ubatuba region, Southeastern Brazil. *Gulf and Caribbean Research*, 19: 33-41.

- COSTA, R.C.; LOPES, M.; CASTILHO, A.L.; FRANSOZO, A.; SIMÕES, S.M. 2008. Abundance and distribution of juvenile pink shrimps *Farfantepenaeus* spp. in a mangrove estuary and adjacent bay on the northern shore of São Paulo State, southeastern Brazil. *Invertebrate Reproduction and Development*, 52(1-2): 51-58.
- D'INCAO, F. 1991. Pesca e biologia de *Penaeus paulensis* na Lagoa dos Patos, RS. *Atlântica*, 13(1): 159-169.
- D'INCAO, F. 1995. *Taxonomia, Padrões distribucionais e ecológicos do Dendrobranchiata (Crustacea: Decapoda) do litoral brasileiro*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 365pp.
- D'INCAO, F.; VALENTINI, H.; RODRIGUES, L.F. 2002. Avaliação da pesca de camarões nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. *Atlântica*, 24(2): 103-116.
- DALL, W.; HILL, B.J.; ROTHLSBERG, P.C.; STAPLES, D.J. 1990. In: *Advances Marine Biology, 2: The Biology of the Penaeidae*. Vol. 27, Blaxter, J.H.S. and Southward, A.J. (eds.), Academic Press, San Diego, pp. 1-489.
- DE GRAVE, N.S.; PENTCHEFF, D.; AHYONG, S.T. 2009. A classification of living and fossil genera of decapod crustaceans. *Raffles Bulletin of Zoology*, 1-109.
- DÍAS-JAIMES, P.; BARBOSA-SALDAÑA, M.L.; URIBE-ALCOCER, M. 2006. Allozyme variation in eastern Pacific brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis* populations. *Fisheries Science*, 72: 696-698.
- DITTY, J.G.; BREMER, J.R.A. 2011. Species Discrimination of Postlarvae and Early Juvenile Brown Shrimp (*Farfantepenaeus aztecus*) and Pink Shrimp (*F. duorarum*) (Decapoda: Penaeidae): Coupling Molecular Genetics and Comparative Morphology to Identify Early Life Stages. *Journal of Crustacean Biology*, 31(1): 126-137.

- DUMONT, L.F.C. 2008. *Identificação de estoques e aspectos biológicos e pesqueiros do camarão-barba-ruça (Artemesia longinaris BATE, 1888 – Decapoda: Penaidae)*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS. 240pp.
- EBACH, M.C.; HOLDREGE, C. 2005. More taxonomy, not DNA barcoding. *BioScience*, 55: 822-823.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1: 47-50.
- 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. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294-299.
- FREIRE, F.A.M. 2005. *Distribuição ecológica e biologia populacional de X. kroyeri (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) no litoral do Estado de São Paulo*. Botucatu, São Paulo, 2005. Originalmente apresentado como tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências. 247pp.
- GAINES, S.D., GAYLORD B.; LARGIER, J.L. 2003. Avoiding current oversights in marine reserve design. *Ecological Applications*, 13: S32–S46.
- GARCÍA-MACHADO, E.; ROBAINAS, A.; ESPINOSA, G.; OLIVA, M.; PÁEZ, J.; VERDECIA, N.; MONNEROT, M. 2001. Allozyme and mitochondrial DNA variation in Cuban populations of the shrimp *Farfantepenaeus notialis* (Crustacea: Decapoda). *Marine Biology*, 138: 701-707.
- GUSMÃO, J.; LAZOSKI, C.; SOLÉ-CAVA, A.M. 2000. A new species of *Penaeus* (Crustacea: Penaeidae) revealed by allozyme and cytochrome oxidase I analyses. *Marine Biology*, 137: 435-446.

- HALL, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- HASTINGS, A.; BOTSFORD, L.W. 2003. Comparing designs of marine reserves for fisheries and for biodiversity. *Ecological Applications*, 13: S65–S70.
- HEALES, D.S.; POLZIN, H.G.; STAPLES, D.J. 1985. Identification of the postlarvae of the commercially important *Penaeus* species in Australia. In: Second Australian national prawn seminar (P. Rothlisberg, B. Hill and D. Staples, eds.), p. 41–46. *Seminar Sponsor*, Cleveland, Queensland, Australia.
- HEBERT, P.D.N.; RATNASINGHAM, S.; DE WAARD, J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1): S96-S99.
- IBAMA. 2011. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. *Boletim Estatístico da Aquicultura e Pesca no Brasil – ano 2011*. Brasil, 60p. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/informacoes-e-estatisticas/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>>, acesso em 13/01/2014.
- IWAI, M. 1978. *Pesca predatória e estudo biológico sobre camarão na costa centro-sul do Brasil do N/O “Prof. W. Besnard” em 1969-1971*. São Paulo, SUDELPA (Superintendência do desenvolvimento do Litoral Paulista/ Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo), 71pp.
- KIMURA, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2): 111-120.
- KIMURA, M.; WEISS, G.H. 1964. The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics*, 49(4): 561.

- KNOWLTON, N. 1986. Cryptic and sibling species among the decapod crustacean. *Journal of Crustacean Biology*, 6(3): 356-363.
- LAVERY, S.; CHAN, T.Y.; TAM, Y.K.; CHU, K.H. 2004. Phylogenetic relationships and evolutionary history of the shrimp genus *Penaeus s.l.* derived from mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31: 39-49.
- LOPES, M. 2008. *Ecologia Populacional dos camarões-rosa Farfantepenaeus brasiliensis (Latreille, 1817) e F. paulensis (Pérez-Farfante, 1967) (Decapoda: Dendrobranchiata: Penaeidae) em áreas de berçário do litoral norte de São Paulo*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 175pp.
- LOPES, M. 2012. *Distribuição e dinâmica populacional dos camarões-rosa, Farfantepenaeus brasiliensis (Latreille, 1817) e F. paulensis (Pérez-Farfante, 1967) e do camarão branco Litopenaeus schmitti (Burkenroad, 1936) (Decapoda: Dendrobranchiata: Penaeidae) no complexo baía-estuário de Santos -São Vicente, São Paulo, Brasil: subsídios científicos para a averiguação do período ideal de defeso*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 139pp.
- MAGGIONI, R.; ROGERS, A.D.; MACLEAN, N.; D'INCAO, F. 2001. Molecular phylogeny of Western Atlantic *Farfantepenaeus* and *Litopenaeus* shrimp based on mitochondrial 16S partial sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18(1): 66-73.
- MAGGIONI, R.; ROGERS, A.D. 2002. Microsatellite primers for three Western Atlantic *Farfantepenaeus* prawn species. *Molecular Ecology Notes*, 2(1), 51-53.
- MANTELATTO, F.L.M., ROBLES, R.; FELDER, D.L. 2007. Molecular phylogeny of the Western Atlantic species of the genus *Portunus* (Crustacea, Brachyura, Portunidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 150: 211–220.

- MANTELATTO, F.L.M.; ROBLES, R.; SCHUBART, C.D.; FELDER, D.L. 2009. Chapter 29. Molecular phylogeny of the genus *Cronius* Stimpson, 1860, with reassignment of *C. tumidulus* and several American species of *Portunus* to the genus *Achelous* De Haan, 1833 (Brachyura: Portunidae). Pp: 537-551. In: Martin, J.W., Crandall, K.A. & Felder, D.L. (Eds), *Crustacean Issues: Decapod Crustacean Phylogenetics*. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis/CRC Press.
- MARTIN, J.; DAVIS, G.E. 2001. An Updated Classification of the Recent Crustacea. *Science Series. Natural History Museum of Los Angeles Country*. 124pp.
- MAY-KÚ, M.A.; ORDÓÑEZ-LÓPEZ, U. ; DEFEO, O. 2005. Morphometric differentiation in small juveniles of the Pink spotted shrimp (*Farfantepenaeus brasiliensis*) and the southern pink shrimp (*F. notialis*) in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Fishery Bulletin*, 104(2): 306-310.
- McLAUGHLIN, P.A.; TAYLOR, G.T.; TRACEY, M.L. 1982. Systematic methods in research. In: L. G. Abele, ed., *The biology of Crustacea*, 1:29-63. Academic Press, New York.
- McMILLEN-JACKSON, A.L.; BERT, T.M. 2003. Disparate patterns of population genetic structure and population history in two sympatric penaeid shrimp species (*Farfantepenaeus aztecus* and *Litopenaeus setiferus*) in the Eastern United States. *Molecular Ecology*, 12: 2895-2905.
- McMILLEN-JACKSON, A.L.; BERT, T.M. 2004. Genetic diversity in the mtDNA control region and population structure in the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*. *Journal of Crustacean Biology*, 24(1): 101-109.
- MILLER, M.A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. 2010. "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees". In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA, 1-8.

- MORITZ, C.; DOWLING, T.E.; BROWN, W.M. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18(1): 269–292.
- NAKAGAKI, J.M.; NEGREIROS-FRANSOZO, M.L.; FRANSOZO, A. 1995. Composição e abundância de camarões marinhos (Crustacea; Decapoda: Penaeidae) na Enseada de Ubatuba, Ubatuba, Brasil. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 38(2): 583-591.
- NETO, J.D.; DORNELLES, L.D.C. 1996. *Diagnóstico da pesca marítima do Brasil*. Coleção Meio Ambiente (Séries – Estudos). IBAMA, Brasília, 165pp.
- PAIVA, M.P. 1997. *Recursos pesqueiros estuarinos marinhos do Brasil*. Edições UFC. Fortaleza. 278pp.
- PALUMBI, S.R. 2003. Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecological applications*, 13 (special number 1): 146-158.
- PALUMBI, S.R.; BENZIE, J. 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar penaeid shrimp. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1: 27-34.
- PARAMO, J.; SAINT-PAUL, U. 2010. Morphological differentiation of southern Pink shrimp *Farfantepenaeus notialis* in Colombian Caribbean Sea. *Aquatic Living Resources*, 23: 95-101.
- PARDO, L.M.; AMPUERO, D. ; VÉLIZ, D. 2009. Using morphological and molecular tools to identify megalopae larvae collected in the field: the case of sympatric *Cancer* crabs. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(3): 481-490.
- PAULY, D. 1984. *Fish population dynamics in tropical waters: A manual for use with programmable calculators*. International Center for Living and Aquatic Resources Management, Studies and Reviews 8, Manila, Philippines.

- PENDREY, R. C.; LONERAGAN, N.R. ; KENYON, R A.; VANCE, D J. 1999. Simple morphometric characters, confirmed by gel electrophoresis, separate small juvenile banana prawns (*Penaeus indicus* and *P. merguensis*). *Marine and Freshwater Research*, 50:677–680.
- PEREZ, J.A.A.; PEZZUTO, P.R.; RODRIGUES, L.F.; VALENTINI, H.; VOOREN, C.M. 2001. Relatório da reunião técnica de ordenamento da pesca de arrasto nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. *Notas Técnicas da Facimar*, 5: 1-34.
- PÉREZ-CASTAÑEDA, R.; DEFEO, O. 2002. Morphometric Relationships of Penaeid Shrimps in a Coastal Lagoon: Spatio-temporal variability and Management Implications. *Estuaries*, 25(2): 282-287.
- PÉREZ-FARFANTE, I. 1967. A new species and two new subspecies of shrimp of the genus *Penaeus* from the Western Atlantic. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 80:83-100.
- PÉREZ-FARFANTE, I. 1969. Western Atlantic shrimps of the genus *Penaeus*. US Fish and Wildlife Service, *Fishery Bulletin*, 67:461-591.
- PÉREZ-FARFANTE, I. 1970. Diagnostic characters of juveniles of the shrimps *Penaeus aztecus aztecus*, *P. duorarum duorarum*, and *P. brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Special Scientific Reports: Fisheries*. 599: 1-26.
- PÉREZ-FARFANTE, I. 1971. Características diagnósticas de los juveniles de *Penaeus aztecus subtilis*, *P. duorarum notialis* y *P. brasiliensis* (Crustacea Decapoda Penaeidae). *Memorias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle*, 30:159–182.
- PÉREZ-FARFANTE, I. 1998. Illustrated key to Penaeoid shrimps of commerce in the Americas. *NOAA Technical Report NMFS*, 64: 1-32.
- PÉREZ-FARFANTE, I.; KENSLEY, B. 1997. Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the World. Keys and diagnoses for the families and genera. *Mémoires Museum National d’Histoire Naturelle*, 195: 1-233.

- PINHEIRO, P.A. 2008. *Caracterização genética e biométrica das populações de camarão rosa Farfantepenaeus brasiliensis de três localidades da costa do Rio Grande do Norte*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 77p.
- POWELL, M.L.; WATTS, S.A.; STUCK, C.K. 1997. Differentiation of postlarvae of *Penaeus aztecus* and *Penaeus duorarum* from the Gulf of Mexico using Iso-Electric focusing. *Gulf of Mexico Science*, 15: 40-45.
- QUAN, J.; LÜ, X.; ZHUANG, Z.; DAI, J.; DENG, J.; ZHANG, Y. 2001. Low genetic variation of *Penaeus chinensis* as revealed by mitochondrial COI and 16S rRNA gene sequences. *Biochemical Genetics*, 39(7/8): 279–284.
- RHODES, K.L.; LEWIS, R.I.; CHAPMAN, R.W.; SADOVY, Y. 2003. Genetic structure of camouflage grouper, *Epinephelus polyphekadion* (Pisces: Serranidae), in the western central Pacific. *Marine Biology*, 142(4): 771-776.
- ROBAINAS, A.; MONNEROT, M.; SOLIGNAC, M.; DENNEBOUY, N.; ESPINOSA, G.; GARCÍA-MACHADO, E. 2002. Microsatellite loci from the pink shrimp *Farfantepenaeus notialis* (Crustacea, Decapoda). *Molecular Ecology Notes*, 2: 344-345.
- ROHLF, F. J. 1990. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21:299-316.
- ROHLF, F.J. 1993. Relative warp analysis and an example of its application to mosquito wings. In: Marcus, L.F., E. Bello & A. García-Valdecasas (eds), Contributions to morphometrics. *Museo Nacional de Ciencias Naturales*, Madrid: 131- 159.
- ROHLF, F.J. 2008. *Tpsdig*, version 2.12. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponível em <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>, Acesso em 01/12/2013.

- ROHLF, F.J. 2009. *TpsRelw, relative warps analysis*, version 1.46. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponível em <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>, Acesso em 01/12/2013.
- ROHLF, F.J.; SLICE, D. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal 2D superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39: 40-59.
- ROZAS, J.; ROZAS, R. 1999. DnaSP version 3.0: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics*, 15(2): 174-175.
- SCHEIBLING, R.E. 1995. The role of predation in regulating sea urchin populations in eastern Canada. *Oceanologica Acta*, 19(3-4): 421-430.
- SIMÕES, S.M.; COSTA, R.C.; FRANSOZO, A.; CASTILHO, A.L. 2010. Diel variation in abundance and size of the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Crustacea, Penaeoidea) in the Ubatuba region, Southeastern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 82(2): 369-378.
- STAMATAKIS, A. 2006. RAXML-VI-HPC: Maximum Likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22(21): 2688-2690.
- STAMATAKIS, A.; HOOVER, P.; ROUGEMONT, J. 2008. A fast bootstrapping algorithm for the RAXML web-servers. *Systematic Biology*, 57(5): 758-771.
- SUDEPE/PDP. 1988. *Relatório da Reunião do Grupo Permanente de Estudos, GPE, de camarões Sudeste/Sul*. Realizada no período de 31 de Agosto a 4 de Setembro de 1987 em Itajaí/SC. Unpublished Report, 78pp.
- SWAIN, D.P.; FOOTE, C.J. 1999. Stocks and chameleons: the use of phenotypic variation in stock identification. *Fisheries Research*, 43: 113-128.

- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 2731-2739.
- TEROSSI, M.; MANTELATTO, F.L. 2012. Morphological and genetic variability in *Hippolyte obliquimanus* Dana, 1852 (Decapoda: Caridea: Hippolytidae) from Brazil and the Caribbean Sea. *Crustaceana*, 85(6): 685-712.
- THOMPSON, J.D.; HIGGING, D.G.; GIBSON, T.J. 1994. CLUSTALW: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.
- TZENG, T.-D. 2004. Stock identification of sword prawn *Parapenaeopsis hardwickii* in the East China Sea and Taiwan Strait inferred by morphometric variation. *Fisheries Science*, 70: 758–764.
- VALENTINI, H.; D'INCAO, F.; RODRIGUES, L.F.; REBELO-NETO, J.E.; RAHN, E. 1991. Análise da pesca do camarão-rosa (*Penaeus paulensis* e *Penaeus brasiliensis*) nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. *Atlântica*, 13(1): 143-157.
- VASEP. 2012. Vietnam association of Seafood Exporters and Producers. Disponível em <<http://vietfish.org/2011011710524487p49c82/estimated-world-production-of-farmed-shrimp-2007-to-2012.htm>>, Acesso em: 13/01/2014.
- VERGAMINI, F.G.; PILEGGI, L.G.; MANTELATTO, F.L. 2011. Genetic variability of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). *Contributions to Zoology*, 80(1): 67-83.
- WAPLES, R.S.; PUNT, A.E.; COPE, J.M. 2008. Integrating genetic data into management of marine resources: how can we do it better? *Fish and Fisheries*, 9: 423-449.

WILLIAMS, A.B. 1984. *Shrimps, lobsters and crabs of the Atlantic coast of the eastern United States, Maine to Florida*. Washington (DC), Smithsonian Institution press, XVIII. 550 pp.

ZELDITCH, M.; SWIDERSKI, D.; SHEETS, D.H.; FINK, W. 2004. *Geometric Morphometrics for Biologists: A primer*. Elsevier Academic Press, New York, 443 p.

Apêndice I – Espécimes (adultos e juvenis) de *F. brasiliensis* e *F. paulensis* utilizados nas análises genéticas para o gene Citocromo Oxidase I (COI). CCDB: Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia (FFCLRP/USP).

Espécie	Localidade	Coleção	# GenBank
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989360
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989361
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989362
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989363
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989364
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989365
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989366
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989367
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989368
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989369
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989370
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989371
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989372
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989373
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989374
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989375
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989376
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Ubatuba	CCDB 4477	KF989377
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989378
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989379
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989380
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989381
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989382
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989383
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989384
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989385
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989386
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989387
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989388
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989389
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989390
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989391
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989392
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989393
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989394
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989395

Apêndice I – Continua. Espécimes (adultos e juvenis) de *F. brasiliensis* e *F. paulensis* utilizados nas análises genéticas para o gene Citocromo Oxidase I (COI). CCDB: Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia (FFCLRP-USP).

Espécie	Localidade	Coleção	# GenBank
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989396
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989397
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989398
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989399
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989400
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989401
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989402
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989403
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989404
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989405
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989406
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989407
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989408
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989409
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989410
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989411
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989412
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989413
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Cananéia	CCDB 4478	KF989414
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4496	KF989415
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4496	KF989416
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4496	KF989417
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4496	KF989418
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4532	KF989419
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4532	KF989420
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4532	KF989421
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4532	KF989422
<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Santos	CCDB 4532	KF989423
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Ubatuba	CCDB 4484	KF989424
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Ubatuba	CCDB 4484	KF989425
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Ubatuba	CCDB 4484	KF989426
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Ubatuba	CCDB 4484	KF989427
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Ubatuba	CCDB 4484	KF989428
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Ubatuba	CCDB 4484	KF989429
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Ubatuba	CCDB 4484	KF989430
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Ubatuba	CCDB 4484	KF989431

Apêndice I – Continua. Espécimes (adultos e juvenis) de *F. brasiliensis* e *F. paulensis* utilizados nas análises genéticas para o gene Citocromo Oxidase I (COI). CCDB: Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia (FFCLRP-USP).

Espécie	Localidade	Coleção	# GenBank
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989432
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989433
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989434
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989435
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989436
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989437
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989438
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989439
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989440
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989441
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989442
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989443
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989444
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989445
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989446
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989447
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Cananéia	CCDB 4483	KF989448
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989449
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989450
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989451
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989452
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989453
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989454
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989455
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989456
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Santos	CCDB 4482	KF989457
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Rio Grande do Sul	CCDB 4679	KF989458
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Rio Grande do Sul	CCDB 4679	KF989459
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Rio Grande do Sul	CCDB 4679	KF989460
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Rio Grande do Sul	CCDB 4679	KF989461