

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS**

TESE DE DOUTORADO

**“Caracterização genética e biométrica das
populações de camarão rosa *Farfantepenaeus
brasilensis* de três localidades da costa do Rio Grande
do Norte”**

ALLYSSON PONTES PINHEIRO

SÃO CARLOS, SP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
RECURSOS NATURAIS

“Caracterização genética e biométrica das populações de camarão rosa
Farfantepenaeus brasiliensis de três localidades da costa do Rio Grande do
Norte”

Doutorando: Allysson Pontes Pinheiro

Orientador: Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Junior

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais, área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

**- SÃO CARLOS, SP -
2008**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

P654cg

Pinheiro, Allysson Pontes.

Caracterização genética e biométrica das populações de camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* de três localidades da costa do Rio Grande do Norte / Allysson Pontes Pinheiro. -- São Carlos : UFSCar, 2008.
82 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.

1. Genética de populações. 2. Estrutura populacional. 3. *Farfantepenaeus brasiliensis*. 4. Microsatélites. 5. Morfometria. I. Título.

CDD: 575.15 (20^a)

Allysson Pontes Pinheiro

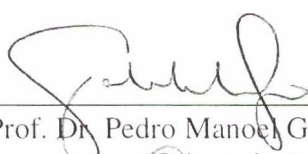
**Caracterização genética e biométrica das populações de camarão rosa
Farfantepenaeus brasiliensis de três localidades da costa do Rio Grande do Norte**

Tese apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada em 25 de julho de 2008

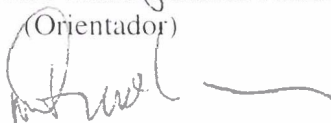
BANCA EXAMINADORA

Presidente




Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Júnior
(Orientador)

1º Examinador



Prof. Dr. Marcel Okamoto Tanaka
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



Prof. Dr. Orlando Moreira Filho
PPGGEV/UFSCar

3º Examinador



Prof. Dr. Antonio Leão Castilho
FFCL/União da Vitória-PR

4º Examinador



Prof. Dr. Marcos Domingos Siqueira Tavares
Museu de Zoologia/USP/São Paulo-SP

Prof. Dra. Dalva Maria da Silva Matos
Coordenadora
PPGERN/UFSCar

*“Dedico esta tese a minha querida
Tamara, companheira inseparável, e
amor imensurável que me faz enfrentar
todas as dificuldades com coragem e
resignação...”*

Agradecimentos

A conclusão de uma tese de doutorado é um feito que, embora seja creditado a uma única pessoa, sempre é um ato que para ser realizado com certo grau de sucesso depende da participação de vários atores. Estes atores nem sempre recebem o reconhecimento devido. Nesta secção pretendo externar todo o meu agradecimento pela ajuda recebida, das mais variadas formas, e que foram fundamentais para que eu pudesse chegar a esse estágio do meu desenvolvimento profissional.

Desta forma, gostaria de agradecer ao meu orientador Pedro Manoel Galetti Jr. pela oportunidade concedida e a confiança depositada;

Ao meu co-orientador e amigo Jorge Eduardo Lins Oliveira, por ter topado mais essa empreitada com a confiança de sempre;

Ao CNPq pela bolsa concedida;

À toda a minha família que sempre me apoiou sendo fonte inesgotável de amor e exemplo de retidão;

À minha amada Tamara que trouxe para minha vida muito mais paz e amor, representando sempre um porto seguro nas horas difíceis e a melhor das companhias nos momentos de descontração;

À todos os meus amigos, tanto os que aqui conheci como àqueles que já me acompanham a mais tempo. Cada um de sua forma foi muito importante para a conclusão deste trabalho, alguns com palavras de carinho e estímulo, e outros ajudando diretamente na execução do trabalho;

À todos os meus colegas de laboratório que tornaram essa caminhada muito mais facilitada com toda a atenção, presteza e paciência para comigo, um marinheiro de primeira viagem no mundo molecular;

Aos meus amigos de república que com brincadeiras, cervejadas e muita amizade tornaram essa passagem por São Carlos muito mais prazerosa;

À todos os professores do Departamento de Genética e Evolução por todas as conversas, discussões e ensinamentos nunca negados.

Aos funcionários do Departamento de Genética e Evolução e da Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais por todo o apoio prestado.

À todos os “homens do mar”, pescadores e/ou caiçaras por toda a ajuda nas coletas dos camarões.

O medo de cometer injustiças imperdoáveis e não agradecer àqueles que foram, de alguma forma, importantes para a execução deste trabalho me fizeram evitar ao máximo citar nomes nestes agradecimentos.

Sumário

| | |
|-------------------------------------------------------------|----|
| Resumo | 1 |
| Abstract..... | 2 |
| Introdução | 4 |
| Biodiversidade..... | 4 |
| A determinação de estoques..... | 5 |
| A morfometria como ferramenta em estudos populacionais..... | 6 |
| Seqüências Microssatélites e estrutura genética | 8 |
| Os camarões peneídeos e sua pesca | 10 |
| <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> | 12 |
| Objetivos..... | 14 |
| Objetivo geral..... | 14 |
| Objetivos específicos | 14 |
| Material e Métodos | 15 |
| Obtenção dos espécimens | 15 |
| Obtenção dos dados biométricos..... | 15 |
| Obtenção dos tecidos..... | 18 |
| Extração de DNA | 18 |
| Isolamento de locos de microssatélite..... | 18 |
| Desenho dos <i>primers</i> | 19 |
| Validação dos <i>primers</i> | 19 |
| Análise dos dados..... | 22 |
| Resultados..... | 26 |
| Prospecção de locos microssatélites..... | 26 |
| Análises populacionais..... | 28 |
| Discussão | 43 |
| Prospecção de microssatélites | 43 |
| Análises morfométricas..... | 43 |
| Análises moleculares..... | 49 |
| Conclusões..... | 55 |
| Referências Bibliográficas | 55 |
| Anexos | 71 |

Resumo

A captura de camarões é uma das atividades pesqueiras de maior importância no mundo, principalmente pelo alto valor de comercialização alcançado por sua carne. Características biológicas dos peneídos fazem deste grupo de camarões candidatos a apresentarem algum grau de estruturação populacional, já que espécies como *Farfantepenaeus brasiliensis* apresentam certa dependência da presença de estuários para completarem seu ciclo de vida. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar como estão estruturadas as populações de *F. brasiliensis* na costa do Estado do Rio Grande do Norte por meio de análises morfométricas e moleculares. Para tanto, mensurações (Ct, Cc, Ca e peso) foram obtidas de cada exemplar analisado. Diferenças entre locais foram avaliadas por meio de técnicas univariadas (ANOVA) e multivariadas (Análise discriminante). Os programas FSTAT e GENEPOP foram utilizados para se obter os níveis de variabilidade genética das populações, bem como, as comparações moleculares entre populações. Para detecção de migrantes os métodos frequentista e bayesiano do *software* GENECLASS foram adotados. Os resultados das análises morfométricas apontam diferenças nas proporções dos sexos em cada localidade analisada, que podem ser relacionadas a diferenças nas taxas de crescimento entre sexos e/ou estratificação espacial diferencial. Diferenças morfométricas significativas entre os locais foram evidentes tanto por técnicas univariadas como multivariadas. Estas diferenças podem ser resultados da necessidade dos estuários para completar o ciclo de vida por esta espécie, bem como, em virtude das diferenças existentes entre os estuários presentes nas localidades analisadas. Fêmeas se mostraram mais diferenciadas entre locais que machos. Este resultado também pode ser reflexo de características biológicas da espécie, haja vista que o local de desova guarda grande relação com as fêmeas desta espécie que da inseminação a desova podem levar

de 10 a 20 dias. Os resultados moleculares mostraram níveis medianos de variabilidade genética nos locais analisadas, H_o variando entre 0,471 – 0,540, quando comparadas a outras espécies da mesma família. Os valores de F_{ST} obtidos não evidenciaram estruturação genética, no entanto, estes resultados podem ser tanto reflexo do baixo número de locos analisados, como da característica dos peneídeos de um predomínio de fêmeas nas amostras. O procedimento utilizado para a detecção de migrantes não evidenciou a existência destes entre as populações avaliadas, no entanto, foram identificados indivíduos que foram excluídos de todas as populações podendo pertencer a outras populações não amostradas. Desta forma, o conjunto de resultados obtidos, somados as características biológicas da espécie, e as características ambientais distintas entre locais, nos permitem inferir a existência de pelo menos dois estoques de *F. brasiliensis* na costa do Rio Grande do Norte.

Abstract

Shrimp catch is one of the main fishing activities in the world, mostly for the high value of commercialization reached by shrimp meat. Biological characteristics of penaeids make this group of shrimps aspirant to show different levels of population structure. Penaeid species like *Farfantepenaeus brasiliensis* are dependent of the estuary to complete its life cycle. Thus, the aim of this work was to evaluate if populations of *F. brasiliensis*, from the coast of Rio Grande do Norte, are structured by morphometrical and molecular analysis. Several measurements (Lt, Lc, La and weight) were recorded for each specimen. Divergence between places has been evaluated by univariate (ANOVA) and multivariate (Discriminant Analysis) techniques. FSTAT and GENEPOP were used to get the molecular levels of genetic variability in each population, as well as, comparisons between populations. The frequentist and bayesian methods were used to detect migrants in GENECLASS software. The results of the

morphometric analysis pointed out differences between sex-ratio in all analyzed localities. These results probably are related with differences in growth rate between sex and/or spatial stratification. Significant morphometric differences were obtained between populations by the univariate and multivariate methods. These differences could be consequence of the estuary necessity to complete the life cycle in *F. brasiliensis*. Likewise, local differences could contribute for these results. Females were more divergent among different areas than males. This result also could be a reflex of the biological characteristics of this species, due to the great relation between the spawning places and the females. The interval between insemination and spawning in shrimp females can be of 10 to 20 days. The molecular results showed medium levels of genetic variability in the analyzed localities. When compared with other species from the same family H_o varied between 0,471 and 0,540. The F_{ST} values did not showed genetic structure. However, these results could reflect the low number of analyzed *loci*, or the predominance of females in the samples, a characteristic inherent of the penaeids. The procedure used to detect migrants did not support the existence of migrants among evaluated populations; however some individuals had been excluded from all populations, probably belonging to other populations not sampled. In such a way, the set of results obtained, plus the biological characteristics of this species, and the distinct environmental characteristics among areas allow us to infer an existence of at least two *F. brasiliensis* stocks in Rio Grande do Norte coast.

Introdução

Biodiversidade

A diversidade biológica de uma área é convenientemente descrita em três níveis. A diversidade infra-específica (genética) é a variação dentro de uma população e entre populações de plantas ou animais. A estrutura genética de uma população é variável entre populações de uma espécie e dentro de sua distribuição geográfica. Dessa forma, a perda de uma população resulta na perda da diversidade genética para aquela espécie e, em uma redução do total da biodiversidade biológica para aquela região. Esta informação genética única não pode ser recuperada e este nível de biodiversidade é crítico para a espécie adaptar-se a mudanças e para continuar na direção mais vantajosa para a mesma. A diversidade de organismos pode ser entendida como número total e abundância de espécies de plantas e animais em uma área. O terceiro nível diz respeito à variedade de comunidades naturais ou ecossistemas, dentro de uma área. Estas comunidades podem ser representativas ou endêmicas de uma área (Féral 2002).

A diversidade genética não está apenas presente entre as populações, mas também dentro delas. Esta diversidade dentro das populações é a matéria-prima da evolução: populações com maior diversidade genética provavelmente possuem indivíduos capazes de suportar mudanças ambientais e passar adiante seus genes (Slatkin 1987). A manutenção da diversidade genética influencia o potencial ecológico e evolutivo de uma espécie. Além disso, a sua capacidade de resposta a novas condições ambientais e a distúrbios causados pelo homem depende da variação disponível (Slatkin 1987).

O conhecimento da diversidade genética e a estrutura das populações selvagens são muito importantes sob o ponto de vista biológico e evolutivo. A perda de variação genética de populações selvagens só pode ser recuperada por um lento processo de mutação e, portanto, a avaliação dos recursos genéticos é considerada um bom ponto de partida para que estratégias de manejo adequadas sejam empregadas tanto em recursos pesqueiros como na aquicultura (Zitari-Chatti et al. 2008).

A determinação de estoques

A identificação de estoques é um campo multidisciplinar das ciências pesqueiras que envolve estudos genéticos, biométricos e de ciclo de vida (Pawson e Jennings 1996, Begg et al. 1999). Uma definição geral de estoque normalmente envolve um grupo de indivíduos que persistem ao longo do tempo (Booke 1981).

A quantificação das características de um indivíduo, ou um grupo de indivíduos, pode demonstrar o grau de especiação resultante do conjunto das condições bióticas e abióticas, e contribui para a definição dos diferentes estoques das espécies (Palma e Andrade 2002). Populações podem ser distinguidas por características fenotípicas ou genotípicas dos seus indivíduos e, espécies que são compostas por dois ou mais estoques distintos fenotípica ou genotipicamente são ditas estruturadas (Allendorf et al. 1987).

A identificação de populações é criticamente importante para espécies sobre exploração comercial já que, com essa informação, os gerenciadores da atividade podem monitorar e modelar seus programas de manejo para as características de um estoque individual e então assegurar uma melhor sustentabilidade em longo prazo (Philipp et al. 1993). A identificação de grupos intra-específicos com diferentes histórias de vida é essencial para o entendimento da dinâmica populacional e para uma exploração sustentável (Winans e Nishioka 1987).

As espécies marinhas representam um desafio para o modelo de especiação alopátrica que tem sido amplamente aceito para organismos terrestres (ao menos para vertebrados). Este desafio reside no fato de que muitos organismos marinhos desenvolvem-se através de uma fase larval planctônica que pode, potencialmente, ser amplamente dispersa por correntes, hábeis a cruzar qualquer barreira discernível (Palumbi 1992). Estas são freqüentemente enfocadas como sendo populações amplamente distribuídas que não possuem uma forte estruturação genética. Contudo, um grande número de tipos de isolamento reprodutivo, como diferenças na época de desova, reconhecimento de parceiros, tolerância ambiental e compatibilidade de gametas, têm sido inferidos em eventos de especiação marinha (Palumbi 1994).

Recentemente trabalhos envolvendo diferentes grupos animais têm demonstrado que as espécies marinhas vivenciam graus diversos de isolamento podendo ser observados, com freqüência maior do que a imaginada, estruturação populacional, bem como, a existência de espécies crípticas (Ignacio et al. 2000, Weber e Levy 2000, Feldheim et al. 2001, Cadrin e Silva 2005, Gusmão et al. 2006, Santos et al. 2006, Tsoi et al. 2007, Zitari-Chatti et al. 2008).

A morfometria como ferramenta em estudos populacionais

A variação morfométrica pode ser utilizada para se discriminar “estoques fenotípicos”, os quais podem ser definidos como grupos com crescimento, mortalidade e taxas reprodutivas semelhantes (Cadrin 2000). Esta variação comumente é resultado de diferenças nas taxas de desenvolvimento. Apesar da dependência do ambiente, taxas ontogenéticas influenciam muitos atributos populacionais que estão intimamente relacionados com a dinâmica populacional, e, determinam como cada estoque responde a exploração. Dessa forma, grupos com crescimento ou dinâmicas reprodutivas

diferentes devem ser modelados e manejados separadamente com o propósito de exploração sustentável dos estoques pesqueiros (Cadrin e Silva 2005).

Apesar dos padrões de variação morfométrica serem passíveis de análise por meio de alometria bivariável, a forma do corpo é multidimensional, a variação geográfica é um fenômeno multivariado, e análises simultâneas de grupos de caracteres representativos têm mais possibilidades de detectar diferenças entre grupos (Cadrin 2000). Análises multivariadas de caracteres morfométricos constituem-se em robustas técnicas para se verificar a variação geográfica dos estoques, haja vista que podem prover informações complementares àquelas informações derivadas de estudos bioquímicos, fisiológicos e de ciclo de vida. Estas análises têm proporcionado resultados interessantes a respeito da estrutura de diferentes espécies marinhas (Schaefer 1989). No entanto, a relação entre as partes do corpo são espécie específicos e com detalhadas análises estatísticas podem ser utilizadas em estudos taxonômicos (Mariappan e Balassundaram 2004).

Técnicas morfométricas têm sido empregadas para a detecção de estoques de diferentes grupos animais com sucesso em todo o mundo por diversos autores. Em linguados *Limanda ferruginea* foram evidenciadas diferenças na costa nordeste dos Estados Unidos por meio de técnicas multivariadas de caracteres morfológicos (Cadrin e Silva 2005); técnicas semelhantes também possibilitaram a diferenciação de morfótipos de duas espécies de *Munida* (*Munida subrugosa* e *M. gregária*) do Estreito de Beagle (Tapella e Lovrich 2006); a análise discriminante de caracteres morfológicos possibilitou a identificação de pelo menos dois estoques de *Lutjanus purpureus* habitando a plataforma continental da região norte do Brasil, sendo esses resultados concordantes com estudos prévios de reprodução, crescimento e hábito alimentar da espécie na região (Salles et al. 2006); também por meio de uma análise discriminante

foi possível a diferenciação entre populações *Artemia franciscana* do Caribe Colombiano e da América do Norte, sendo encontradas diferenças nos níveis de diferenciação entre sexos (Camargo et al. 2003); o uso de técnicas da alometria bivariável permitiu a diferenciação de duas espécies de camarões fantasma (Callianassidae) *Nihonotrypaea japonica* e *N. harmandi*, que diferiram, principalmente em relação ao tamanho de suas córneas (Wardiatno e Tamaki 2001).

Seqüências Microssatélites e estrutura genética

Por marcador molecular define-se todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA. A seqüência de nucleotídeos e a função de um marcador molecular podem ou não ser conhecidas e, em geral, são desconhecidas. Ao verificar o seu comportamento de acordo com as leis básicas de Mendel, um marcador molecular é adicionalmente definido como marcador genético. Portanto, é importante enfatizar de que o simples fato do marcador ser DNA, não implica em que se constitua em um marcador genético, como freqüentemente se supõe (Ferreira e Grattapaglia 1998).

Seqüências simples repetidas (SSR – simple sequence repeats) mais tarde denominadas também de microssatélites (Litt e Luty 1989), consistem de pequenas seqüências contendo de um a seis nucleotídeos de comprimento, repetidas em tandem. Estes são marcadores genéticos altamente variáveis que são transmitidos predominantemente por herança mendeliana e, portanto, tem sido escolhidos para estudos de genética populacional na maioria dos taxa de organismos superiores (Luan et al. 2006, Freitas et al. 2007). Tais características, associadas ao grande avanço na área das análises estatísticas específicas para este tipo de marcador, fazem dos microssatélites uma ferramenta imprescindível para estudos de genética populacional (Cornuet e Luikart 1996, Wilson e Balding 1998, Pritchard et al. 2000, Francisco 2005). Além

disso, a análise com locos microssatélites pode revelar estruturação populacional em microescala, não explicitada por outros marcadores (Bentzen et al. 1996, Wirth e Bernatchez 2001, Luvesuto 2006).

Os SSR são muito freqüentes e distribuídos ao acaso, permitindo a mais completa cobertura de qualquer genoma eucarioto. A observação, pelo menos em genomas animais, de que ocorre a conservação de sítios de microssatélites entre espécies relacionadas, torna possível, em alguns casos, a transferência de marcadores entre espécies ou mesmo gêneros usando *primers* heterólogos (Moore et al. 1991, Menotti-Raymond e Obrien 1995, Pepin et al. 1995, Freitas et al. 2006, Francisco et al. 2008).

Em camarões peneídeos a validação de seqüências microssatélites não tem sido uma tarefa fácil. O genoma destes animais parece conter seqüências microssatélites muito longas o que dificulta sobremaneira a clonagem e seqüenciamento dos microssatélites com ambas as regiões flangeadoras. Alguns estudos demonstraram que microssatélites encontrados em peneídeos são, aproximadamente, duas vezes o tamanho das seqüências encontradas em outros grupos animais, sendo em alguns casos de quatro a cinco vezes maiores (Estoup et al. 1993, Brooker et al. 1994, Tassanakajon et al. 1998, Cruz et al. 2002, Freitas et al. 2007).

O número de seqüências microssatélites descritas para camarões peneídeos, bem como, seu uso nos mais diversos tipos de estudo tem sido cada vez mais freqüentes. Atualmente, mais de 300 microssatélites validados e polimórficos encontram-se disponíveis para pelo menos 12 espécies destes camarões (Freitas et al. 2007). No entanto, não nos consta existir seqüências microssatélites específicas para *Farfantepenaeus brasiliensis*, até o presente momento.

Os camarões peneídeos e sua pesca

A designação “camarão” é comumente empregada para o reconhecimento de três grupos principais: Caridea e Stenopodidea, incluídos na Subordem Pleocyemata, e Penaeoidea pertencente à Subordem Dendrobranchiata (Fransozo et al. 2002). No entanto, as espécies alvo da atividade pesqueira comercial encontram-se agrupadas na Superfamília Penaeoidea (Stoner 1988, Sánchez e Soto 1993, Nakagaki et al. 1995, Branco e Verani 1998, Santos e Freitas 2000, Pérez-Castañeda e Defeo 2001). A captura de camarões é uma das atividades pesqueiras de maior importância no mundo (Somers et al. 1987, Chiou et al. 2000), principalmente pelo alto valor de comercialização alcançado por sua carne.

Para todos os membros conhecidos desta Superfamília, a seqüência de desenvolvimento é similar, apresentando larvas planctônicas com vários estágios (nauplius, protozoa, mysis e poslarva), seguidas por estágio juvenil e adulto. As grandes diferenças estão nos habitats preferidos por larvas, juvenis e adultos, que podem ser predominantemente estuarinos, costeiros e oceânicos, e ainda demersais ou pelágicos. Outra diferença é se os ovos são demersais ou pelágicos: ovos pequenos tendem a ser demersais, enquanto os grandes, com maior espaço perivitelínico, tendem a permanecer suspensos na coluna de água. Desta forma, parecem existir quatro tipos de ciclos de vida para os camarões Penaeoidea (Dall et al. 1990), sendo estes:

Tipo I – Ciclo inteiramente estuarino, no qual à medida que vão crescendo, os jovens deslocam-se, progressivamente, as águas de maior salinidade. Neste caso, todas as espécies deste tipo necessitam ser extremamente eurihalinas e podem viver em águas de salinidade próxima a zero.

Tipo II – Ciclo que é completado da região oceânica para a estuarina. A postura ocorre longe da costa, os estágios planctônicos migram para próximo da costa no final

do desenvolvimento larva e as pós-larvas se estabelecem em seu berçário estuarino bentônico preferido.

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

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

Os Penaeoidea representam a maioria das capturas mundiais de camarões com aproximadamente 700 mil toneladas por ano, e compõem 500 espécies descritas no mundo, sendo 95 no oceano Atlântico Ocidental e 61 na costa brasileira (D'Incao 1999, Costa et al. 2000, Castilho 2008)

Mundialmente ocorreu um rápido aumento na produção de camarão como resultado do exagerado incremento do esforço de pesca quer seja pelo maior número de barcos engajados nestas pescarias, quer seja pelo aumento do poder de pesca das embarcações. Desta maneira, a maioria dos estoques de peneídeos enfrenta taxas de exploração muito intensas ou encontram-se sobreexplotados (Isaac et al. 1992). O impacto da pesca de camarões tem sido comparado aos ecossistemas continentais temperados mais intensamente explorados do mundo causando, desse modo, perdas significantes em biomassa reprodutiva e biodiversidade (Pauly et al. 2002).

De acordo com D'Incao et al. (2002), a partir da avaliação da pesca de camarões nas regiões sudeste e sul do Brasil entre 1965 e 1999, existe uma absoluta necessidade do aprimoramento do controle estatístico da atividade e, em termos de sustentabilidade do estoque, do estabelecimento de um período específico de defeso, associado a outras medidas de ordenamento da pescaria. Segundo Pinheiro (2004), políticas de proteção e

uso sustentável dos estoques de camarão marinho devem ser tomadas ao nível regional para que uma maior adequação e conseqüente sustentabilidade sejam obtidas.

Diversos estudos têm avaliado os níveis de diferenciação entre as populações de camarões peneídeos (Lester 1979, Aubert e Lightner 2000, Supungul et al. 2000, Espinosa et al. 2001, Ball e Chapman 2003, McMillen-Jackson e Bert 2003, Borrell et al. 2004, Valles-Jimenez et al. 2005). No entanto, no Brasil ainda são poucos os estudos preocupados em entender como estão estruturadas as populações de camarão (Maggioni et al. 2003, Gusmão et al. 2005, Voloch e Solé-Cava 2005, Luvesuto 2006, Silva 2007).

Farfantepenaeus brasiliensis

O camarão rosa, *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817), é uma espécie amplamente distribuída ao longo do Atlântico Ocidental sendo encontrada desde o Cabo Hatteras, Carolina do Norte (USA) até a Lagoa dos Patos, Rio Grande Sul (Brasil) (Fransozo et al. 2002) (Figura 01).

A espécie caracteriza-se por um ciclo de vida classificado por Dall et al (1990) como sendo tipo II, no qual os adultos reproduzem-se em regiões ao largo da costa; as larvas são levadas pelas correntes para o interior dos estuários, onde se estabelecem e os indivíduos se desenvolvem até certa etapa da fase juvenil. A partir daí os juvenis migram para as regiões costeiras e permanecem até fazerem parte do estoque reprodutor e assim completarem o ciclo de vida (Dall et al. 1990).

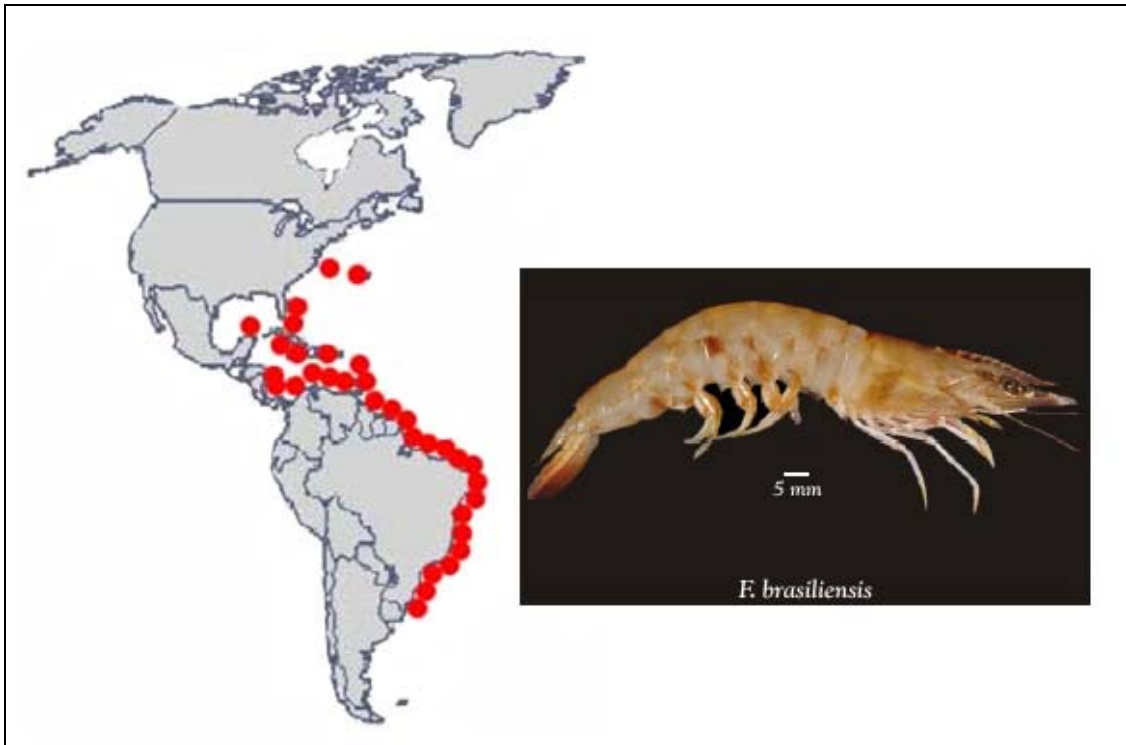


Figura 01- Distribuição geográfica do camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (modificado de D'Incao (1995) e exemplar da espécie obtido de Costa et al. (2003)).

Na costa brasileira *Farfantepenaeus brasiliensis*, juntamente com outras três espécies de peneídeos, é um dos principais alvos da indústria camaroneira, sendo pescado em toda a extensão de sua distribuição (Costa et al. 2004). Como resultado desta grande pressão de pesca tanto *F. brasiliensis* como as outras espécies de camarão de interesse comercial que ocorrem na costa brasileira encontram-se classificadas pelo órgão governamental responsável pelo setor pesqueiro nacional como sobreexploradas (Ministério do Meio Ambiente 2004)

Objetivos

Devido a esta espécie apresentar certa dependência de regiões estuarinas para completar seu ciclo de vida é possível que os indivíduos estejam estruturados em populações que possuam uma íntima relação com áreas estuarinas específicas. Desta forma este estudo visa responder as seguintes questões:

Como estão estruturadas as populações de camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* da costa do Estado do Rio Grande do Norte?

Esta estruturação poderia ser evidenciada por análises de caracteres morfológicos? e por meio de marcadores moleculares?

Objetivo geral

Nesse contexto, este trabalho visa avaliar como estão estruturadas as populações do camarão *Farfantepenaeus brasiliensis* a partir de amostras obtidas em três localidades da costa do Rio Grande do Norte (Brasil) para, dessa forma, disponibilizar informações que possibilitem um manejo mais racional deste recurso.

Objetivos específicos

- Isolar e caracterizar locos de microssatélites para a espécie em estudo;
- Avaliar a estrutura populacional dos camarões amostrados por meio de análises morfométricas;
- Avaliar a estrutura populacional dos camarões amostrados por meio da técnica de microssatélites.

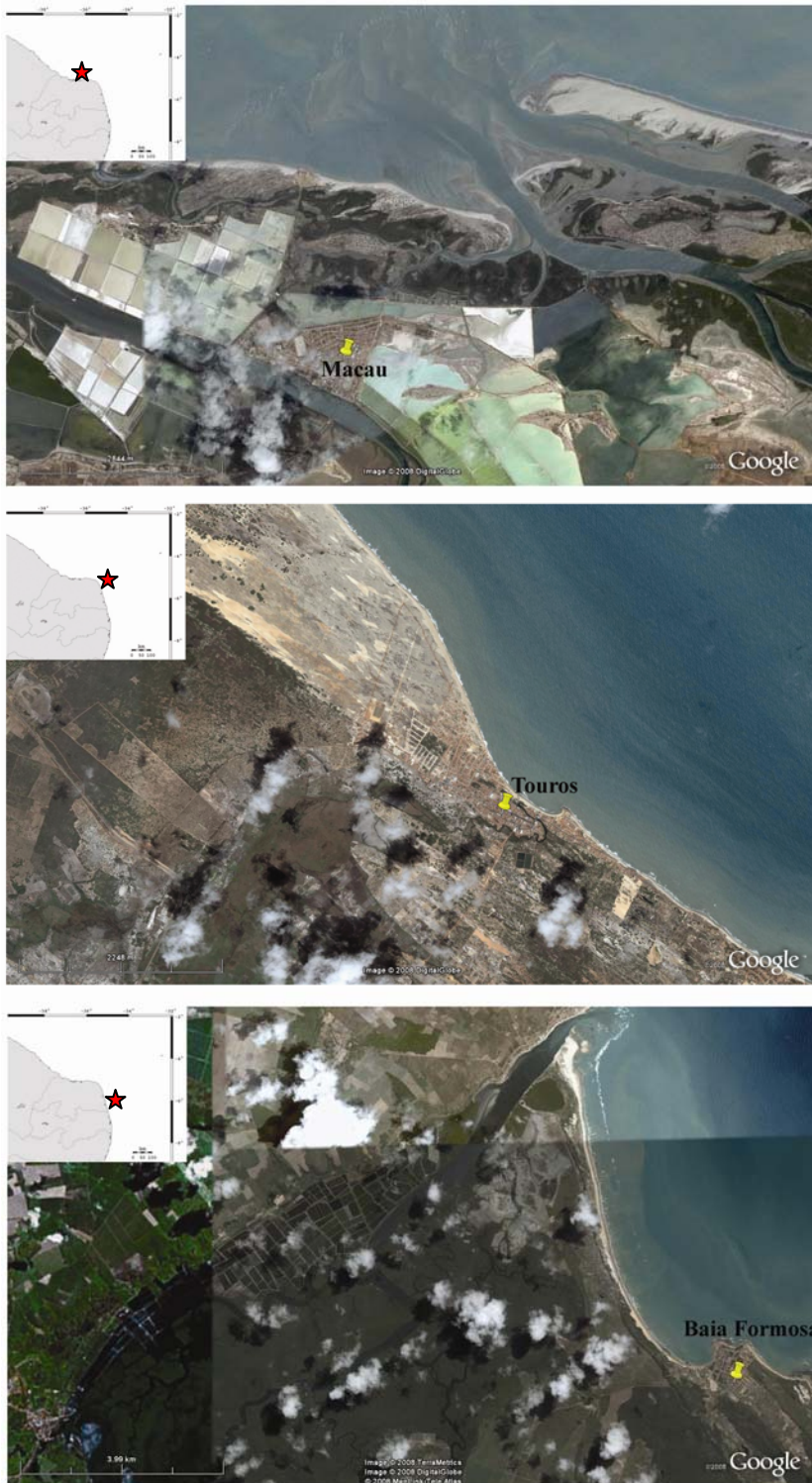
Material e Métodos

Obtenção dos espécimens

Os espécimens de *Farfantepenaeus brasiliensis* utilizados no presente estudo foram provenientes de coletas realizadas em junho de 2004 em três localidades do Estado do Rio Grande do Norte (Brasil) (Diogo Lopes 5°11'56" S e 35°25'2" O; Touros 5°11'56" S e 35°25'2" O; Baía Formosa 6°22'10" S e 35°00'28" O) (Figura 02). Os camarões foram obtidos junto aos pescadores locais. Nas localidades Diogo Lopes (distrito de Macau) e Touros a arte de pesca utilizada foi rede de arrastão de praia (Figura 03), sendo amostrados 32 e 51 indivíduos, respectivamente. Enquanto que em Baía Formosa a arte utilizada foi rede de porta (Figura 04) sendo amostrados 54 indivíduos. A menor e a maior distância entre as localidades são de 120 e 260 km, respectivamente.

Obtenção dos dados biométricos

Após a coleta os camarões foram identificados, sexados e mensurados quanto ao seu comprimento total (Ct) (extremidade posterior da cavidade orbital até a extremidade posterior do télson), comprimento do cefalotórax (Cc) (extremidade posterior da cavidade orbital até a extremidade posterior do cefalotórax), comprimento abdominal (Ca) (extremidade anterior da primeira pleura abdominal a extremidade posterior do télson) e peso (peso individual úmido) (Figura 05).



| |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Distância linear aproximada entre localidades</p> <p>Baía Formosa – Touros = 140 Km</p> <p>Diogo Lopes – Touros = 120 Km</p> <p>Baía Formosa – Diogo Lopes = 260 Km</p> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Figura 02 – Locais de coleta de *Farfantepenaeus brasiliensis* na costa do estado do Rio Grande do Norte.



Figura 03 – Imagem ilustrando a coleta realizada com rede de arrastão de praia.



Figura 04 – Imagem ilustrando a coleta de camarões com o uso de embarcação provida com rede de porta.

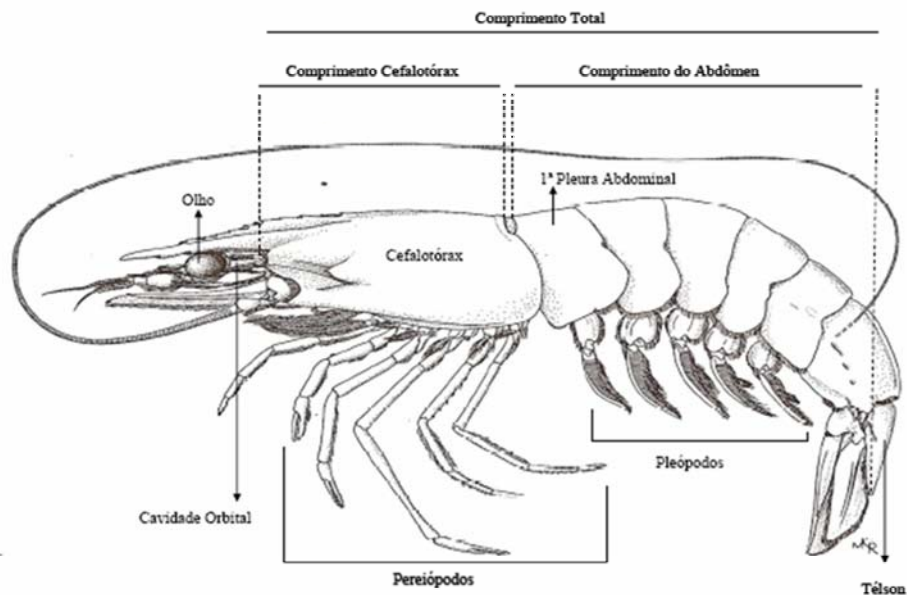


Figura 05 – Desenho esquemático de um camarão peneídeo em vista lateral ilustrando as medidas realizadas no presente estudo. (obtido de Luvesuto, 2006).

Obtenção dos tecidos

De cada espécimen coletado foram retirados e fixados em etanol P. A. de dois a quatro pares de pleópodos para os procedimentos moleculares.

Extração de DNA

Para a extração de DNA foi utilizada a metodologia de tampão salino (Aljanabi e Martinez 1997) e a sua quantificação realizada em gel de agarose 1% com o auxílio de *Low Mass Ladder* (Invitrogen).

Isolamento de locos de microsatélite

Para o isolamento de locos de microsatélite para a espécie em estudo foi utilizado o método baseado no enriquecimento com sondas biotiniladas e captura por meio de *beads* magnéticos (Hamilton et al. 1999), seguindo algumas modificações.

Após a digestão de uma amostra de DNA com as enzimas de restrição: *RsaI* e *BstUI* (GE Healthcare) os fragmentos de 200 a 800 pb foram eluídos do gel de agarose, purificados com Wizard SV Gel and Polymerase Chain Reaction (PCR) Clean-Up System kit (Promega) e ligados a adaptadores (Hamilton et al., 1999). Estes produtos foram enriquecidos utilizando-se cinco seqüências tetranucleotídeos repetidas quatro vezes e biotínicas, as quais foram hibridizadas ao DNA digerido e recuperadas utilizando-se beads magnéticos ricos em Streptavidina (Streptavidin Magnesphere Paramagnetic Particles, Promega). Os fragmentos recuperados foram clonados através do kit pGEM-T Easy (Promega), e os clones contendo insertos foram enviados para o Centro de Estudos do Genoma Humano da Universidade de São Paulo para serem seqüenciados em seqüenciador automático (MegaBace 1000).

Desenho dos *primers*

As seqüências obtidas foram submetidas ao programa CID (Freitas et al. 2008) que tem por finalidade extrair os vetores, encontrar as seqüências que contém microssatélites e desenhar os *primers* nas regiões flanqueadoras dos mesmos.

Validação dos *primers*

Determinação da temperatura ótima de anelamento

Inicialmente, para a verificação da temperatura ótima de anelamento as reações de PCR foram realizadas em um termociclador de gradiente Mastercycler (Eppendorf). As condições utilizadas na PCR foram uma desnaturação inicial a 95°C (5 minutos), 30 ciclos a 94°C (30 segundos), 48-60°C (45 segundos) e 72°C (45 segundos).

O protocolo desenvolvido por Schuelke (2000) foi utilizado em todas as reações com as finalidades de se reduzir os custos e de se economizar tempo. Este protocolo consiste em se adicionar na posição 5'-3', uma cauda universal de 18 bases (TGT AAA

ACG ACG GCC AGT) em um dos *primers* específico (*forward* ou *reverse*), dependo de uma análise prévia de *hairpin* realizada no site da *Integrated DNA Technologies* (www.idtdna.com). Complementar a essa cauda e marcada com fluorescência, é adicionada à reação um *primer* universal M13 (ACA TTT TGC TGC CGG TCA), incorporada ao produto de PCR nos ciclos subseqüentes da reação. A incorporação do *primer* M13 à cauda é que permite que o fragmento amplificado seja detectado pelo sistema de laser do seqüenciador automático.

Este método torna-se mais econômico porque permite que um único *primer* universal seja marcado com fluorescência. Existe também a possibilidade de análise simultânea de diferentes locos. Para tanto, basta solicitar a construção de *primers* universais M13 cada uma marcado com uma fluorescência específica (e.g. FAM, HEX, TET) (Figura 06).

Na mesma PCR realizada para a amplificação do fragmento de interesse, ciclos adicionais para que a cauda M13 fosse também amplificada se seguiram, sendo estes, 10 ciclos, à 94°C (30 segundos), 53°C (45 segundos), 72°C (45 segundos), com uma extensão final a 72°C por 10 minutos (Schuelke 2000).

Os produtos das reações foram verificados em eletroforese horizontal em gel de agarose 1% e visualizados em transluminador de luz ultravioleta. Quando necessário esses géis foram fotografados por sistema de captura de imagem e registrados pelo programa KODAK 1D 3.5 (Figura 07).

Padronização das reações

Definida a temperatura de anelamento ótima de cada par de *primer*, suas amplificações foram realizadas em termociclador PTC-100 (MJ-Research). Com a finalidade de se padronizar as PCRs foram testadas concentrações de DNA (5, 10, 25 e

50 ng/ μ l) e cloreto de magnésio (0,75 a 3 mM) nas temperaturas de anelamento ótimas determinadas anteriormente para cada par de *primer* (Figura 08).

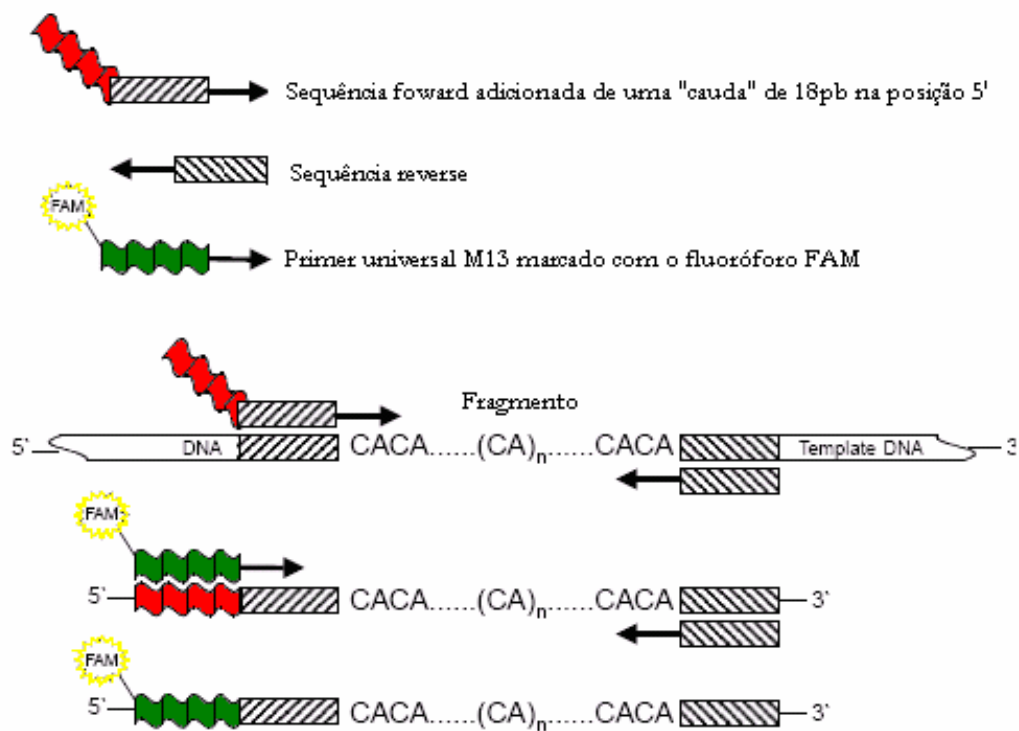


Figura 06 – Esquema ilustrando o funcionamento do protocolo desenvolvido por Schuelke (2000) para amplificação de um fragmento de interesse juntamente com a cauda M13 marcada com fluorescência. Modificado de Schuelke (2000).

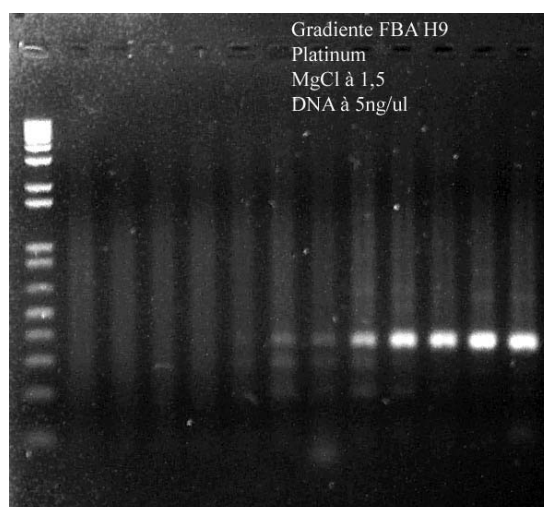


Figura 07 – Foto de um gel de agarose 1% ilustrando o resultado de uma PCR em termociclador de gradiente. Cada coluna representa uma temperatura testada. Ladder 1Kb plus.

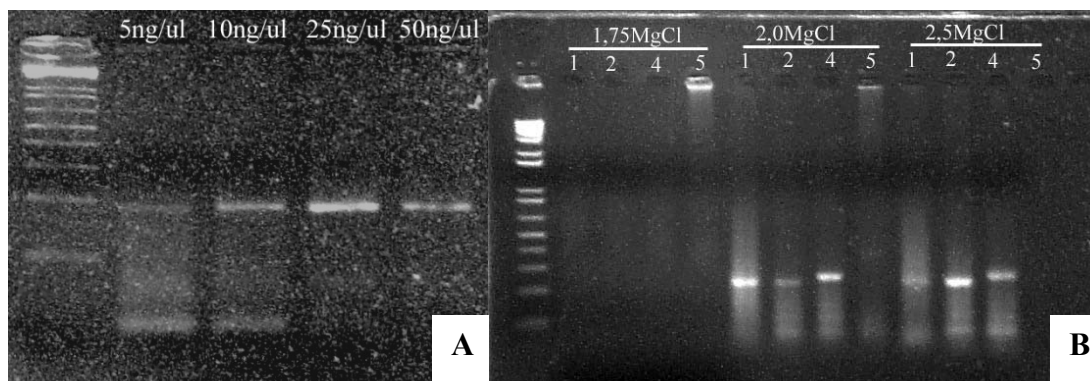


Figura 08 – Figura ilustrando as padronizações das PCRs. Fotos de géis de agarose 1%. Teste de concentrações de DNA (A) e de Cloreto de Magnésio (B). Ladder 1Kb plus.

Análise dos dados

Análises morfológicas

Para se avaliar a existência de diferenças nas medidas obtidas foi realizada uma ANOVA ONE-WAY testando locais para sexo grupados e separados. Foi assumida normalidade dos dados baseado no Teorema do Limite Central (Zar 1999). O teste de Levene foi realizado para se avaliar a homocedasticidade dos dados (Zar 1999). Para machos, a transformação dos dados pelo método de Burnaby (Burnaby 1966) foi necessária para se atingir homocedasticidade. Para fêmeas, também foi realizada a transformação dos dados pelo método de Burnaby, no entanto, a homocedasticidade não foi atingida em todas as variáveis.

Também foram realizadas análises discriminantes com a finalidade de se evidenciar diferenças entre os locais para sexos grupados e separados. No entanto, a maior parte da variabilidade em um conjunto de caracteres multivariados é relativa ao tamanho (Junquera e Perez-Gandaras 1993). Dessa forma, as análises da forma dos

indivíduos devem ser realizadas livres do efeito do tamanho a fim de prevenir erros de interpretação dos resultados (Strauss 1985). A morfometria tradicional faz uso de diferentes procedimentos para tentar isolar a forma da variação do tamanho (e.g.: razões, regressões, métodos alométricos, análises de componentes) (Parsons et al. 2003, Tzeng 2004). Dentre os diversos métodos utilizados para se remover a efeito do tamanho o método descrito por Burnaby (Burnaby 1966) tem provado ser bastante eficaz na remoção da influência do tamanho em variáveis merísticas (Duarte et al. 1998, Cadrin 2000, Parsons et al. 2003, Chang e Hsu 2004, Turan et al. 2006).

O método de Burnaby (Burnaby 1966) foi utilizado para remover a influência do tamanho nos resultados. Os resultados das análises das funções discriminantes foram usados para assinalar os indivíduos dentro das amostras. O sucesso na taxa de classificação foi obtido através da percentagem de indivíduos assinalados pertencendo à amostra original. A importância relativa dos caracteres merísticos na discriminação das populações foi obtida por meio da estatística F -to-enter = 1,00. A colinearidade entre as amostras utilizadas na função discriminante foi avaliada por meio da estatística de tolerância que pode variar de zero a um, sendo pequenos valores indicativos de que a variável é altamente correlata com uma ou mais das outras variáveis. A tolerância utilizada no presente estudo foi $T = 0,010$ (Wilkinson et al. 1996). Para esta análise foram utilizadas as variáveis Ct, Cc e Ca.

Adicionalmente, foram realizadas análises de discriminantes canônicos para sexos grupados e separados com o intuito de se verificar se a variação observada pode ser atribuída aos locais de origem dos animais por meio de um teste de Qui-quadrado, bem como, representar graficamente as relações entre as variáveis canônicas criadas especialmente para cada local.

Todas as análises foram realizadas no programa Statistica 7.0 (StatSoft 2004) sendo considerado um nível de significância $\alpha = 0,05$.

Análises Moleculares

Para as análises moleculares cerca de 30 exemplares provenientes de cada uma das três localidades (BF, TO e DL) foram genotipados para o total de locos microssatélites polimórficos prospectados e validados no presente estudo.

Foram calculados o número de alelos e sua frequência, e as heterozigosidades observadas e esperadas no programa GENEPOP 3.4 (Raymond e Rousset 1995) com a finalidade de se avaliar a variabilidade genética dos camarões amostrados em cada uma das localidades. O equilíbrio de Hady-Weinberg (HW), avaliado por meio de um teste análogo ao exato de Fisher (Guo e Thompson 1992), sendo a significância de “p” calculada pelo método da cadeia de Markov-Monte Carlo, e a presença de desequilíbrio de ligação, também foram calculados no programa GENEPOP 3.4.

Para comparar os valores de heterozigosidades, números de alelos e riqueza alélica entre locais para sexos grupados e para fêmeas Análises de Variância (ANOVA) foram realizadas.

As estimativas de riqueza alélica (Petit et al. 1998), do coeficiente de endocruzamento (F_{IS}) (Weir e Cockerham 1984) e do índice de fixação (F_{ST}) foram calculadas no programa FSTAT. Tal programa se baseia no modelo de alelos infinitos (*Infinite Alleles Mutation*) para seus cálculos. Nesse modelo cada mutação sempre cria um novo alelo a uma determinada taxa de mutação μ e conseqüentemente não admite homoplasia. A significância dos valores encontrados foi avaliada por meio das randomizações implementadas no próprio programa. Para o calculo de F_{ST} não foi assumido o equilíbrio de HW.

Para se verificar a ocorrência de isolamento por distância foi observada a existência de correlação entre os valores de F_{ST} (distância genética) encontrados para cada par de locais e as distâncias geográficas entre estes. Para isto foi utilizado o teste de Mantel no programa GENEPOP.

Para se calcular a probabilidade de cada indivíduo pertencer aos seus locais de origem (coleta) foi adotado o método que assume a possibilidade de ancestralidade múltipla incorporada no programa GENECLASS. Tal método permite casos nos quais os indivíduos possuam ancestrais fora do local onde foram capturados. Os métodos frequentista (Paetkau et al. 1995) e bayesiano (Rannala e Mountain 1997) foram testados para se detectar quais indivíduos seriam migrantes. Adicionalmente, foi avaliada a probabilidade dos indivíduos serem excluídos das populações (locais) onde foram amostrados.

Em todas as análises múltiplas efetuadas foi considerada a correção seqüencial de Bonferroni (Rice 1989).

Resultados

Prospecção de locos microssatélites

Foram seqüenciados 96 clones que possivelmente continham seqüências microssatélites a partir da biblioteca enriquecida criada. Destes, 47 continham microssatélites e para 24 foi possível o desenho de *primers*. Foram construídos *primers* para dez seqüências, sendo que destes, somente cinco se mostraram polimórficos e com padrão de amplificação claro.

As seqüências dos *primers*, o número de acesso no GeneBank, a temperatura ótima de anelamento (T_a), a unidade repetitiva ou *motif*, o número de alelos, os tamanhos máximo e mínimo dos alelos, e as heterozigosidades observada e esperada encontrados estão descritos na Tabela I. Não foi observado desequilíbrio de ligação entre os locos.

Tabela I – Características dos 5 pares de *primers* desenvolvidos para *Farfantepenaeus brasiliensis*. Resultados obtidos a partir de 27 indivíduos provenientes da localidade de Baía Formosa.

| Numero de acesso | Locos | Primers | Motif | T _a (°C) | MgCl ₂ (mM) | # de alelos | Heterozigosidade esperada | Heterozigosidade observada |
|------------------|---------|----------------------------------------------------|------------------|---------------------|------------------------|-------------|---------------------------|----------------------------|
| EU559711 | Fbra 01 | F: ACGCACACAGAGCACATAC R: CTTGTCTTGAAACGTCCTA | (CA)10 | 57 | 2,5 | 178-198 | 0,849 | 0,654 |
| EU559712 | Fbra 02 | F: ACTTTGTAATACGGAGTGCG R: TACATATTGGGAAACGAAGG | (GTCT)5...(CT)6 | 55 | 1,5 | 208-244 | 0,794 | 0,693 |
| EU559713 | Fbra 03 | F: ACACACACGCACACACTTAT R: TAGCCTCTTTGTGGTTTGT | (AC)7 | 60 | 1,5 | 108-150 | 0,571 | 0,308* |
| EU559714 | Fbra 04 | F: CTTGTTTATGGTGGGATGAG R: CACAGACAGAGATTTATGCG | (TGTC)5...(TC)11 | 55 | 1,5 | 171-313 | 0,871 | 0,087* |
| EU559715 | Fbra 05 | F: TTCACATTACCCTTCTCTCG R: AAGAGAGGGGAGACAGAGAG | (TC)6...(CT)9 | 60 | 1,5 | 261-377 | 0,894 | 0,5* |

T_a Temperatura de anelamento;

*p < 0,05 desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Análises populacionais

Morfometria

Foi coletado um total de 137 camarões *Farfantepenaeus brasiliensis* ao longo do período de estudo. Os valores de média, mediana, máximo, mínimo, desvio padrão, erro padrão, bem como o número de indivíduos amostrados em cada local de coleta para as variáveis: comprimento total (Ct), comprimento do cefalotórax (Cc), comprimento do abdômem (Ca) e peso total úmido encontram-se listados na Tabela II.

Nesta tabela pôde-se notar que as fêmeas foram sempre maiores e em maior número que os machos em todas as localidades amostradas. Também foi possível observar que os animais provenientes de Touros (TO) se mostraram maiores sendo seguidos pelos animais de Baía Formosa (BF) e Diogo Lopes (DL). Adicionalmente, foi observado que a variável Cc foi aquela que apresentou os menores erros e desvio padrões (Tabela II).

Os resultados obtidos pela análise de variância para sexos grupados evidenciaram a existência de diferenças entre as variáveis Ct, Cc, Ca e Peso em todas as comparações ($p < 0,00$; $F = 25,548$). No entanto, quando separados os sexos, a análise de variância para machos não foi capaz de encontrar diferenças entre os locais para as variáveis analisadas ($p = 0,21$; $F = 1,4$), exceção feita à variável Ca que apresentou um valor marginal para “p”. Já para fêmeas foram encontradas diferenças significativas ($p = 0,00$; $F = 10,6$) entre pelo menos um par de locais para todas as variáveis analisadas, exceção feita à variável peso que não apresentou diferenças significativas entre nenhum dos locais analisados (Tabela III).

Tabela II – Tabela contendo o número de indivíduos (n) coletados em Baía Formosa (BF), Touros (TO) e Diogo Lopes (DL) para sexos grupados e separados, bem como os valores de média, mediana, mínimo, máximo, desvio padrão e erro padrão para as variáveis Comprimento total, Comprimento do cefalotórax, Comprimento do abdômen e Peso total úmido.

| Var. | Parâmetros | Machos | | | Fêmeas | | | Total | | |
|---------------------------|---------------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | BF | TO | DL | BF | TO | DL | BF | TO | DL |
| Comp. total (mm) | “n” | 20 | 9 | 11 | 34 | 42 | 21 | 54 | 51 | 32 |
| | Média | 92,9 | 95,0 | 81,2 | 108,7 | 118,0 | 81,3 | 102,8 | 114,4 | 81,2 |
| | Mediana | 92,8 | 94,5 | 84,8 | 113,8 | 119,0 | 80,0 | 99,8 | 115,9 | 80,2 |
| | Mínimo | 82,4 | 89,0 | 55,8 | 79,7 | 100,2 | 56,7 | 79,7 | 89,0 | 55,8 |
| | Máximo | 99,7 | 101,4 | 101,5 | 133,0 | 138,2 | 134,3 | 133,0 | 138,2 | 134,3 |
| | Desvio padrão | 4,0 | 4,9 | 15,0 | 13,8 | 9,3 | 19,2 | 13,5 | 12,5 | 17,6 |
| | Erro padrão | 0,9 | 1,6 | 4,5 | 2,4 | 1,4 | 4,2 | 1,8 | 1,8 | 3,1 |
| Comp. cefalotórax (mm) | Média | 24,2 | 24,5 | 20,5 | 29,2 | 31,9 | 21,2 | 27,4 | 30,6 | 21,0 |
| | Mediana | 24,1 | 24,4 | 22,2 | 30,6 | 32,0 | 20,7 | 26,6 | 30,6 | 20,9 |
| | Mínimo | 20,9 | 22,7 | 13,9 | 20,5 | 26,7 | 14,6 | 20,5 | 22,7 | 13,9 |
| | Máximo | 26,8 | 26,1 | 26,8 | 34,7 | 37,6 | 37,9 | 34,7 | 37,6 | 37,9 |
| | Desvio padrão | 1,5 | 1,2 | 4,3 | 4,0 | 2,7 | 5,7 | 4,1 | 3,8 | 5,2 |
| | Erro padrão | 0,3 | 0,4 | 1,3 | 0,7 | 0,4 | 1,2 | 0,6 | 0,5 | 0,9 |
| Comp. abdômen (mm) | Média | 66,7 | 69,4 | 58,7 | 75,4 | 85,0 | 58,5 | 72,2 | 82,2 | 58,6 |
| | Mediana | 65,9 | 69,1 | 62,5 | 77,6 | 85,0 | 57,6 | 71,0 | 83,5 | 57,6 |
| | Mínimo | 59,5 | 64,2 | 39,6 | 55,4 | 71,8 | 41,9 | 55,4 | 64,2 | 39,6 |
| | Máximo | 72,0 | 74,7 | 74,4 | 88,0 | 99,2 | 94,0 | 88,0 | 99,2 | 94,0 |
| | Desvio padrão | 3,3 | 3,4 | 10,9 | 9,0 | 6,1 | 13,1 | 8,5 | 8,2 | 12,2 |
| | Erro padrão | 0,7 | 1,1 | 3,3 | 1,5 | 0,9 | 2,9 | 1,2 | 1,2 | 2,2 |
| Peso (g) | Média | 10,1 | 10,5 | 7,0 | 17,5 | 23,1 | 8,2 | 14,8 | 20,8 | 7,8 |
| | Mediana | 10,1 | 10,7 | 7,7 | 18,7 | 22,5 | 6,6 | 12,7 | 21,2 | 6,7 |
| | Mínimo | 6,7 | 8,1 | 2,0 | 6,3 | 13,0 | 2,6 | 6,3 | 8,1 | 2,0 |
| | Máximo | 12,4 | 12,6 | 14,1 | 29,3 | 35,8 | 32,1 | 29,3 | 35,8 | 32,1 |
| | Desvio padrão | 1,4 | 1,5 | 4,0 | 6,1 | 5,5 | 7,2 | 6,1 | 7,0 | 6,2 |
| | Erro padrão | 0,3 | 0,5 | 1,2 | 1,0 | 0,9 | 1,6 | 0,8 | 1,0 | 1,1 |

Tabela III – Resultados da análise de variância (ANOVA ONE-WAY) entre as mensurações do comprimento total (Ct), cefalotórax (Cc), abdômen (Ca) e pesos dos camarões *Farfantepenaeus brasiliensis* provenientes das localidades de Baía Formosa (BF), Touros (TO) e Diogo Lopes (DL).

| Variável | Localidades | Valor de “p” | | |
|----------|-------------|--------------|--------|-------|
| | | Machos | Fêmeas | Total |
| Ct | BF x TO | 0,89 | 0,36 | 0,00* |
| | BF x DL | 0,51 | 0,02* | 0,00* |
| | TO x DL | 0,86 | 0,21 | 0,00* |
| Cc | BF x TO | 0,90 | 0,04* | 0,00* |
| | BF x DL | 0,98 | 0,16 | 0,00* |
| | TO x DL | 0,97 | 0,97 | 0,00* |
| Ca | BF x TO | 0,05 | 0,00* | 0,00* |
| | BF x DL | 0,31 | 0,18 | 0,00* |
| | TO x DL | 0,61 | 0,00* | 0,00* |
| Peso | BF x TO | 0,74 | 0,97 | 0,00* |
| | BF x DL | 0,66 | 0,22 | 0,00* |
| | TO x DL | 1,00 | 0,14 | 0,00* |

*p < 0,05

A análise discriminante realizada para sexos grupados permitiu a identificação de diferenças entre os camarões provenientes das localidades de estudo ($p < 0,00$; $F_{6,63} = 6,19$). Os camarões provenientes de Baía Formosa puderam ser significativamente diferenciados daqueles de Touros ($p < 0,00$; $F = 12,96$) e de Diogo Lopes ($p = 0,02$; $F = 3,30$). No entanto, os animais coletados em Touros não puderam ser diferenciados daqueles coletados em Diogo Lopes ($p = 0,12$; $F = 1,97$). As funções de classificação criadas pela análise encontram-se listadas na Tabela IV. Os resultados da classificação dos indivíduos por meio das funções criadas possibilitaram um percentual de acerto das

classificações de aproximadamente 78% em Baía Formosa e 85% em Touros (Tabela V).

Tabela IV – Funções de classificações obtidas a partir das análises discriminantes com sexos grupados para *Farfantepenaeus brasiliensis* amostrados em Baía Formosa (BF), Touros (TO), Diogo Lopes (DL).

| | BF | TO | DL |
|-----------|----------|----------|----------|
| Ct | 2948,06 | 2919,76 | 2929,25 |
| Cc | 817,25 | 805,52 | 808,14 |
| Ca | 2939,68 | 2993,27 | 2968,02 |
| Constante | -9289,13 | -9333,90 | -9296,73 |

Tabela V – Resultados das classificações feitas com bases nas funções criadas para sexos grupados para *Farfantepenaeus brasiliensis* amostrados em Baía Formosa (BF), Touros (TO) e Diogo Lopes (DL). Linhas representam classificações observadas e colunas classificações previstas.

| | % de acerto | BF | TO | DL | total |
|-------|-------------|----|----|----|-------|
| BF | 77,78 | 42 | 12 | 0 | 54 |
| TO | 84,31 | 8 | 43 | 0 | 51 |
| DL | 0,00 | 14 | 18 | 0 | 32 |
| total | 62,04 | 64 | 73 | 0 | 137 |

A análise de discriminantes canônicos para sexos grupados possibilitou a visualização gráfica das diferenças observadas entre os grupos (locais de coleta) por meio da relação entre o par de variáveis criadas a partir das mensurações realizadas. Nota-se que TO apresentou-se como o grupo mais coeso seguido por BF e DL. Embora

seja observada uma sobreposição considerável entre grupos o teste do Qui-quadrado realizado com intuito de determinar se a variação encontrada pode ser explicada pela variável local de coleta se mostrou significativo (Figura 09).

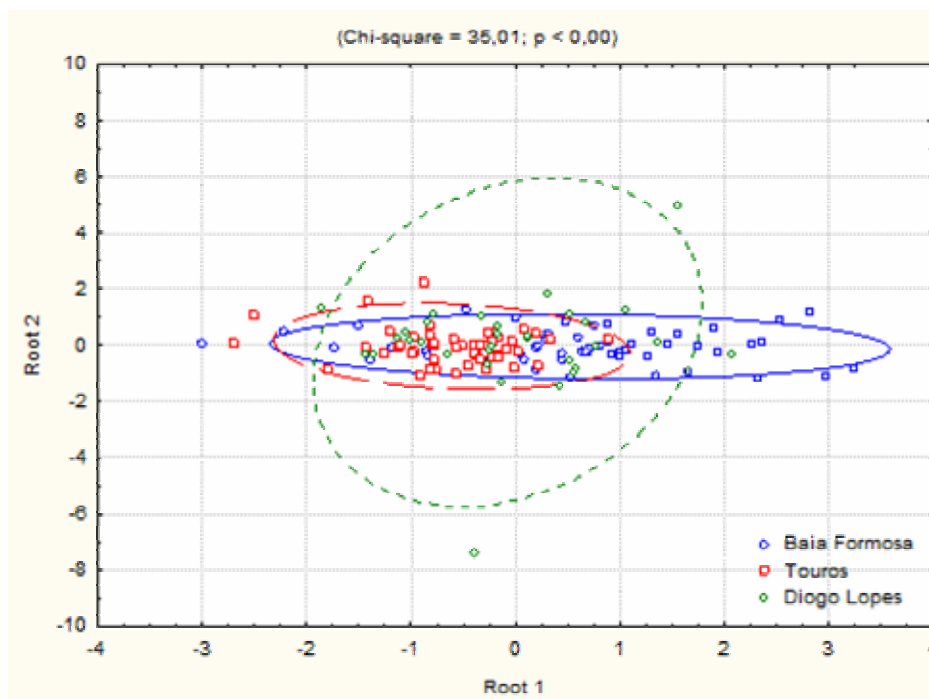


Figura 09 – Visualização gráfica da relação entre as duas variáveis criadas a partir da análise de discriminantes canônicas entre os locais de coleta de *Farfantepenaeus brasiliensis* para sexos grupados.

O resultado da análise discriminante para machos não evidenciou diferenças entre os grupos (locais de coleta) avaliados ($p = 0,21$; $F_{6,70} = 1,44$). As comparações entre Baía Formosa e Touros ($p = 0,07$; $F = 2,57$), Baía Formosa e Diogo Lopes ($p = 0,41$; $F = 0,98$) e, Touros e Diogo Lopes ($p = 0,54$; $F = 0,73$) não se mostraram significativas. As funções de classificação e os resultados da matriz de classificação refletiram a incapacidade da análise em detectar diferenças entre os locais de coleta, apresentando percentuais de acerto muito baixos. Por este motivo tanto as funções com o resultado das classificações não foram aqui apresentados.

A análise de discriminantes canônicas para machos mostra que embora o grupo TO, a exemplo do observado para sexos grupados, se apresente como o mais coeso, a variação observada nos dados não pode ser atribuída aos diferentes locais de coleta dos camarões (Figura 10).

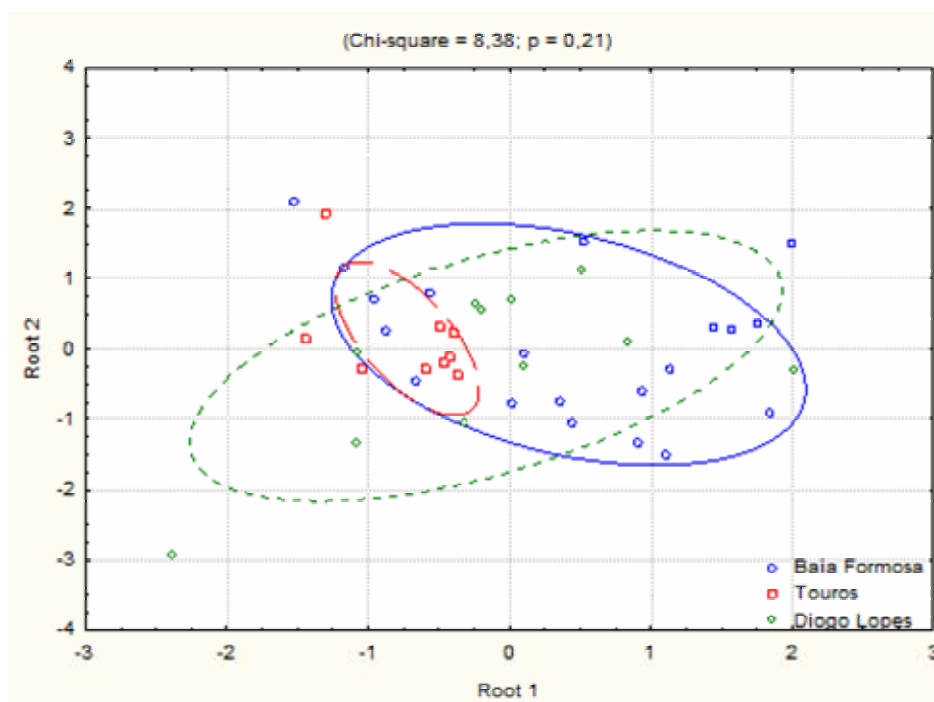


Figura 10 - Visualização gráfica da relação entre as duas variáveis criadas a partir da análise de discriminantes canônicas entre os locais de coleta de *Farfantepenaeus brasiliensis* para machos.

Para fêmeas, o resultado da análise discriminante aponta para existência de diferenças significativas entre os locais de coleta, a exemplo do observado para sexos grupados ($p < 0,00$; $F_{6,18} = 10,55$). Todas as comparações entre localidades: Baía Formosa x Touros ($p = 0,00$; $F = 21,37$), Baía Formosa x Diogo Lopes ($p = 0,00$; $F = 6,88$) e Touros e Diogo Lopes ($p = 0,01$; $F = 4,20$) apresentaram níveis de diferença significativos. As funções de classificação criadas pela análise encontram-se listadas na Tabela VI. Os resultados da classificação dos indivíduos por meio das funções criadas possibilitaram um percentual de acerto das classificações de aproximadamente 71% em Baía Formosa, 98% em Touros e 15% em Diogo Lopes (Tabela VII).

Tabela VI – Funções de classificações obtidas a partir das análises discriminantes com fêmeas para *Farfantepenaeus brasiliensis* amostrados em Baía Formosa (BF), Touros (TO), Diogo Lopes (DL).

| | BF | TO | DL |
|-----------|----------|----------|----------|
| Ct | 5103,0 | 5049,5 | 5046,1 |
| Cc | 1157,7 | 1139,7 | 1144,1 |
| Ca | 4586,4 | 4684,6 | 4638,2 |
| Constante | -15153,4 | -15234,9 | -15102,0 |

Tabela V II– Resultados das classificações feitas com bases nas funções criadas para fêmeas de *Farfantepenaeus brasiliensis* amostrados em Baía Formosa (BF), Touros (TO) e Diogo Lopes (DL). Linhas representam classificações observadas e colunas classificações preditas.

| | % de acerto | BF | TO | DL | Total |
|-------|-------------|----|----|----|-------|
| BF | 70,59 | 24 | 9 | 1 | 34 |
| TO | 97,62 | 1 | 41 | 0 | 42 |
| DL | 14,29 | 7 | 11 | 3 | 21 |
| total | 70,10 | 32 | 61 | 4 | 97 |

Em fêmeas, a análise de discriminantes canônicos também apresentou grupos com sobreposição, no entanto, a variação encontrada nos dados pode ser atribuída com significância aos locais onde os animais foram coletados (Figura 11).

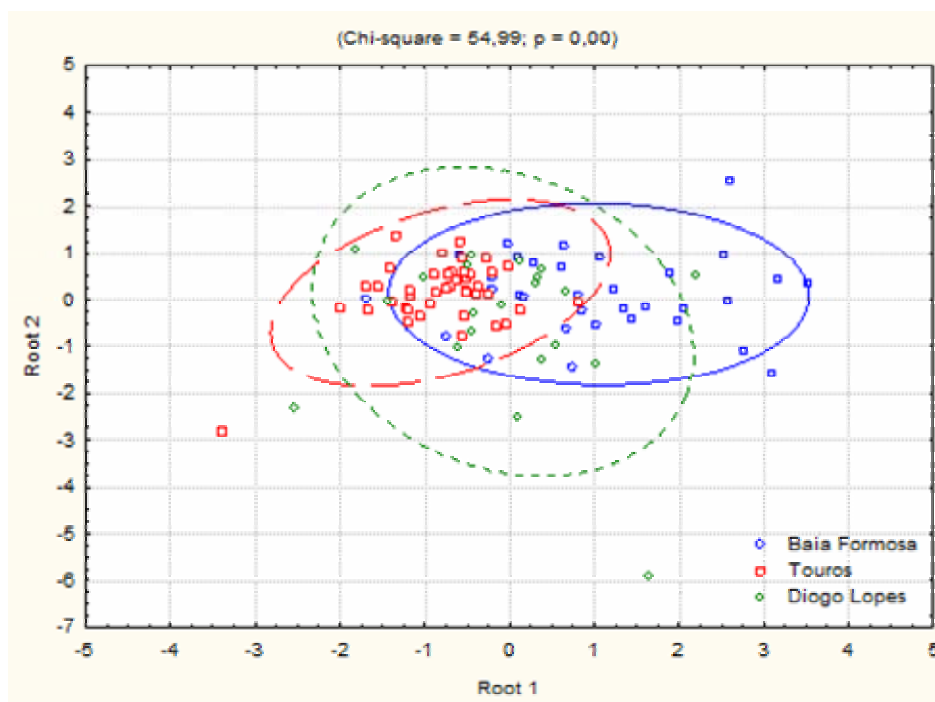


Figura 11 - Visualização gráfica da relação entre as duas variáveis criadas a partir da análise de discriminantes canônicos entre os locais de coleta de *Farfantepenaeus brasiliensis* para fêmeas.

Análises moleculares

Um total de 87 indivíduos foi analisado nas três localidades, Baía Formosa (31), Touros (30) e Diogo Lopes (27). Nenhum dos pares de locos analisados demonstrou estar em desequilíbrio de ligação (Tabela VIII), indicando que não são ligados, e conseqüentemente são independentes. O baixo número de machos amostrados impossibilitou quaisquer análises para este sexo (BF = 15; TO = 1; DL = 9).

Tabela VIII – Resultados para desequilíbrio de ligação entre pares de locos analisados com seus respectivos valores de Qui-Quadrado (X^2) graus de liberdades (Gl) e probabilidade de estarem ligados (p).

| Pares de comparação | X^2 | Gl | “p” |
|---------------------|--------|----|-------|
| Fbra01 x Fbra02 | 3,816 | 6 | 0,702 |
| Fbra01 x Fbra03 | 2,088 | 6 | 0,911 |
| Fbra01 x Fbra04 | 7,621 | 6 | 0,267 |
| Fbra01 x Fbra05 | 10,620 | 6 | 0,101 |
| Fbra02 x Fbra03 | 9,936 | 6 | 0,127 |
| Fbra02 x Fbra04 | 6,155 | 6 | 0,406 |
| Fbra02 x Fbra05 | 2,570 | 6 | 0,860 |
| Fbra03 x Fbra04 | 3,458 | 6 | 0,750 |
| Fbra03 x Fbra05 | 1,577 | 6 | 0,954 |
| Fbra04 x Fbra05 | 0,000 | 6 | 1,000 |

Foi obtido um total de 19 alelos no loco Fbra01, 21 alelos em Fbra02, 15 alelos em Fbra03, 39 alelos em Fbra04, e 27 alelos em Fbra05. Para sexos grupados todos os locos em todos os locais amostrados apresentaram-se fora do equilíbrio de Hardy-Weinberg. No entanto, quando apenas fêmeas foram consideradas os locos Fbra02 e Fbra03 em Baía Formosa, Fbra01 e Fbra02 em Touros se mostraram em equilíbrio de

HW. As heterozigosidades observadas para sexos grupados variaram de 0,226 no loco Fbra04 em BF a 0,7 no loco Fbra01 em TO. As riquezas alélicas variaram entre 6,941 no loco Fbra03 em BF e 23,122 no loco Fbra04 em TO. Para fêmeas os mesmos padrões de variação foram observados tanto para heterozigosidades observadas como para riqueza alélica. A presença de alelos exclusivos foi observada em todos os locos para praticamente todas as populações. As únicas exceções foram aos locos Fbra02 e 03 em BF onde não observou-se a presença de alelos exclusivos. A população DL ($N_{ap} = 5$) foi a que apresentou maior número médio de alelos exclusivos, seguida por TO ($N_{ap} = 3,4$) e BF ($N_{ap} = 2,8$) (Tabela IX). As frequências de ocorrência de cada alelo de todos os locos e populações encontram-se em Anexo.

Apesar das variações observadas, não foram notadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre locais para os valores de heterozigosidades observadas, heterozigosidades esperadas, riquezas alélicas e número de alelos nas Análises de variâncias realizadas (Tabela IX).

Observando-se os valores de F_{IS} , bem como, as probabilidades deste valor ser maior " P_{larger} " (déficit de heterozigotos) e menor " $P_{smaller}$ " (excesso de heterozigotos) do que àqueles obtidos pelas randomizações efetuadas, nota-se que de uma forma geral existem um déficit de heterozigotos em todos os locais tanto juntando os sexos como para fêmeas (Tabela X).

Por outro lado detalhando a informação por loco, pode-se observar que Fbra02 para fêmeas não foi observado déficit ou excesso de heterozigotos em Baía Formosa. Adicionalmente, para este mesmo loco os valores de P_{larger} se mostraram significativos em Baía Formosa para sexos grupados e em Touros para fêmeas. Também em Touros os locos Fbra01, tanto para sexos grupados como para fêmeas, e o Fbra03 com os sexos grupados (Tabela X).

Os resultados obtidos pelo índice de fixação (F_{ST}) são normalmente utilizados para se inferir sobre estruturação populacional. Considerando sexos grupados os resultados de F_{ST} obtidos se mostraram baixos não podendo ser considerados significativos. Quando consideradas apenas fêmeas os valores de F_{ST} se mostraram um pouco maiores entre Baía Formosa e Touros, e Baía Formosa e Diogo Lopes, no entanto, nenhuma das comparações pode ser considerada significativa (Tabela XI). Não foi encontrada correlação significativa entre os valores observados de F_{ST} e os logaritmos naturais das distâncias geográficas lineares entre os pares de populações tanto para sexos grupados (teste de Mantel; $p = 0,174$) como para fêmeas (teste de Mantel; $p = 0,164$).

Tabela IX – Número de indivíduos de *Farfantepenaeus brasiliensis* analisados (N), heterozigosidades observada (H_o) e esperada (H_e), número de alelos (N_a) e riqueza alélica (R_a) para cada loco em cada local de coleta para sexos grupados e fêmeas.

| Locos | BF | | TO | | DL | | |
|---------|----------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|
| | fêmeas | grupados | fêmeas | grupados | fêmeas | Grupados | |
| Fbra01 | N | 16 | 31 | 29 | 30 | 18 | 27 |
| | H_o | 0,562* | 0,613* | 0,690 | 0,7* | 0,611* | 0,629* |
| | H_e | 0,873 | 0,865 | 0,821 | 0,818 | 0,9 | 0,893 |
| | N_a | 12 | 16 | 11 | 11 | 13 | 13 |
| | R_a | 12,000 | 14,951 | 9,395 | 10,774 | 12,406 | 13,000 |
| | N_{ap} | | 6 | | 1 | | 2 |
| Fbra02 | H_o | 0,625 | 0,645* | 0,655 | 0,633* | 0,5* | 0,518* |
| | H_e | 0,784 | 0,806 | 0,830 | 0,838 | 0,827 | 0,852 |
| | N_a | 7 | 10 | 13 | 13 | 11 | 15 |
| | R_a | 7,000 | 9,583 | 9,464 | 12,291 | 10,517 | 15,000 |
| | N_{ap} | | 0 | | 6 | | 4 |
| Fbra03 | H_o | 0,375 | 0,355* | 0,414* | 0,4* | 0,444* | 0,555* |
| | H_e | 0,653 | 0,586 | 0,577 | 0,563 | 0,759 | 0,787 |
| | N_a | 6 | 7 | 8 | 8 | 11 | 13 |
| | R_a | 6,000 | 6,941 | 6,655 | 7,783 | 10,323 | 13,000 |
| | N_{ap} | | 0 | | 1 | | 7 |
| Fbra04 | H_o | 0,25* | 0,226* | 0,517* | 0,533* | 0,5* | 0,407* |
| | H_e | 0,885 | 0,884 | 0,946 | 0,947 | 0,951 | 0,936 |
| | N_a | 12 | 18 | 24 | 24 | 18 | 20 |
| | R_a | 12,000 | 17,121 | 18,084 | 23,122 | 17,145 | 20,000 |
| | N_{ap} | | 5 | | 8 | | 8 |
| D r a c | H_o | 0,437* | 0,516* | 0,448* | 0,433* | 0,444* | 0,555* |

| | | | | | | | |
|-------|-----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | H _e | 0,929 | 0,925 | 0,890 | 0,895 | 0,949 | 0,941 |
| | N _a | 14 | 20 | 19 | 19 | 15 | 18 |
| | R _a | 14,000 | 19,034 | 14,314 | 18,339 | 14,700 | 18,000 |
| | N _{ap} | | 3 | | 1 | | 4 |
| Média | H _o | 0,450 | 0,471 | 0,545 | 0,540 | 0,500 | 0,533 |
| | H _e | 0,825 | 0,81 | 0,813 | 0,812 | 0,877 | 0,882 |
| | N _a | 10,2 | 14,2 | 15,0 | 15,0 | 13,6 | 15,8 |
| | R _a | 10,200 | 13,526 | 11,582 | 14,462 | 13,018 | 15,800 |
| | N _{ap} | | 2,8 | | 3,4 | | 5 |

* valor significativo com a correção seqüencial de Bonferroni.

Tabela X – Coeficiente de endocruzamento (F_{IS}), probabilidade de déficit de heterozigotos (P_{larger}) e de excesso de heterozigotos ($P_{smaller}$) em cada local de coleta para cada loco analisado e para todos os locos em cada local. *Farfantepenaeus brasiliensis*.

| Locos | | BF | | TO | | DL | |
|--------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | fêmeas | grupados | fêmeas | grupados | fêmeas | grupados |
| Fbra01 | F _{IS} | 0,363 | 0,294 | 0,162 | 0,146 | 0,327 | 0,299 |
| | P _L | 0,003* | 0,003* | 0,043 | 0,043 | 0,003* | 0,003* |
| | P _S | 1,000 | 1,000 | 0,993 | 0,983 | 1,000 | 1,000 |
| Fbra02 | F _{IS} | 0,209 | 0,203 | 0,214 | 0,185 | 0,402 | 0,396 |
| | P _L | 0,08 | 0,010 | 0,017 | 0,003* | 0,003* | 0,003* |
| | P _S | 0,999 | 0,997 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| Fbra03 | F _{IS} | 0,434 | 0,409 | 0,289 | 0,310 | 0,421 | 0,275 |
| | P _L | 0,007* | 0,003* | 0,007* | 0,017 | 0,003* | 0,007* |
| | P _S | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 0,997 | 1,000 | 1,000 |
| Fbra04 | F _{IS} | 0,724 | 0,748 | 0,458 | 0,399 | 0,481 | 0,428 |
| | P _L | 0,003* | 0,003* | 0,003* | 0,003* | 0,003* | 0,003* |
| | P _S | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| Fbra05 | F _{IS} | 0,535 | 0,446 | 0,501 | 0,360 | 0,539 | 0,368 |
| | P _L | 0,003* | 0,003* | 0,003* | 0,003* | 0,003* | 0,003* |
| | P _S | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| Todos | F _{IS} | 0,462 | 0,427 | 0,334 | 0,339 | 0,437 | 0,400 |
| | P _L | 0,003 ^a | 0,003 ^a | 0,003 ^a | 0,003 ^a | 0,003 ^a | 0,003 ^a |
| | P _S | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

a = $p < 0,05$;

* valor significativo com a correção seqüencial de Bonferroni.

Tabela XI – Valores de F_{ST} obtidos para as comparações entre *Farfantepenaeus brasiliensis* coletados em Baía Formosa (BF), Touros (TO) e Diogo Lopes (DL) com suas respectivas probabilidades (p).

| Comparação entre locais | Fêmeas | | grupados | |
|-------------------------|-----------------|-------|-----------------|-------|
| | F _{ST} | “p” | F _{ST} | “p” |
| BF x TO | 0.0133 | 0,300 | 0.0110 | 0.483 |
| BF x DL | 0.0233 | 0,033 | 0.0158 | 0,033 |

| | | | | |
|---------|--------|-------|--------|-------|
| TO x DL | 0.0027 | 0,266 | 0.0064 | 0.500 |
|---------|--------|-------|--------|-------|

* valor significativo com a correção seqüencial de Bonferroni.

A detecção de migrantes implementada no programa GENECLASS possibilitou a determinação de 22 animais que não puderam ser atribuídos ao seu local de coleta pelo método frequentista para sexos grupados. Deste total sete animais não puderam ser excluídos de apenas um ou nenhum local, oito foram excluídos de todos os locais analisados e poderiam pertencer a outras populações, e apenas cinco puderam ser excluídos de dois locais podendo ser inferido de onde imigraram, no entanto todos os cinco animais não puderam ser excluídos exatamente do local onde foram coletados. Através do método bayesiano um total de 19 animais obteve probabilidade baixa de pertencer aos locais onde foram coletados, destes, nove não puderam ser excluídos de um ou nenhum local e dez puderam ser excluídos de dois dos três locais de coleta. Daqueles indivíduos em que por exclusão restou apenas um local provável de imigração todos não puderam ser excluídos apenas do local onde foram coletados (Tabela XII).

Tabela XII – Probabilidade de cada indivíduo pertencer a “população” onde ele foi capturado (L_HOME) com seus respectivos valores de “p”, probabilidades de exclusão de Baía Formosa (P_{BF}), de Touros (P_{TO}), e de Diogo Lopes (P_{DL}) calculados pelo *software* GENECLASS através dos métodos frequentista e bayesiano para sexos grupados.

| Local de coleta | Método frequentista | | | | | Método bayesiano | | | | |
|-----------------|---------------------|---------|----------|----------|----------|------------------|---------|----------|----------|----------|
| | L_HOME | “p” | P_{BF} | P_{DL} | P_{TO} | L_HOME | “p” | P_{BF} | P_{DL} | P_{TO} |
| BF | 12.188 | 0.0160* | 0.0920 | 0.1049 | 0.0589 | 16.690 | 0.0031* | 0.2198 | 0.0610 | 0.0691 |
| BF | 8.951 | 0.2635 | 0.4489 | 0.4826 | 0.3369 | 11.105 | 0.1281 | 0.5528 | 0.2523 | 0.1743 |
| BF | 9.093 | 0.2457 | 0.5601 | 0.3744 | 0.2420 | 10.267 | 0.1995 | 0.6703 | 0.5309 | 0.2277 |
| BF | 10.428 | 0.0856 | 0.3293 | 0.2373 | 0.2700 | 11.454 | 0.1105 | 0.4931 | 0.3956 | 0.4349 |

| | | | | | | | | | | |
|----|--------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|
| BF | 7.946 | 0.5128 | 0.8394 | 0.3045 | 0.5645 | 9.105 | 0.3649 | 0.8895 | 0.2756 | 0.6962 |
| BF | 9.571 | 0.1682 | 0.4392 | 0.1024 | 0.0440 | 10.735 | 0.1583 | 0.5739 | 0.0870 | 0.0880 |
| BF | 7.875 | 0.5259 | 0.7589 | 0.8880 | 0.6659 | 7.717 | 0.6387 | 0.8100 | 0.9060 | 0.7422 |
| BF | 7.796 | 0.5595 | 0.7374 | 0.4442 | 0.3979 | 7.761 | 0.6254 | 0.7738 | 0.5583 | 0.5424 |
| BF | 8.954 | 0.2657 | 0.6204 | 0.3899 | 0.5600 | 9.872 | 0.2462 | 0.7335 | 0.3512 | 0.6887 |
| BF | 10.921 | 0.0504 | 0.2387 | 0.4200 | 0.0577 | 12.104 | 0.0778 | 0.3890 | 0.5258 | 0.0968 |
| BF | 17.130 | 0.0002* | 0.0033* | 0.0107* | 0.0009* | 21.015 | 0.0002* | 0.0440* | 0.0602 | 0.0164 |
| BF | 6.574 | 0.8846 | 0.9510 | 0.6619 | 0.4908 | 6.587 | 0.8884 | 0.9537 | 0.7059 | 0.5952 |
| BF | 16.812 | 0.0002* | 0.0047* | 0.0002* | 0.0000* | 20.943 | 0.0001* | 0.0517 | 0.0004 | 0.0005 |
| BF | 7.909 | 0.5064 | 0.6978 | 0.4094 | 0.1676 | 10.245 | 0.1960 | 0.7422 | 0.5180 | 0.1998 |
| BF | 9.056 | 0.2475 | 0.5317 | 0.3793 | 0.4603 | 8.816 | 0.4084 | 0.6274 | 0.1856 | 0.3776 |
| BF | 8.495 | 0.3687 | 0.7117 | 0.5166 | 0.5133 | 9.493 | 0.3015 | 0.7885 | 0.6542 | 0.6727 |
| BF | 9.177 | 0.2195 | 0.3761 | 0.5025 | 0.3961 | 11.838 | 0.0864 | 0.4829 | 0.3415 | 0.2815 |
| BF | 8.820 | 0.2810 | 0.4731 | 0.3195 | 0.2589 | 11.057 | 0.1354 | 0.5693 | 0.4324 | 0.1360 |
| BF | 8.370 | 0.3973 | 0.6854 | 0.6627 | 0.1419 | 8.125 | 0.5536 | 0.7582 | 0.7395 | 0.3506 |
| BF | 8.063 | 0.4739 | 0.6760 | 0.3899 | 0.3924 | 8.046 | 0.5591 | 0.7236 | 0.3101 | 0.5155 |
| BF | 12.370 | 0.0144* | 0.1331 | 0.1681 | 0.0673 | 14.399 | 0.0234* | 0.2925 | 0.1904 | 0.2492 |
| BF | 8.647 | 0.3274 | 0.5546 | 0.2045 | 0.0549 | 8.597 | 0.4581 | 0.6370 | 0.1258 | 0.0503 |
| BF | 11.808 | 0.0267* | 0.1154 | 0.0668 | 0.0429 | 12.645 | 0.0610 | 0.2514 | 0.0433 | 0.0970 |
| BF | 6.863 | 0.8224 | 0.9082 | 0.3798 | 0.1977 | 6.796 | 0.8430 | 0.9255 | 0.5134 | 0.3898 |
| BF | 7.574 | 0.6146 | 0.7779 | 0.2504 | 0.4238 | 7.574 | 0.6643 | 0.8021 | 0.2244 | 0.5380 |
| BF | 12.249 | 0.0148* | 0.0934 | 0.1385 | 0.1091 | 14.043 | 0.0271* | 0.2199 | 0.3072 | 0.1685 |
| BF | 10.820 | 0.0605 | 0.1715 | 0.0141 | 0.0046 | 13.124 | 0.0476* | 0.3099 | 0.0160 | 0.0367 |
| BF | 7.921 | 0.5134 | 0.7192 | 0.2241 | 0.2302 | 9.331 | 0.3249 | 0.7515 | 0.0763 | 0.2240 |
| BF | 8.990 | 0.2549 | 0.4491 | 0.4401 | 0.4906 | 10.223 | 0.2067 | 0.5487 | 0.3339 | 0.5894 |
| BF | 8.453 | 0.3764 | 0.5631 | 0.5938 | 0.1423 | 8.389 | 0.4948 | 0.6486 | 0.6612 | 0.3125 |
| BF | 10.662 | 0.0760 | 0.1995 | 0.0573 | 0.3071 | 12.923 | 0.0492* | 0.3431 | 0.0203* | 0.2963 |
| DL | 11.619 | 0.1020 | 0.1067 | 0.4553 | 0.3522 | 12.353 | 0.1585 | 0.1279 | 0.5951 | 0.5521 |
| DL | 8.342 | 0.7143 | 0.0649 | 0.8893 | 0.3159 | 8.277 | 0.7621 | 0.0479 | 0.8991 | 0.4758 |
| DL | 11.226 | 0.1261 | 0.0588 | 0.3697 | 0.1891 | 13.811 | 0.0870 | 0.0825 | 0.4706 | 0.0843 |
| DL | 16.637 | 0.0006* | 0.0004* | 0.0253* | 0.0000* | 21.510 | 0.0011* | 0.0001* | 0.1302 | 0.0000* |
| DL | 8.889 | 0.5621 | 0.0569 | 0.8029 | 0.1051 | 10.050 | 0.4176 | 0.0774 | 0.8046 | 0.2655 |
| DL | 10.028 | 0.3103 | 0.2501 | 0.5422 | 0.1033 | 9.974 | 0.4374 | 0.3833 | 0.6074 | 0.1327 |
| DL | 17.376 | 0.0003* | 0.0005* | 0.0240* | 0.0000* | 19.846 | 0.0031* | 0.0010* | 0.1372 | 0.0005* |
| DL | 11.557 | 0.1069 | 0.2470 | 0.5084 | 0.1251 | 12.315 | 0.1601 | 0.4321 | 0.6232 | 0.1642 |
| DL | 14.522 | 0.0049* | 0.0027* | 0.0733 | 0.0028* | 19.681 | 0.0030* | 0.0117* | 0.2013 | 0.0064* |
| DL | 12.587 | 0.0407* | 0.0034* | 0.2628 | 0.0027* | 13.501 | 0.0955 | 0.0219 | 0.4067 | 0.0293 |
| DL | 10.913 | 0.1738 | 0.1180 | 0.5272 | 0.1712 | 11.661 | 0.2120 | 0.2783 | 0.6339 | 0.3668 |
| DL | 14.458 | 0.0098* | 0.0001* | 0.1005 | 0.0000* | 15.804 | 0.0401* | 0.0000* | 0.2449 | 0.0009* |
| DL | 15.359 | 0.0025* | 0.0005* | 0.0261* | 0.0004* | 21.862 | 0.0001* | 0.0001* | 0.1178 | 0.0004* |

| | | | | | | | | | | |
|----|--------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|
| DL | 8.017 | 0.7930 | 0.1457 | 0.9040 | 0.6993 | 8.056 | 0.8109 | 0.1320 | 0.9043 | 0.7451 |
| DL | 10.291 | 0.2606 | 0.0217 | 0.5494 | 0.0457 | 11.318 | 0.2463 | 0.0130 | 0.6208 | 0.0413 |
| DL | 11.028 | 0.1562 | 0.0929 | 0.4828 | 0.2066 | 10.708 | 0.3231 | 0.0518 | 0.5789 | 0.1999 |
| DL | 10.788 | 0.1846 | 0.2470 | 0.5280 | 0.3582 | 11.334 | 0.2433 | 0.4161 | 0.6307 | 0.5158 |
| DL | 9.203 | 0.4868 | 0.0609 | 0.7595 | 0.1655 | 10.162 | 0.4018 | 0.0820 | 0.7784 | 0.1883 |
| DL | 8.920 | 0.5640 | 0.0890 | 0.8640 | 0.2602 | 8.672 | 0.6823 | 0.1061 | 0.8788 | 0.4100 |
| DL | 9.768 | 0.3634 | 0.9471 | 0.6582 | 0.1517 | 9.532 | 0.5087 | 0.9551 | 0.7160 | 0.3338 |
| DL | 8.736 | 0.5931 | 0.6813 | 0.8061 | 0.8420 | 9.803 | 0.4505 | 0.7216 | 0.8067 | 0.6636 |
| DL | 16.814 | 0.0004* | 0.0014* | 0.0221* | 0.0008* | 21.162 | 0.0006* | 0.0009* | 0.1258 | 0.0015* |
| DL | 9.583 | 0.3980 | 0.0340 | 0.6614 | 0.1146 | 10.879 | 0.2911 | 0.0288 | 0.6899 | 0.1472 |
| DL | 11.006 | 0.1489 | 0.0171 | 0.3661 | 0.0073 | 12.948 | 0.1198 | 0.0246 | 0.4608 | 0.0079 |
| DL | 7.841 | 0.8251 | 0.3621 | 0.9320 | 0.8153 | 7.900 | 0.8436 | 0.2740 | 0.9278 | 0.8444 |
| DL | 10.614 | 0.2045 | 0.1132 | 0.5535 | 0.1165 | 11.688 | 0.2098 | 0.0613 | 0.6205 | 0.1497 |
| DL | 7.364 | 0.9296 | 0.1660 | 0.9733 | 0.3886 | 7.364 | 0.9282 | 0.1462 | 0.9740 | 0.2973 |
| TO | 14.361 | 0.0006* | 0.0165* | 0.0138* | 0.0361 | 18.654 | 0.0007* | 0.0130* | 0.0203* | 0.1709 |
| TO | 9.731 | 0.1755 | 0.0653 | 0.6525 | 0.4255 | 10.835 | 0.1924 | 0.0199 | 0.4571 | 0.5277 |
| TO | 10.717 | 0.0781 | 0.0246 | 0.3138 | 0.3341 | 13.008 | 0.0554 | 0.0130 | 0.2909 | 0.4919 |
| TO | 9.700 | 0.1889 | 0.3022 | 0.7918 | 0.4039 | 12.048 | 0.0984 | 0.1237 | 0.5747 | 0.5128 |
| TO | 14.482 | 0.0010* | 0.0033* | 0.0065* | 0.0400* | 16.189 | 0.0066* | 0.0288* | 0.0288* | 0.1929 |
| TO | 10.671 | 0.0792 | 0.4243 | 0.1228 | 0.3908 | 10.231 | 0.2608 | 0.5477 | 0.0908 | 0.5389 |
| TO | 6.015 | 0.9645 | 0.8193 | 0.9473 | 0.9785 | 5.960 | 0.9709 | 0.8625 | 0.9604 | 0.9827 |
| TO | 8.863 | 0.3561 | 0.8420 | 0.5194 | 0.5685 | 8.920 | 0.4687 | 0.8500 | 0.3492 | 0.6349 |
| TO | 9.649 | 0.2004 | 0.0523 | 0.2933 | 0.4263 | 10.848 | 0.1918 | 0.0769 | 0.2508 | 0.5568 |
| TO | 5.822 | 0.9767 | 0.8810 | 0.9076 | 0.9833 | 5.785 | 0.9818 | 0.9010 | 0.9299 | 0.9879 |
| TO | 11.451 | 0.0370* | 0.0075* | 0.3364 | 0.2246 | 12.121 | 0.0958 | 0.0147 | 0.4686 | 0.3945 |
| TO | 8.595 | 0.4196 | 0.1464 | 0.1967 | 0.6066 | 9.734 | 0.3270 | 0.1513 | 0.1131 | 0.6715 |
| TO | 11.178 | 0.0475* | 0.0100* | 0.0140* | 0.2080 | 12.284 | 0.0882 | 0.0496 | 0.0446 | 0.3747 |
| TO | 10.210 | 0.1238 | 0.0148 | 0.0686 | 0.3011 | 12.950 | 0.0591 | 0.0101 | 0.0740 | 0.4266 |
| TO | 7.645 | 0.6608 | 0.3857 | 0.8181 | 0.8243 | 7.707 | 0.6981 | 0.4913 | 0.5464 | 0.8495 |
| TO | 12.378 | 0.0102* | 0.0310* | 0.1131 | 0.1056 | 15.835 | 0.0092* | 0.0355* | 0.0881* | 0.2655 |
| TO | 11.623 | 0.0246* | 0.2108 | 0.3754 | 0.2075 | 13.575 | 0.0391* | 0.3608 | 0.3098 | 0.3830 |
| TO | 8.966 | 0.3310 | 0.0949 | 0.4721 | 0.5726 | 10.369 | 0.2428 | 0.0270 | 0.3275 | 0.6415 |
| TO | 9.373 | 0.2433 | 0.1787 | 0.7989 | 0.6080 | 10.548 | 0.2227 | 0.1754 | 0.8286 | 0.7007 |
| TO | 9.260 | 0.2658 | 0.3483 | 0.3431 | 0.5339 | 9.254 | 0.3968 | 0.2485 | 0.1572 | 0.6148 |
| TO | 7.072 | 0.8007 | 0.9082 | 0.8725 | 0.9085 | 7.038 | 0.8373 | 0.9226 | 0.8867 | 0.9243 |
| TO | 10.096 | 0.1376 | 0.0630 | 0.4515 | 0.5483 | 9.540 | 0.3639 | 0.0848 | 0.3550 | 0.6698 |
| TO | 8.299 | 0.4963 | 0.4306 | 0.2900 | 0.8049 | 9.448 | 0.3825 | 0.5660 | 0.2616 | 0.8657 |
| TO | 8.285 | 0.5041 | 0.4630 | 0.5194 | 0.7256 | 9.189 | 0.4115 | 0.5697 | 0.3949 | 0.7831 |
| TO | 7.279 | 0.7598 | 0.7731 | 0.3333 | 0.8845 | 8.412 | 0.5681 | 0.8125 | 0.1700 | 0.9091 |
| TO | 9.970 | 0.1512 | 0.2066 | 0.1964 | 0.4576 | 12.334 | 0.0796 | 0.3571 | 0.1975 | 0.5899 |

| | | | | | | | | | | |
|----|--------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|--------|
| TO | 11.393 | 0.0372* | 0.1098 | 0.4068 | 0.2410 | 12.412 | 0.0829 | 0.2517 | 0.5332 | 0.4169 |
| TO | 11.046 | 0.0485* | 0.0128* | 0.3387 | 0.1677 | 14.427 | 0.0221* | 0.0161* | 0.1802 | 0.3136 |
| TO | 15.096 | 0.0002* | 0.0077* | 0.0209* | 0.0135* | 19.037 | 0.0001* | 0.0093* | 0.0281* | 0.1196 |
| TO | 6.999 | 0.8080 | 0.3090 | 0.7012 | 0.9015 | 8.405 | 0.5669 | 0.2279 | 0.4826 | 0.9140 |

* $p < 0,05$

Discussão

Prospecção de microssatélites

No presente estudo foi possível o desenho de *primers* em 24 dos 47 clones que continham microssatélites. Foram testados 10 conjuntos de *primers* e destes cinco se mostraram polimórficos e apresentaram padrões claros de amplificação. A aquisição de microssatélites úteis em camarões tem se mostrado uma tarefa das mais difíceis, em virtude dos grandes e complexos arranjos de repetições. Clones contendo grandes microssatélites que impedem o desenho de *primers* em uma das regiões flangeadoras são comuns (Tassanakajon et al. 1998). Resultados semelhantes foram encontrados por diversos autores que também atribuem a dificuldade de desenho de *primers* para microssatélites em camarões peneídeos ao tamanho destas repetições (Ball et al. 1998, Tassanakajon et al. 1998, Xu et al. 1999, Cruz et al. 2002, Maggioni e Rogers 2002, Robainas et al. 2002, Freitas et al. 2006).

Análises morfométricas

Os resultados relacionados com a estatística descritiva aplicada às mensurações realizadas evidenciaram diferenças entre os sexos. Um padrão onde fêmeas se mostram em maior número e com tamanho superiores àqueles encontrados para machos foi observado em todas as variáveis e em todos os locais analisados.

As fêmeas representaram cerca de 63,0, 82,5 e 65,6% das amostras obtidas em Baía Formosa, Touros e Diogo Lopes, respectivamente. O predomínio de fêmeas parece ser um fato observado com certa frequência em peneídeos. Para *Farfantepenaeus*

subtilis, *Litopenaeus schmitti* e *Xiphopenaeus kroyeri* coletados no município de Barra de Santo Antônio-AL fêmeas representaram 79,5, 73 e 55,8%, respectivamente (Santos e Freitas 2000). Em Caravelas-BA fêmeas de *X. kroyeri* tiveram um percentual de ocorrência de 51% nas amostras (Santos e Ivo 2000). Em Maragogi-AL para *F. subtilis* e *L. schmitti* as fêmeas também foram predominantes com 56,8 e 62,2%, respectivamente, no entanto, para *X. kroyeri* fêmeas representaram apenas 47,3% das amostras (Santos 2000). Padrão semelhante também foi encontrado em *Rimapenaeus constrictus* na região de Ubatuba-SP, sendo o percentual de fêmeas nas amostras superior a 70% (Costa e Fransozo 2004).

Diferenças nas proporções entre sexos podem ser atribuídas a diversos fatores tais como diferenças nas taxas de crescimento, mortalidade e longevidade, migração diferencial entre sexos, reversão sexual acima de determinado tamanho e seletividade da arte de pesca (Wenner 1972, Lins-Oliveira 1996, Góes e Fransozo 2000). Em camarões peneídeos taxas de crescimento diferencial entre sexos são bastante comuns (Santos e Ivo 2000, Albertoni et al. 2003, Luvesuto 2006). No entanto, estratificação espacial entre sexos de peneídeos também pode ser observada. Uma proporção entre sexos próxima de 50% nas áreas de acasalamento e tendendo a um predomínio de fêmeas nas áreas de postura é esperada. Adicionalmente, variações na razão sexual ao longo do ano também são conhecidas para peneídeos (Santos 2000). Desta forma, as diferenças encontradas no presente estudo quanto ao predomínio de fêmeas nas amostras parecem estar ligadas as diferenças nas taxas de crescimento entre sexos e/ou estratificação espaço/temporal entre sexos.

O padrão encontrado em todas as localidades de que fêmeas são maiores que machos também é bastante comum entre os peneídeos, sendo considerado o padrão geral (Boschi 1969, Tzeng e Yeh 2002, Costa e Fransozo 2004, Luvesuto 2006).

Também para este padrão diferenças relacionadas às taxas de crescimento entre os sexos parece ser a explicação mais razoável (Costa e Fransozo 2004).

Os resultados obtidos por meio das análises discriminantes e de variância para a existência de diferenças entre as variáveis avaliadas por local foram em grande parte concordantes, tanto para sexos grupados como para cada sexo individualmente. Por estas análises foi verificado que em se considerando ambos os sexos, os três locais avaliados podem ser considerados como estoques distintos por meio das análises de variância, no entanto, através da análise multivariada a comparação entre Diogo Lopes e Touros não se mostrou significativa. Quando separados os sexos, também foram obtidos resultados semelhantes entre análises. Em machos não foram observadas diferenças quando os locais foram comparados tanto pelo procedimento univariado como pelo multivariado. No entanto, a comparação entre Baía Formosa e Touros apresentou um valor marginal através da análise univariada, e o menor valor de “p” pelo procedimento multivariado. Por outro lado, quando apenas fêmeas foram consideradas, as análises univariadas mostraram diferenças em pelo menos uma das variáveis analisadas entre cada local, enquanto que as comparações entre todos os locais se mostraram significativas através da análise discriminante.

Em camarões peneídeos alguns estudos também obtiveram sucesso na identificação de estoques por meio de técnicas morfométricas. No mar da China foi possível a identificação de pelo menos três estoques de *Parapenaeopsis hardwickii* por meio de técnicas multivariadas (Tzeng 2004). Para *Marsupenaeus japonicus* coletados em cinco localidades de Taiwan foi evidenciada a formação de dois grupos distintos, no entanto as variáveis mais importantes na discriminação destes grupos foram diferentes entre sexos (Tzeng e Yeh 2002). Para *Rimapenaeus constrictus* a análise dos caracteres morfológicos revelaram diferenças significativas entre os camarões coletados em

Ubatuba-SP e Guarapari-ES, Brasil (Silva 2007). Resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo foram obtidos por Luvesuto (2006) com *Litopenaeus schmitti* nos mesmos locais aqui analisados. No trabalho acima citado tanto quando comparando sexos grupados, como quando separando os sexos, padrões claros de diferenciação entre locais por meio de análises univariadas e multivariadas de caracteres morfológicos foram obtidos.

Algumas características deste grupo podem ser consideradas para se tentar explicar os padrões de diferenciação encontrados. Os camarões peneídeos podem apresentar quatro diferentes tipos de ciclo de vida (Dall et al. 1990) e para camarões como *L. schmitti*, *F. brasiliensis*, *P. hardwickii* e *M. japonicus* a presença de estuários representa uma necessidade para se completar seu ciclo de vida. Esta característica pode repercutir em uma relação estuário vs camarões que deve resultar em uma estruturação das populações naturais de camarões em estoques distintos, apesar de bastante próximos espacialmente e, aparentemente, não separados por barreiras físicas, geológicas ou oceanográficas.

Adicionalmente, diversos autores apontam para a existência de uma forte correlação entre fatores abióticos e a ocorrência de camarões peneídeos. Castilho et al. (2007) demonstraram existir diferenças marcantes na estrutura populacional e na reprodução de *Artemesia longinaris* do litoral norte do estado de São Paulo e de Mar del Plata, e relacionaram estas discrepâncias encontradas a adaptações as características ambientais de cada local. Para *Pleoticus muelleri* amostrados no litoral norte do estado de São Paulo, Costa et al. (2004) também afirmaram que as características ambientais como temperatura, salinidade e tipo de sedimento são os principais influenciadores da distribuição ecológica desta espécie. Para *L. schmitti*, Costa (2002) teorizou que os animais encontrados na região de Ubatuba, litoral norte do Estado de São Paulo, seriam

provenientes da região estuarina de Cananéia, litoral sul do Estado de São Paulo, sendo os animais encontrados tanto no litoral norte quanto no sul do Estado parte de um único estoque reprodutor mediado pelos estuários de Cananéia. Desta forma, estuários próximos geograficamente, mas com características próprias (e.g. regime hídrico) discrepantes poderiam representar as bases para o surgimento de grupos de animais com características distintas entre locais.

Também é importante ressaltar alguns aspectos da biologia dos peneídeos. Os camarões deste grupo se caracterizam por não incubar ovos. Os machos inserem a massa de espermatóforos no telicum das fêmeas, que quando maduras liberam os óvulos. A fecundação é externa, os ovos são liberados na coluna d'água e o desenvolvimento se passa também na coluna d'água (Dall et al. 1990).

As espécies do gênero *Farfantepenaeus* são caracterizadas pela presença de telicum do tipo fechado (Pérez-Farfante e Kensley 1997). Da inseminação pelos machos a liberação dos óvulos pelas fêmeas pode levar menos de três dias para camarões que possuem telicum aberto, e de 10 a 20 dias em camarões de telicum fechado (Dall et al. 1990). Em última análise o local onde a fêmeas liberam os óvulos deve guardar grande relação com o estuário onde esta desova irá recrutar. Desta forma, a não observação de diferenças entre os machos e uma maior fidelidade das fêmeas pelos locais fazem certo sentido biológico.

Cada uma das regiões analisadas no presente trabalho possui características peculiares, sendo que as principais diferenças estão relacionadas ao clima e ao uso das regiões estuarinas. Segundo Freire et al. (1999) o Estado do Rio Grande do Norte pode ser subdividido em duas regiões quanto aos padrões de pluviometria, região leste e norte. A cidade de Macau, a qual se localiza o distrito de Diogo Lopes, está inserida no

grupo norte caracterizado por médias pluviométricas menores, enquanto Touros e Baía Formosa agrupam-se na região leste. Ainda segundo estes autores, a área leste é influenciada pelos ventos alísios por todo o ano, isto favorece a ocorrência de precipitações nos primeiros meses do ano, enquanto que a área norte tem suas chuvas associadas aos deslocamentos dos centros de pressão atmosféricos do Atlântico.

Adicionalmente, a cidade de Macau faz parte do pólo salineiro do Estado do Rio Grande do Norte com diversas salinas instaladas as margens do estuário dos rios Piranhas/Açu que tem como uma de suas características altos níveis de salinidades (Camara 2001, Camara et al. 2005). O estuário dos rios Curimataú/Cunhaú, que drena nas proximidades do município de Baía Formosa, encontra-se em elevado grau de degradação em virtude de atividades antropogênicas, destacando-se como uma das atividades impactantes a produção de camarão em cultivo (Silva 2000). Já o município de Touros fica situado na Bacia hidrográfica do rio Boqueirão na transição entre o litoral leste, que se caracteriza por vales úmidos e rios perenes, e o litoral norte tipicamente semi-árido em geral com rios transitórios. Desta forma, a localidade se encontra influenciada por dois tipos climáticos favorecendo diferentes particularidades hidrogeológicas (Melo et al. 2005).

Com base nos resultados encontrados por meio das análises morfológicas empregadas, e considerando as diferentes características dos locais estudados, pode-se inferir a existência de pelo menos dois estoques de camarões *Farfantepenaeus brasiliensis* na costa do Estado do Rio Grande do Norte. Além do citado também puderam ser observados padrões diferenciados entre sexos. Tais diferenças precisam ser avaliadas em maior profundidade para melhor se entender como cada sexo participa da estruturação das populações de camarão, mas com base nos resultados obtidos no presente estudo parecem existir diferenças no uso do espaço por cada sexo, e estas

podem estar associadas tanto a características biológicas destes animais, como a diferenças comportamentais.

Análises moleculares

Variabilidade genética

Os valores de heterozigidades médias observadas ($H_o = 0,471$ a $0,540$) no presente estudo se mostraram equivalentes àqueles encontrados em outros trabalhos com peneídeos.

Para *Litopenaeus vannamei* foram encontrados valores de heterozigosidade observada variando entre $0,425$ e $0,964$ para camarões estudados na Austrália (Benzie 2000) e de $0,164$ a $0,535$ de animais das costas do México a do Panamá (Valles-Jimenez et al. 2005). Em *Penaeus monodon* valores de H_o bastante contrastantes foram encontrados na Indonésia ($H_o = 0,027$), Tailândia ($H_o = 0,78$), Filipinas ($H_o = 0,741 - 0,791$) e Austrália ($H_o > 0,9$) (Brooker et al. 2000, Supungul et al. 2000, Xu et al. 2001, Sugaya et al. 2002). (Ball et al. 1998) desenvolveram um conjunto de *primers* para *Litopenaeus setiferus*, obtendo H_o média de $0,53$, e avaliaram o uso deste mesmo conjunto em *Farfantepenaeus duorarum* e *Farfantepenaeus aztecus*, obtendo níveis de heterozigosidade observada média de $0,483$ e $0,573$, respectivamente.

Na costa brasileira para *Rimapenaeus constrictus* provenientes do litoral norte do Estado de São Paulo e de Guarapari (ES) a H_o média variou entre $0,143$ e $0,533$ (Silva 2007). Já para *Litopenaeus schmitti* amostrados ao longo de toda a costa brasileira, Maggioni et al. (2003) obtiveram H_o média de $0,850$, enquanto que Luvesuto (2006) trabalhando também com *L. schmitti* da costa do Estado do Rio Grande do Norte obteve heterozigosidades observadas médias entre $0,535$ e $0,612$. Portanto, os resultados relativos às heterozigosidades observadas no presente estudos mostraram-se

comparáveis e intemédiários aos obtidos para outras espécies dentro do grupo dos peneídeos.

Em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, três dos cinco locos analisados se mostraram em equilíbrio em pelo menos um dos locais para fêmeas. Esse comportamento sugere que tais desvios possam ser reflexos do efeito Wahlund, que consiste na mistura de indivíduos de fontes geneticamente diferentes (Tsoi et al. 2007). Por outro lado, os desvios de HW com déficits significativos de heterozigotos encontrados nos locos Fbra04 e Fbra05 não podem ser atribuídos a tal efeito.

A ocorrência de déficit de heterozigotos têm sido comumente descrita em peneídeos (Supungul et al. 2000, Xu et al. 2001, Ball e Chapman 2003, Valles-Jimenez et al. 2005, Liu et al. 2006, Tsoi et al. 2007) e pode ser atribuída a fatores como acasalamento preferencial, endocruzamento, presença de alelos nulos, genotipagem equivocada de alelos contendo “stutters”, artefatos técnicos, entre outros.

De acordo com Castric et al. (2002) quando existe a presença de endocruzamento ou acasalamento preferencial na população, pode-se esperar que todos os locos estejam correlacionados (desequilíbrio de ligação), entretanto não foi observado desequilíbrio de ligação no presente estudo.

Apesar de genotipagem equivocada de alelos contendo “stutters” ser uma preocupação, principalmente, com microssatélites de repetição dinucleotídica, os microssatélites utilizados no presente estudo apresentaram padrões sem ambigüidade (no máximo dois fracos “stutters”). Nesse contexto, acredita-se que este não tenha sido o fator principal que causou os baixos níveis de heterozigosidades encontrados nos locos Fbra04 e Fbra 05.

Por outro lado, a presença de alelos nulos é um problema recorrente em estudos populacionais com espécies de peneídeos. Este tipo de problema foi encontrado em

espécies como *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus setiferus*, *Penaeus monodon*, *Litopenaeus stylirostris*, *Farfantepenaeus paulensis*, *Fenneropenaeus chinensis* (Brooker et al. 2000, Xu et al. 2001, Maggioni e Rogers 2002, Goyard et al. 2003, Valles-Jimenez et al. 2005, Liu et al. 2006, Tsoi et al. 2007) e essa possibilidade não pode ser excluída dos nossos resultados especialmente nos locos Fbra04 e Fbra05.

Esses dois locos se mostraram com os maiores valores de variabilidade no presente estudo. Situações como esta nos levam a argüir quando desvios de HW são realmente biologicamente significativos. Segundo Brooker et al (2000) resultados como estes podem ser esperados com locos hiper-variáveis e tamanho amostrais relativamente pequenos.

Estrutura populacional e detecção de migrantes

O tema estruturação genética de populações de camarões peneídeos no Brasil, tem revelado que diversas espécies destes camarões apresentam algum grau de diferenciação, sendo estas espécies na verdade compostas por um conjunto de estoques ou populações distintos. Voloch e Solé-Cava (2005), em estudos com sete locos polimórficos de alozimas, mostraram que as populações de *X. kroyeri* de São Paulo encontram-se geneticamente diferenciadas em relação às do Rio de Janeiro e do Espírito Santo. Estudos também realizados com alozimas, nas espécies *F. brasiliensis*, *L. schmitti*, *F. paulensis* e *Farfantepenaeus sp*, evidenciaram, porém, estruturação somente nas populações de *F. brasiliensis* e *L. schmitti* (Gusmão et al. 2005). Em populações de *L. schmitti* provenientes de coletas ao longo da costa brasileira Maggioni et al. (2003) igualmente detectaram presença de estruturação genética nesta espécie por meio de marcadores microssatélites. Luvesuto (2006) também em *L. schmitti* e com o mesmo tipo de marcadores, a partir de camarões provenientes das mesmas localidades avaliadas

no presente estudo, observaram que mesmo em micro escala pode ser evidenciada a existência de populações distintas desta espécie.

Além de estruturação populacional, marcadores moleculares têm sido hábeis para identificar espécies crípticas de camarões. Gusmão et al (2006) afirmam que o que se imaginava ser uma única espécie Atlântica de *Xiphopenaeus* na verdade seriam duas espécies crípticas. Tsoi et al (2007) estudando *Marsupenaeus japonicus* da costa oeste do Pacífico encontraram o que chamaram de complexo de espécies com altos níveis de diversidade genética. Hualkasin et al. (2003) observaram a presença de dois clados distintos dentro de *Fenneropenaeus merguensis* podendo, desta forma, serem considerados duas espécies crípticas.

No entanto, os valores de F_{ST} encontrados no presente estudo apontam apenas para uma fraca diferenciação populacional de acordo com a classificação de Wright (1978), onde valores de F_{ST} entre 0 e 0,15 são indicativos de fraca estruturação genética, valores entre 0,15 e 0,25 diferenciação moderada, e valores acima de 0,25 grande diferenciação genética. Entretanto, os valores de “p” para os F_{ST} entre cada par de populações não se mostrarem significativos.

Os valores obtidos de F_{ST} e a estruturação observada na análise morfométrica são assimantagônicos. O tipo de ciclo de vida da espécie, que pode representar certa barreira ecológica, as diferenças entre as localidades amostradas, principalmente em relação às características de seus estuários e seus usos, as similaridades bioecológicas entre *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Litopenaeus schmitti*, que foi estudado por Luvesuto (2006) nas mesmas localidades, com as mesmas ferramentas e onde foi constatada a ocorrência de estruturação populacional, e os resultados morfométricos obtidos neste estudo que apontavam a existência de mais de um estoque na região, favorecem a hipótese de estruturação populacional nesta espécie. Além disso, a

ocorrência de alelos privados em todos os locos para quase todas as populações analisadas também apontam para uma diferenciação populacional.

Alguns fatores podem ser ponderados como possíveis explicações para os resultados obtidos para F_{ST} . O número de locos analisados pode ter sido insuficiente para se conseguir detectar diferenciação por meio da estatística “F” implementada no programa FSTAT, o número de indivíduos genotipados também pode não ter sido o adequado, e, alternativamente, o predomínio de fêmeas nas amostras analisadas e os resultados de morfometria que apontam para diferenças entre os níveis de estruturação entre sexos, podem ter influenciado os valores obtidos por este estimador no presente estudo.

Adicionalmente, não considerando a correção para comparações múltiplas proposta por Bonferroni (Rice 1989), observa-se um valor significativo para o F_{ST} obtido entre BF e DL. A correção de Bonferroni é uma rotina estatística que visa diminuir erros do tipo I que sob o ponto de vista de comparações múltiplas podem ser maximizados. Com este procedimento espera-se diminuir a probabilidade de, em comparações múltiplas, uma destas ser considerada significativa quando na verdade trata-se da influência do acaso. No entanto não existe consenso sobre o uso deste e de outros tipos de procedimento com a mesma finalidade (Narum 2006).

A hipótese de existência de estruturação populacional em *F. brasiliensis* nos locais estudados ganha força com os resultados obtidos através da detecção de migrantes realizada no programa GENECLASS. Apesar de por meio da probabilidade de pertencer aos locais amostrados terem sido observados 22 e 19 animais com valores significativos em nível de 5%, pelos métodos frequentista e bayesiano respectivamente, a probabilidade de excluir estes indivíduos dos locais amostrados por meio do método frequentista identificou oito indivíduos que foram excluídos de todos os locais de coleta

podendo pertencer a outras populações não amostradas no presente estudo, e cinco animais que não puderam ser excluídos de apenas um local, que em todos os casos foi o local onde este foi amostrado. Já no método bayesiano nenhum indivíduo foi excluído de todos os locais amostrados, mas dez animais foram excluídos de dois dos três locais, e em todos os casos este foi o local onde o animal havia sido coletado.

Os padrões oceanográficos de circulação da região suportariam a existência de migração no sentido sul-norte por influência da Corrente Norte do Brasil e da Subcorrente Norte do Brasil, no entanto a ocorrência de giros de recirculação e a influência dos ventos sudeste predominantes nas localidades de Diogo Lopes e Touros poderiam explicar a não observância de migrantes nas localidades estudadas, embora o teste de alocação de indivíduos tenha identificado migrantes possivelmente oriundos de populações não amostradas (Luvesuto 2006).

Nesse contexto e com base nos resultados obtidos através das análises morfométricas e moleculares dos camarões *Farfantepenaeus brasiliensis* coletados nas localidades de Baía Formosa, Touros e Diogo Lopes, parece razoável a existência de pelo menos dois estoques desta espécie de camarão no litoral do Estado do Rio Grande do Norte, apesar de alguns resultados contrastantes entre as diferentes técnicas utilizadas.

Os resultados obtidos no presente estudo têm grande importância no que diz respeito ao manejo da espécie em questão. A existência de estoques diferenciados de *F. brasiliensis* distando tão pouco geograficamente, advogam pela urgente necessidade de se conhecer mais a fundo a distribuição da variabilidade infra-específica das espécies de importância pesqueira como um todo. Para que políticas regionais mais adequadas de uso dos recursos pesqueiros sejam adotadas, os limites entre estoques pesqueiros devem ser conhecidos. Adicionalmente, fica mais uma vez comprovado o importante papel

desempenhado pelos estuários para as espécies marinhas. Os estuários podem desempenhar papel muito importante na estruturação das espécies e, dessa forma, possuir estoques associados tanto de invertebrados como de vertebrados marinhos, que dele dependem de alguma forma para completar seu ciclo de vida.

Conclusões

- As análises morfométricas realizadas possibilitaram a identificação de duas populações ou estoques distintos na costa do Rio Grande do Norte, sendo possível notar peculiaridades relacionadas aos sexos;
- As análises moleculares apresentaram resultados ambíguos, onde os valores de F_{ST} não apontam para a existência de estruturação, embora a detecção de migrantes possivelmente oriundos de populações não amostradas, e a existência de alelos privados em cada localidade suportem a hipótese de estruturação populacional;
- As características bioecológicas desta espécie de peneídeo, as diferenças entre as regiões de estudo e os resultados observados pelas diferentes técnicas morfológicas e moleculares, nos permitem concluir que na região estudada existem pelo menos duas populações ou estoques de *Farfantepenaeus brasiliensis*, tendo esta informação grande importância ecológica e econômica do ponto de vista de manejo dos recursos naturais.

Referências Bibliográficas

Albertoni, E. F., C. Palma-Silva, e F. d. A. Esteves. 2003. Crescimento e fator de condição na fase juvenil de *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille) e *F.*

- paulensis* (Pérez-Farfante)(Crustacea, Decapoda, Penaeidae) em uma lagoa costeira tropical do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* **20**:409-418.
- Aljanabi, S. M., e I. Martinez. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* **25**:4692-4693.
- Allendorf, F., N. Ryman, e F. Utter. 1987. Genetics and fishery management: past, present and future. Pages 1-19 *in* N. Ryman e F. Utter, editors. *Population genetics and fishery management*. University of Washington Press, Washington.
- Aubert, H., e D. V. Lightner. 2000. Identification of genetic populations of the Pacific blue shrimp *Penaeus stylirostris* of the Gulf of California, Mexico. *Marine Biology* **137**:875-885.
- Ball, A. O., e R. W. Chapman. 2003. Population genetic analysis of white shrimp, *Litopenaeus setiferus*, using microsatellite genetic markers. *Molecular Ecology* **12**:2319-2330.
- Ball, A. O., S. Leonard, e R. W. Chapman. 1998. Characterization of (GT)_n microsatellites from native white shrimp (*Penaeus setiferus*). *Molecular Ecology* **7**:1247-1263.
- Begg, G. A., K. D. Friedland, e J. B. Pearce. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fisheries Research* **43**:1-8.
- Bentzen, P., C. T. Taggart, D. E. Ruzzante, e D. Cook. 1996. Microsatellite polymorphism and the population structure of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the northwest Atlantic. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **53**:2706-2721.

- Benzie, J. A. H. 2000. Population genetic structure in penaeid prawns. *Aquaculture Research* **31**:95-119.
- Booke, H. E. 1981. The conundrum of the stock concept - are nature and nurture definible in fisheries science? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **38**:1479 - 1480.
- Borrell, Y., G. Espinosa, J. Romo, G. Blanco, E. Vázquez, and J. A. Sánchez. 2004. DNA microsatellite variability and genetic differentiation among natural populations of the Cuba white shrimp *Litopenaeus schmitti*. *Marine Biology* **144**:327-333.
- Boschi, E. E. 1969. Estudio biológico pesquero del camarón *Atemesia longinaris* Bate de Mar del Plata. *Boletín del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero* **18**:1-47.
- Branco, J. O., e J. R. Verani. 1998. Aspectos bioecológicos do camarão-rosa *Penaeus brasiliensis* Latreille (Natantia, Penaeidae) da Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* **15**:345-351.
- Brooker, A., D. Cook, P. Bentzen, J. Wright, e R. Doyle. 1994. Organization of microsatellites differs between mammals and cold-water teleost fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **51**:1959-1966.
- Brooker, A. L., J. A. H. Benzie, D. Blair, e J.-J. Versini. 2000. Population structure of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* in Australian waters, determined using microsatellite markers. *Marine Biology* **136**:149-157.
- Burnaby, T. P. 1966. Growth-Invariant Discriminant function and generalized distances. *Biometrics* **22**:96-110.
- Cadrin, S. X. 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology e Fisheries* **10**:91-112.

- Cadrin, S. X., e V. M. Silva. 2005. Morphometric variation of yellowtail flounder. Pages 683-694.
- Camara, M. 2001. Dispersal of *Artemia franciscana* Kellogg (Crustacea; Anostraca) populations in the coastal saltworks of Rio Grande do Norte, northeastern Brazil. *Hydrobiologia* **466**:145-148.
- Camara, M. R., L. G. Reis, e M. F. Costa. 2005. Reproductive performance of three *Artemia franciscana* Kellogg (Crustacea, Anostraca) populations in northeastern Brazil pond culture conditions. *Journal of Biological Research* **4**:173 - 179.
- Camargo, W. N., J. S. Ely, e P. Sorgeloos. 2003. Morphometric characterization of thalassohaline *Artemia franciscana* populations from the Colombian Caribbean. *Journal of Biogeography* **30**:697-702.
- Castilho, A. L. 2008. Reprodução e recrutamento dos camarões Penaeoidea (Decapoda: Dendrobranchiata) no litoral norte do Estado de São Paulo. Dissertação. UNESP, Botucatu.
- Castilho, A. L., M. A. Gavio, R. C. Costa, E. E. Boschi, R. T. Bauer, e A. Fransozo. 2007. Latitudinal variation in population structure and reproductive pattern of the endemic south american shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda : Penaeoidea). *Journal of Crustacean Biology* **27**:548-552.
- Castric, V., L. Bernatchez, K. Belkhir, e F. Bonhomme. 2002. Heterozygote deficiencies in small lacustrine population of brook charr *Salvelinus fontinalis* Mitchill (Pices, Salmonidae): a test of alternative hypotheses. *Heredity* **89**:27-35.
- Chang, H.-C., e C.-C. Hsu. 2004. Statistical comparisons of some external morphometrical aspects of the Swimming crab *Protunus sanguinolentus*

- (Herbst) Populations Inhabiting the Keelung Shelf and Taiwan bank. *Terrestrial, Atmospheric and Oceanic Sciences* **15**:179-197.
- Chiou, W.-D., C.-C. Wu, e L.-Z. Cheng. 2000. Spatio-temporal distribution of sergestid shrimp *Acetes intermedius* in the coastal waters of southwestern Taiwan. *Fisheries Science* **66**:1014-1025.
- Cornuet, J. M., e G. Luikart. 1996. Description and Power Analysis of Two Tests for Detecting Recent Population Bottlenecks From Allele Frequency Data. *Genetics* **144**:2001-2014.
- Costa, R. C. 2002. Biologia e distribuição ecológicadas espécies de camarões Dendrobranchiata (Crustacea: Decapoda) na região de Ubatuba (SP). Tese. UNESP, Botucatu.
- Costa, R. C., A. Fransozo, G. A. S. Melo, e F. A. M. Freire. 2003. An Illustrated ker for Dendrobranchiata shrimps from the northern coast of São Paulo State, Brazil. *Biota Neotropica* **3**:(nl).
- Costa, R. C., A. Fransozo, e A. P. Pinheiro. 2004. Ecological distribution of the shrimp *Pleoticus muelleri* (Bate, 1888) (Decapoda, Penaeoidea) in southeastern Brazil. *Hydrobiologia* **529**:195-203.
- Costa, R. C. d., e A. Fransozo. 2004. Reproductive biology of the shrimp *Rimapenaeus constrictus* (Decapoda, Penaeidae) in the Ubatuba region of Brazil. *Journal of Crustacean Biology* **24**:274-281.
- Costa, R. C. d., A. Fransozo, F. L. M. Mantelatto, e R. H. Castro. 2000. Occurence of shrimp species (Crustacea, Decapoda, Natantia, Penaeidea, Caridea) in Ubatuba Bay, Ubatuba, SP, Brazil. *Proceedings of the Biological Society of Washington* **113**:776 - 781.

- Cruz, P., C. H. Mejia-Ruiz, R. Perez-Henriquez, e M. Ibarra. 2002. Isolation and characterization of microsatellites in Pacific White shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Molecular Ecology Notes* **2**:239-241.
- D'Incao, F. 1995. Taxonomia, padrões distribucionais e ecológicos dos Dendrobranchiata (Crustacea: Decapoda) do litoral brasileiro. Tese. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- D'Incao, F. 1999. Subordem Dendrobranchiata (camarões marinhos). Pages 275-299 in L. Buckup e G. Bond-Buckup, editors. Os crustáceos do Rio Grande do Sul. UFRGS, Porto Alegre.
- D'Incao, F., H. Valentini, e L. F. Rodrigues. 2002. Avaliação da pesca de camarões nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. *Atlântica* **24**:103-116.
- Dall, W., B. J. Hill, P. C. Rothlisberg, e D. J. Staples. 1990. The Biology of Penaeidae. *Advances in Marine Biology* **27**:1-461.
- Duarte, L. C., F. J. V. Zuben, e S. F. d. Reis. 1998. Orthogonal projections and bootstrap resampling procedures in the study of infraspecific variation. *Genetics and Molecular Biology* **21**:479-486.
- Espinosa, G. L., M. Jager, E. García-Machado, Y. B. Pichs, N. C. Rodrigues, A. R. Barcia, e J. Deutsch. 2001. Microsatellites from Withe shrimp *Litopenaeus schmitti* (Crustacea, Decapoda). *Biotecnología Aplicada* **18**:232-234.
- Estoup, A., M. Solignac, M. Harry, e J. Cornut. 1993. Characterization of GT and CT microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* e *Bombus terrestris*. *Nucleic Acids Research* **21**:1427-1431.
- Feldheim, K. A., S. H. Gruber, e M. V. Ashley. 2001. Population genetic structure of the lemon shark (*Negaprion brevirostris*) in the western Atlantic: DNA microsatellite variation. Pages 295-303.

- Féral, J.-P. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **268**:121-145.
- Ferreira, M. E., e D. Grattapaglia. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. EMBRAPA-CENARGEN, Brasília.
- Francisco, A. K., A. P. Pinheiro, T. B. Silva, e P. M. Galetti. 2008. Isolation and characterization of microsatellites in three overexploited penaeid shrimp species along the Brazilian coastline. *Conservation Genetics* **In Press**.
- Francisco, M. R. d. 2005. Estruturação genética em populações de tangará-dançarino *Chiroxiphia caudata* (Aves: Pipridea) no corredor costeiro de Mata Atlântica (SP) e sua importância para a conservação. Tese. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Fransozo, A., R. C. Costa, F. L. M. Mantelatto, M. A. A. Pinheiro, e S. Santos. 2002. Composition and Abundance of shrimp species (Penaeidea and Caridea) in Fortaleza Bay, Ubatuba, São Paulo, Brazil. Pages 117-125 in E. Escobar-Briones e F. Alvarez, editors. *Modern Approaches to the Study of Crustacea*. Kluwer Academic Publishers.
- Freire, F. A. M., J. E. Lins-Oliveira, A. P. Pinheiro, e K. R. R. Vieira. 1999. Relação da pluviometria com a produção de lagostas (*Panulirus argus* e *Panulirus laeviscauda*) no Estado do Rio Grande do Norte. Pages 518-523 in XI Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca e I Congresso Latino-Americano de Engenharia de Pesca, Olinda-PE.
- Freitas, P. D., C. M. Jesus, e P. M. Galletti. 2006. Isolation and characterization of new microsatellite loci in the Pacific withe shrimp *Litopenaeus vannamei* and cross-

- species amplification in other penaeid species. *Molecular Ecology Notes* **7**:324-326.
- Freitas, P. D., D. S. Martins, e P. M. Galetti. 2008. cid: a rapid and efficient bioinformatic tool for the detection of SSRs from genomic libraries. **8**:107-108.
- Freitas, P. D., A. P. Pinheiro, T. B. Silva, e P. Galetti. 2007. In silico analysis of polymorphic microsatellites in penaeid shrimp and construction of a free-access database. *Genetics and Molecular Biology* **30**:1194-1197.
- Góes, J. M., e A. Fransozo. 2000. Sex ratio analysis in *Eriphia gonagra* (Decapoda, Xanthidae). *Iheringia* **88**:151-157.
- Goyard, E., S. Arnaud, V. Vonau, V. Bishoff, O. Mouchel, D. Pham, J. Wyban, P. Boudry, e AQUACOP. 2003. Residual genetic variability in domesticated population of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia, French Polynesia and Hawaii and some management recommendations. *Aquatic Living Resources* **16**:501-508.
- Guo, S. W., e E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* **48**:361-372.
- Gusmão, J., C. Lazoski, F. Monteiro, e A. Solé-Cava. 2006. Cryptic species and population structuring of the Atlantic and Pacific seabob shrimp species, *Xiphopenaeus kroyeri* and *Xiphopenaeus riveti*. *Marine Biology* **149**:491-502.
- Gusmão, J., C. Lazoski, e A. Solé-Cava. 2005. Population genetic structure of Brazilian shrimp species (*Farfantepenaeus* sp., *F. brasiliensis*, *F. paulensis*, *Litopenaeus schmitti*: Decapoda: Penaeidae). *Genetics and Molecular Biology* **28**:165-171.
- Hamilton, M. B., E. L. Pincus, A. Di Fiore, e R. C. Fleischer. 1999. Universal linker and ligation procedures for construction of genomic DNA libraries enriched for microsatellites. *Biotechniques* **27**:500-+.

- Hualkasin, W., P. Sirimontaporn, W. Chotigeat, J. Querci, e A. Phongdara. 2003. Molecular Phylogenetic analysis of withe prawns species and the existence of two clades in *Penaeus merguensis*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **296**:1-11.
- Ignacio, B. L., T. M. Absher, C. Lazoski, e A. M. Sole-Cava. 2000. Genetic evidence of the presence of two species of *Crassostrea* (Bivalvia : Ostreidae) on the coast of Brazil. Marine Biology **136**:987-991.
- Isaac, V., J. D. Neto, e F. G. Damasceno. 1992. Camarão rosa da costa norte; biologia, dinâmica e administração pesqueira, Brasília.
- Junquera, S., e G. Perez-Gandaras. 1993. Population diversity in Bay-of-Biscay Anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) as revealed by multivariate analysis of morphometric and meristic caracteres. ICES Journal of Marine Science **50**:383-391.
- Lester, L. J. 1979. Population genetics of penaeid shrimp from gulf of Mexico. Journal of Heredity **70**:175-180.
- Lins-Oliveira, J. E. 1996. Estudo do sex-ratio entre Penaeidae através da utilização de um modelo de regressão linear adaptado. Boletim do Departamento de Oceanografia e Limnologia **9**:67-74.
- Litt, M., e J. A. Luty. 1989. A Hypervariate microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene American Journal of Human Genetics **44**:397-401.
- Liu, P., X. H. Meng, J. Kong, Y. Y. He, e Q. Y. Wang. 2006. Polymorphic analysis of microsatellite DNA in wild populations of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). Aquaculture Research **37**:556-562.

- Luan, S., J. Kong, e Q. Y. Wang. 2006. Genetic variation of wild and cultured populations of the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* (Bate, 1888) using microsatellites. *Aquaculture Research* **37**:785-792.
- Luvesuto, E. 2006. Análise genética e morfométrica da estrutura populacional do camarão branco *Litopenaeus schmitti* (Decapoda, Crustacea) na costa do Rio Grande do Norte, Brasil: uma abordagem em fina escala Dissertação. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Maggioni, R., e A. D. Rogers. 2002. Microsatellite primers for the three Western Atlantic *Farfantepenaeus* prawn species. *Molecular Ecology* **2**:51-53.
- Maggioni, R., A. D. Rogers, e N. Maclean. 2003. Population structure of *Litopenaeus schmitti* (Decapoda, Penaeidae) from Brazilian coast identified using six polymorphic microsatellite loci. *Molecular Ecology* **12**:3213-3217.
- Mariappan, P., e C. Balassundaram. 2004. Studies on the morphometry of *Macrobrachium nobilii* (Decapoda, Palaemonidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* **47**:441-449.
- McMillen-Jackson, A. L., e T. M. Bert. 2003. Disparate patterns of population genetic structure and populations history in two sympatric penaeid shrimp species (*Farfantepenaeus aztecus* and *Litopenaeus setiferus*) in the eastern United States. *Molecular Ecology* **12**:2895-2905.
- Melo, J. G. d., J. A. d. Oliveira, V. L. Lopes, J. B. D. Filho, M. B. Vasconcelos, e F. H. R. d. Silva. 2005. Avaliação integrada dos recursos de águas subterrâneas e superficiais da Bacia do rio Boqueirão, a oeste de Touros, RN. *Águas Subterrâneas* **19**:121-136.
- Menotti-Raymond, M. A., e S. J. Obrien. 1995. Evolutionary conservation of 10 microsatellite loci in 4 species of Felidae. *Journal of Heredity* **86**:319-322.

- Ministério do Meio Ambiente. 2004. Lista Nacional das espécies de invertebrados aquáticos e peixes ameaçados de extinção. Diário Oficial da União, Instrução Normativa nº 5 de 21 de Maio.
- Moore, S. S., L. L. Sargeant, T. J. King, J. S. Mattick, M. Georges, e D. J. S. Hetzel. 1991. The Conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species. *Genomics* **10**:654-660.
- Nakagaki, J. M., M. L. Negreiros-Fransozo, e A. Fransozo. 1995. Composição e abundância de camarões marinhos (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) na enseada de Ubatuba, Ubatuba (SP), Brasil. *Arquivos de Biologia Tecnológica* **38**:583 - 591.
- Narum, S. R. 2006. Beyond Bonferroni: Less conservative analyses for conservation genetics. *Conservation Genetics* **7**:783-787.
- Paetkau, D., W. Calvert, I. Stirling, e C. Strobeck. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* **4**:347-354.
- Palma, J., e J. P. Andrade. 2002. Morphological study of *Diplodus sargus*, *Diplodus puntazzo*, and *Lithognathus mormyrus* (Sparidae) in the Eastern Atlantic and Medetiranean Sea. *Fisheries Research* **57**:1-8.
- Palumbi, S. R. 1992. Marine speciation on a small planet. *Trends in Ecology & Evolution* **7**:114-118.
- Palumbi, S. R. 1994. Genetic-divergence, reproductive isolation, and marine speciation *Annual Review of Ecology and Systematics* **25**:547-572.
- Parsons, K. J., B. W. Robinson, e T. Hrbek. 2003. Getting into shape: An empirical comparison of traditional truss-based morphometric methods with a newer

- geometric method applied to New World ciclids. *Environmental Biology of Fishes* **67**:417-431.
- Pauly, D., V. Christensen, S. Guenette, T. J. Pitcher, U. R. Sumaila, C. J. Walters, R. Watson, e D. Zeller. 2002. Towards sustainability in world fisheries. *Nature* **418**:689-695.
- Pawson, M. G., e S. Jennings. 1996. A critique of methods for stock identification in marine capture fisheries. *Fish and Fisheries* **25**:203-217.
- Pepin, L., Y. Amigues, A. Lepingle, J. L. Berthier, A. Bensaid, e D. Vaiman. 1995. Sequence conservation of microsatellites between *Bos taurus* (cattle), *Capra hircus* (goat) and related species. Examples of use in parentage testing and phylogeny analysis. *Heredity* **74**:53-61.
- Pérez-Castañeda, e O. Defeo. 2001. Population variability of four sympatric Penaeid shrimps (*Farfantepenaeus spp.*) in a tropical coastal Lagoon of Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **52**:631-641.
- Pérez-Farfante, I., e B. Kensley. 1997. Penaeoidea and Sergestoidea shrimps and prawns of the World. Key and diagnoses for the families and genera. Éditions du Muséum national d'Historie naturelle, Paris.
- Petit, R. J., A. El Mousadik, e O. Pons. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* **12**:844-855.
- Philipp, D. P., J. M. Epifanio, e M. J. Jennings. 1993. Point-Counterpoint - Conservation genetics and current stocking practices - Are they compatible? . *Fisheries* **18**:14-17.
- Pinheiro, A. P. 2004. Biodiversidade de Penaeoidea (Crustacea: Decapoda) do litoral Norte do Estado de São Paulo. Dissertação. UNESP, Botucatu.

- Pritchard, J. K., M. Stephens, e P. Donnelly. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* **155**:945-959.
- Rannala, B., e J. L. Mountain. 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**:9197-9201.
- Raymond, M., e F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity* **86**:248-249.
- Rice, W. R. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution* **43**:223-225.
- Robainas, A., M. Monnerot, M. Solignac, N. Dennenbouy, G. Espinosa, e García-Machado. 2002. Microsatellite loci from the pink shrimp *Farfantepenaeus notialis* (Crustacea, Decapoda). *Molecular Ecology Notes* **2**:344-345.
- Salles, R. d., A. A. Fonteles-Filho, M. A. A. Furtado-Neto, S. M. Carr, e S. M. d. Freitas. 2006. Morphometric and mitochondrial DNA analyses of the Caribbean red snapper, *Lutjanus purpureus* (Teleostei, Lutjanidae), in western Atlantic off northern Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca Sao Paulo* **32**:115-125.
- Sánchez, A. J., e L. A. Soto. 1993. Distribución de camarones inmaduros (Decapoda, Penaeidae) en el sistema lagunar de Alvarado, Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical* **41**:81-88.
- Santos, M. C. F. 2000. Biologia e pesca de camarões marinhos ao largo de Maragogi (Alagoas-Brasil). *Boletim tecnico cientifico do CEPENE* **8**:99-129.
- Santos, M. C. F., e A. E. T. d. S. Freitas. 2000. Pesca e biologia dos Peneídeos (Crustacea, Decapoda) capturados no município de Barra de Santo Antônio (Alagoas-Brasil). *Boletim tecnico cientifico do CEPENE* **8**:73-98.
- Santos, M. C. F., e C. T. C. Ivo. 2000. Pesca, Biologia e Dinâmica populacional do camarão *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda,

- Penaeidae), capturado em frente ao município de Caravelas (Bahia-Brasil). Boletim tecnico cientifico do CEPENE **8**:131-164.
- Santos, S., T. Hrbek, I. P. Farias, H. Schneider, e I. Sampaio. 2006. Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Molecular Ecology* **15**:4361-4373.
- Schaefer, K. M. 1989. Morphometric analyses of Yellowfin tuna *Thunnus albacares* from the Pacific Ocean. *Inter-American Tropical Tuna Commition* **19**:389-427.
- Schuelke, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* **18**:233-234.
- Silva, A. F. 2000. O zoneamento ecológico-econômico como instrumento de gestão do território: o caso do estuário do Curimataú/Cunhaú (RN) e seu entorno. Tese. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Silva, T. B. 2007. Estudo populacional em camarões marinhos *Rimapenaeus constrictus* (Stimpson, 1874), baseados em dados genéticos e morfométricos. Dissertação. UFSCar, São Carlos.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* **236**:787-792.
- Somers, I. F., P. J. Crocos, e B. J. Hill. 1987. Distribution and abundance of the Tiger prawns *Penaeus esculentus* and *P. semisulcatus* in the north-western gulf of Carpentaria. *Australian journal of Marine and Freshwater Research* **38**:63-78.
- StatSoft, I. 2004. STATISTICA (data analysis software system).
- Stoner, A. W. 1988. A nursery ground for four tropical *Penaeus* species: Laguna Joyuda, Puerto Rico. *Marine Ecology - Progress Series* **12**:133-141.

- Strauss, R. E. 1985. Evolutionary allometry and variation in body form in the South American catsfish genus *Corydoras* (Callichthyidae). *Systematic Zoology* **34**:381-396.
- Sugaya, T., M. Ikeda, e N. Taniguchi. 2002. Relatedness structure estimated by microsatellites DNA and mitochondrial DNA polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms analyses in the wild population of kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Fisheries Science* **68**:793-802.
- Supungul, P., P. Sootanan, S. Klinbunga, W. Kamonrat, P. Jarayabhand, e A. Tassanakajon. 2000. Microsatellite Ploymorphism and the population structure of the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand. *Marine Biotechnology* **2**:339-347.
- Tapella, F., e G. A. Lovrich. 2006. Morphological differences between 'subrugosa' and 'gregaria' morphs of adult *Munida* (Decapoda : Anomura : Galatheidae) from the Beagle Channel, southern South America. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **86**:1149-1155.
- Tassanakajon, A., A. Tiptawonnukul, P. Supungul, V. Rimphanitchayakit, D. Cook, P. Jarayabhand, S. Klinbunga, e V. Boonsaeng. 1998. Isolation and characterization of microsatellite markers in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **7**:55-61.
- Tsoi, K., T. Chan, e K. Chu. 2007. Molecular population structure of the kuruma shrimp *Penaeus japonicus* species complex in western Pacific. *Marine Biology* **150**:1345-1364.
- Turan, C., M. Oral, B. Ozturk, e E. Duzgunes. 2006. Morphometric and meristic variation between stocks of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black,

- Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas. *Fisheries Research* **79**:139-147.
- Tzeng, T.-D. 2004. Stock identification of sword prawn *Parapenaeopsis hardwickii* in the East China Sea and Taiwan Strait inferred by morphometrics variation. *Fisheries Science* **70**:758-764.
- Tzeng, T.-D., e S.-Y. Yeh. 2002. Multivariate allometric comparisons for Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) off Taiwan. *Fisheries Research* **59**:279-288.
- Valles-Jimenez, R., P. Cruz, e R. Perez-Enriquez. 2005. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: Microsatellite DNA variation. *Marine Biotechnology* **6**:475-484.
- Voloch, C. M., e A. Solé-Cava. 2005. Genetic structure of the sea-bob shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri* Heller, 1862; Decapoda, Penaeidae) along the Brazilian southeastern coast. *Genetics and Molecular Biology* **28**:254-257.
- Wardiatno, Y., e A. Tamaki. 2001. Bivariate discriminant analysis for the identification of *Nihonotrypaea japonica* and *N-Harmandi* (Decapoda : Thalassinidea : Callinassidae). *Journal of Crustacean Biology* **21**:1042-1048.
- Weber, L. I., e J. A. Levy. 2000. Genetic population structure of the swimming crab *Callinectes danae* (Crustacea : Decapoda) in southern Brazil. *Hydrobiologia* **420**:203-210.
- Weir, B. S., e C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population-structure. *Evolution* **38**:1358-1370.
- Wenner, A. M. 1972. Sex ratio as a function in marine Crustacea. *The American Naturalist* **106**:321-350.
- Wilkinson, L., G. Blank, e C. Gruber. 1996. Desktop Data Analysis SYSTAT. Prentice Hall PTR.

- Wilson, I. J., e D. J. Balding. 1998. Genealogical Inference From Microsatellite Data. *Genetics* **150**:499-510.
- Winans, G. A., e R. S. Nishioka. 1987. A multivariate description on change in body shape of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during smoltification. *Aquaculture* **66**:235-245.
- Wirth, T., e L. Bernatchez. 2001. Genetic evidence against panmixia in the European eel. *Nature* **409**:1037-1040.
- Wright, S. 1978. Variability Within and Among Natural Populations. The University of Chicago Press. edition, Chicago.
- Xu, Z., A. K. Dhar, J. Wyrzykowski, e A. Alcivar-Warren. 1999. Identification of abundant and informative microsatellites from shrimp (*Penaeus monodon*). *Animal Genetics* **30**:150-156.
- Xu, Z., J. H. Primavera, L. D. d. l. Pena, P. Pettit, J. Belak, e A. Alcivar-Warren. 2001. Genetic diversity of wild and culture Black Tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. *Aquaculture* **199**:13-40.
- Zar, J. H. 1999. Biostatistical analysis. Fourth edition. Prentice Hall, New Jersey.
- Zitari-Chatti, R., N. Chatti, A. Elouaer, e K. Said. 2008. Genetic variation and population structure of the caramote prawn *Penaeus kerathurus* (Forsk.) from the eastern and western Mediterranean coasts in Tunisia. *Aquaculture Research* **39**:70-76.

Anexos

Anexo 01 – Relação das medidas obtidas para cada exemplar de *Farfantepenaeus brasiliensis* coletado nas localidades estudadas.

| Local | Sexo | Ct (mm) | Cc (mm) | Ca (mm) | Peso (g) |
|--------------|-------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| Baia Formosa | M | 94,6 | 24,8 | 64,8 | 9,67 |
| Baia Formosa | F | 133 | 34,7 | 87,7 | 29,32 |
| Baia Formosa | F | 113,5 | 32,2 | 75,6 | 18,4 |
| Baia Formosa | F | 120,8 | 31,2 | 83 | 21,7 |
| Baia Formosa | F | 116,4 | 33,3 | 80,2 | 21,6 |
| Baia Formosa | M | 91 | 23,2 | 63,7 | 8,96 |
| Baia Formosa | F | 102 | 27,2 | 71,4 | 13,86 |
| Baia Formosa | F | 100 | 26,1 | 68,1 | 12,93 |
| Baia Formosa | F | 112,7 | 30 | 79,4 | 19,02 |
| Baia Formosa | M | 88 | 21,9 | 60,1 | 7,2 |
| Baia Formosa | F | 113 | 29,8 | 78,5 | 18,2 |
| Baia Formosa | F | 87,2 | 24,5 | 59,4 | 7,92 |
| Baia Formosa | M | 91,9 | 24,8 | 65,3 | 10,07 |
| Baia Formosa | F | 114,9 | 31,3 | 77,4 | 19,86 |
| Baia Formosa | M | 91,4 | 23,8 | 69,1 | 10,46 |
| Baia Formosa | F | 115,4 | 32,6 | 81,6 | 22,95 |
| Baia Formosa | M | 99,7 | 24,8 | 69,1 | 11,47 |
| Baia Formosa | F | 114,2 | 31,8 | 76,9 | 21,71 |
| Baia Formosa | M | 93,8 | 24,4 | 69,8 | 10,71 |
| Baia Formosa | M | 95,4 | 23,5 | 65,3 | 9,86 |
| Baia Formosa | F | 121,9 | 31,9 | 83,3 | 22,71 |
| Baia Formosa | M | 97,4 | 24,3 | 69,8 | 10,95 |
| Baia Formosa | F | 122,6 | 32,5 | 82,7 | 23,46 |
| Baia Formosa | M | 92 | 23,7 | 68,2 | 10,61 |
| Baia Formosa | F | 114,4 | 32,2 | 80,2 | 20,82 |
| Baia Formosa | M | 92,5 | 22,8 | 65,2 | 9,27 |
| Baia Formosa | F | 123,2 | 32,7 | 87,2 | 23,93 |
| Baia Formosa | F | 116,1 | 31 | 79,8 | 21,06 |
| Baia Formosa | M | 94,5 | 23,6 | 66,3 | 9,99 |
| Baia Formosa | F | 116,9 | 31,7 | 81,8 | 22,47 |
| Baia Formosa | F | 102,3 | 25,9 | 71,6 | 13,05 |
| Baia Formosa | M | 97,8 | 26,8 | 69,3 | 12,43 |
| Baia Formosa | F | 107,3 | 29,5 | 75,3 | 16,19 |
| Baia Formosa | F | 100 | 26,9 | 71,6 | 12,92 |
| Baia Formosa | M | 82,4 | 20,9 | 59,5 | 6,74 |
| Baia Formosa | M | 93,2 | 24 | 65,5 | 10,2 |
| Baia Formosa | F | 124,1 | 34,3 | 88 | 25,37 |
| Diogo Lopes | F | 102,9 | 26,6 | 74,8 | 14,57 |
| Diogo Lopes | F | 68,7 | 16,7 | 50,8 | 3,69 |
| Diogo Lopes | F | 85,3 | 22,1 | 61,6 | 8,07 |
| Diogo Lopes | F | 61,9 | 16,4 | 45,1 | 2,74 |
| Diogo Lopes | M | 90,6 | 23,5 | 64,7 | 9,6 |
| Diogo Lopes | M | 92,2 | 23,1 | 67,4 | 9,47 |
| Diogo Lopes | M | 84,8 | 22,2 | 62,5 | 7,95 |
| Diogo Lopes | F | 121,1 | 33,3 | 85 | 23,23 |
| Diogo Lopes | M | 101,5 | 26,8 | 74,4 | 14,14 |
| Diogo Lopes | F | 86,3 | 21,3 | 61,4 | 7,6 |
| Diogo Lopes | F | 71,6 | 19,3 | 55,4 | 5,54 |
| Diogo Lopes | F | 92,6 | 24,4 | 65,2 | 10,01 |
| Diogo Lopes | F | 74,4 | 20,3 | 54 | 4,8 |
| Diogo Lopes | M | 89,6 | 22,2 | 63,2 | 7,68 |

| | | | | | |
|-------------|---|-------|------|------|-------|
| Diogo Lopes | F | 89,3 | 22,7 | 63,9 | 8,65 |
| Diogo Lopes | F | 81,3 | 21 | 59,4 | 6,58 |
| Diogo Lopes | F | 80,7 | 21,1 | 57,6 | 7,02 |
| Diogo Lopes | M | 71,2 | 15,7 | 50,6 | 3,96 |
| Diogo Lopes | F | 68,6 | 17,5 | 47,4 | 3,66 |
| Diogo Lopes | F | 68,3 | 17,5 | 48,7 | 4,21 |
| Diogo Lopes | M | 71,7 | 17,6 | 50,5 | 2,31 |
| Diogo Lopes | F | 56,7 | 14,6 | 41,9 | 2,56 |
| Diogo Lopes | F | 59,4 | 15,4 | 43 | 3,76 |
| Diogo Lopes | M | 55,8 | 13,9 | 39,6 | 1,98 |
| Diogo Lopes | F | 134,3 | 37,9 | 94 | 32,08 |
| Diogo Lopes | M | 74,3 | 18,9 | 55 | 5,14 |
| Diogo Lopes | F | 69,6 | 17,6 | 51 | 4,44 |
| Diogo Lopes | F | 73,2 | 18,6 | 52,8 | 4,85 |
| Diogo Lopes | M | 98,9 | 25,7 | 70,6 | 11,65 |
| Diogo Lopes | M | 62,8 | 16 | 47 | 3,32 |
| Diogo Lopes | F | 80,3 | 21 | 57,6 | 7,1 |
| Diogo Lopes | F | 80 | 20,7 | 58,1 | 6,77 |
| Touros | F | 117,7 | 32 | 84 | 21,34 |
| Touros | F | 115,9 | 30,6 | 83,5 | 21,18 |
| Touros | F | 123,2 | 33,5 | 88 | 24,79 |
| Touros | F | 130 | 35,1 | 91,9 | 27,8 |
| Touros | F | 132,5 | 36,6 | 94,4 | 31,22 |
| Touros | M | 100 | 25 | 72,3 | 12,03 |
| Touros | F | 122 | 32,7 | 88,1 | 26,07 |
| Touros | F | 138,2 | 37,4 | 99,2 | 35,78 |
| Touros | F | 122,9 | 32,9 | 86,6 | 24,33 |
| Touros | F | 119,7 | 32 | 85,1 | 23,13 |
| Touros | F | 128,4 | 35,5 | 90,5 | 29,73 |
| Touros | F | 130,7 | 34,8 | 92,2 | 29,04 |
| Touros | F | 119,6 | 32,8 | 84,9 | 24,23 |
| Touros | F | 115,9 | 30,6 | 82,9 | 20,36 |
| Touros | F | 130 | 35,3 | 91,8 | 30,19 |
| Touros | F | 123,2 | 32,8 | 87,3 | 24,87 |
| Touros | F | 112,1 | 29,6 | 79,7 | 18,82 |
| Touros | F | 110,2 | 29,2 | 80,1 | 18,27 |
| Touros | F | 128,8 | 35 | 92,1 | 29,45 |
| Touros | F | 124,3 | 33,8 | 88,7 | 27,17 |
| Touros | F | 123 | 33,6 | 87,3 | 26,58 |
| Touros | F | 122 | 32,5 | 86,7 | 24,21 |
| Touros | F | 133,3 | 37,6 | 95,6 | 35,3 |
| Touros | F | 117,4 | 32,2 | 85,3 | 22,63 |
| Touros | F | 105,9 | 28,7 | 77,3 | 16,21 |
| Touros | F | 125,9 | 35,3 | 90,1 | 27,3 |
| Touros | F | 117,9 | 31,9 | 82 | 22,11 |
| Touros | F | 114,8 | 30,4 | 83,7 | 21,14 |
| Touros | F | 114,5 | 30,4 | 83,2 | 20,17 |
| Touros | F | 114,9 | 30,9 | 82,8 | 20,87 |
| Touros | F | 103,9 | 30,7 | 81,5 | 19,27 |
| Touros | F | 124,5 | 29,8 | 88,3 | 26,05 |
| Touros | F | 124,3 | 29,7 | 87,2 | 27,02 |
| Touros | F | 114,1 | 30,4 | 81,6 | 19,73 |

| | | | | | |
|--------|---|-------|------|------|-------|
| Touros | F | 107,1 | 29,3 | 79,5 | 17 |
| Touros | F | 110,5 | 29,5 | 80 | 18,02 |
| Touros | F | 104,5 | 28,3 | 74,3 | 14,32 |
| Touros | F | 112,5 | 30,5 | 80 | 17,97 |
| Touros | M | 94,5 | 24,4 | 69,1 | 10,72 |
| Touros | F | 100,2 | 26,7 | 71,8 | 12,98 |
| Touros | M | 98,3 | 25,2 | 70,8 | 11,15 |
| Touros | F | 118,3 | 32 | 84,2 | 21,72 |
| Touros | F | 103,3 | 27,8 | 74,6 | 14,42 |
| Touros | M | 89,3 | 22,7 | 64,2 | 8,1 |
| Touros | F | 121,5 | 32,7 | 87,5 | 22,4 |
| Touros | M | 93,7 | 24,2 | 68,3 | 10,3 |
| Touros | F | 101,8 | 26,9 | 73,2 | 12,99 |
| Touros | M | 89 | 24,2 | 69 | 9,98 |
| Touros | M | 101,4 | 26,1 | 74,7 | 12,59 |
| Touros | M | 99,1 | 25,6 | 71,4 | 11,54 |
| Touros | M | 89,4 | 22,7 | 64,7 | 8,5 |

Anexo 02 – Frequência de ocorrência absoluta e relativa de cada alelo obtido em todas as populações e para todos os locos. Os alelos privados encontram-se destacados em negrito.

| Loco | alelo | BF | | TO | | DL | |
|--------|-----------------|----------|--------------|----------|--------------|----------|--------------|
| | | n | freq | n | freq | N | freq |
| Fbra01 | 1 | 4 | 0,064 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 2 | 1 | 0,016 | 0 | 0,00 | 0 | 0,000 |
| | 3 | 5 | 0,081 | 10 | 0,167 | 8 | 0,056 |
| | 4 | 7 | 0,113 | 6 | 0,100 | 8 | 0,148 |
| | 5 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 6 | 19 | 0,306 | 3 | 0,050 | 5 | 0,093 |
| | 7 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 8 | 7 | 0,1129 | 22 | 0,367 | 11 | 0,204 |
| | 9 | 2 | 0,032 | 1 | 0,017 | 2 | 0,037 |
| | 10 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 11 | 7 | 0,113 | 2 | 0,033 | 2 | 0,037 |
| | 12 | 3 | 0,048 | 2 | 0,033 | 4 | 0,074 |
| | 13 | 1 | 0,016 | 6 | 0,100 | 7 | 0,130 |
| | 14 | 1 | 0,016 | 5 | 0,083 | 1 | 0,018 |
| | 15 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 1 | 0,018 |
| | 16 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 17 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,018 |
| | 18 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,018 |
| | 19 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | N _a | 16 | | 11 | | 12 | |
| | N _{ap} | 6 | | 1 | | 2 | |
| Fbra02 | 1 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 2 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 3 | 11 | 0,177 | 13 | 0,217 | 16 | 0,296 |

| | | | | | | | |
|--------|-----------------|----------|--------------|----------|--------------|----------|--------------|
| | 4 | 22 | 0,355 | 16 | 0,267 | 9 | 0,167 |
| | 5 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 6 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 7 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 8 | 9 | 0,145 | 4 | 0,067 | 4 | 0,074 |
| | 9 | 9 | 0,145 | 12 | 0,200 | 10 | 0,185 |
| | 10 | 2 | 0,032 | 6 | 0,100 | 2 | 0,037 |
| | 11 | 4 | 0,065 | 1 | 0,017 | 2 | 0,037 |
| | 12 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 2 | 0,037 |
| | 13 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 14 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 2 | 0,037 |
| | 15 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 16 | 2 | 0,032 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 17 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 18 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 19 | 0 | 0,000 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 20 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 21 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | N _a | 10 | | 13 | | 15 | |
| | N _{ap} | 0 | | 6 | | 4 | |
| | 1 | 2 | 0,032 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 2 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 3 | 7 | 0,113 | 6 | 0,100 | 7 | 0,130 |
| | 4 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 5 | 2 | 0,032 | 4 | 0,067 | 2 | 0,037 |
| | 6 | 9 | 0,145 | 2 | 0,033 | 5 | 0,093 |
| | 7 | 38 | 0,613 | 39 | 0,650 | 23 | 0,426 |
| | 8 | 2 | 0,032 | 5 | 0,083 | 6 | 0,111 |
| Fbra03 | 9 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 10 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 3 | 0,056 |
| | 11 | 0 | 0,000 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 12 | 2 | 0,032 | 1 | 0,017 | 1 | 0,019 |
| | 13 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 14 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 15 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 2 | 0,037 |
| | N _a | 7 | | 8 | | 13 | |
| | N _{ap} | 0 | | 1 | | 7 | |
| Fbra04 | 1 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 2 | 1 | 0,016 | 3 | 0,050 | 4 | 0,074 |
| | 3 | 2 | 0,032 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 4 | 0 | 0,000 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 5 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 6 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 7 | 0 | 0,000 | 3 | 0,050 | 2 | 0,037 |
| | 8 | 0 | 0,000 | 3 | 0,050 | 0 | 0,000 |
| | 9 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 10 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 11 | 2 | 0,032 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |

| | | | | | | | |
|--------|-----------------|----------|--------------|----------|--------------|----------|--------------|
| | 12 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 13 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 14 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 2 | 0,037 |
| | 15 | 0 | 0,000 | 2 | 0,033 | 8 | 0,148 |
| | 16 | 14 | 0,226 | 6 | 0,100 | 5 | 0,093 |
| | 17 | 0 | 0,000 | 4 | 0,067 | 3 | 0,056 |
| | 18 | 14 | 0,226 | 10 | 0,167 | 8 | 0,148 |
| | 19 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 20 | 4 | 0,065 | 2 | 0,033 | 2 | 0,037 |
| | 21 | 1 | 0,016 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 22 | 2 | 0,032 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 23 | 3 | 0,048 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 24 | 7 | 0,113 | 5 | 0,083 | 0 | 0,000 |
| | 25 | 2 | 0,032 | 0 | 0,000 | 2 | 0,037 |
| | 26 | 0 | 0,000 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 27 | 2 | 0,032 | 2 | 0,033 | 2 | 0,037 |
| | 28 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 2 | 0,037 |
| | 29 | 2 | 0,032 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 30 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 31 | 2 | 0,032 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 32 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 33 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 2 | 0,037 |
| | 34 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 35 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 5 | 0,093 |
| | 36 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 37 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 38 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 39 | 0 | 0,000 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | N _a | | 18 | | 24 | | 20 |
| | N _{ap} | | 5 | | 8 | | 8 |
| Fbra05 | 1 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 2 | 0,037 |
| | 2 | 4 | 0,065 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 3 | 3 | 0,048 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 4 | 2 | 0,032 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 5 | 5 | 0,081 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 6 | 2 | 0,032 | 1 | 0,017 | 1 | 0,019 |
| | 7 | 1 | 0,016 | 1 | 0,017 | 0 | 0,000 |
| | 8 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 |
| | 9 | 0 | 0,000 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| | 10 | 1 | 0,016 | 2 | 0,033 | 2 | 0,037 |
| | 11 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 2 | 0,037 |
| | 12 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| | 13 | 1 | 0,016 | 1 | 0,017 | 3 | 0,056 |
| | 14 | 1 | 0,016 | 0 | 0,000 | 3 | 0,056 |
| | 15 | 0 | 0,000 | 2 | 0,033 | 4 | 0,074 |
| | 16 | 2 | 0,032 | 2 | 0,033 | 3 | 0,056 |
| | 17 | 13 | 0,210 | 16 | 0,267 | 4 | 0,074 |
| | 18 | 1 | 0,016 | 1 | 0,017 | 3 | 0,056 |

| | | | | | | |
|-----------------|----|-------|----|-------|----------|--------------|
| 19 | 5 | 0,081 | 8 | 0,133 | 5 | 0,093 |
| 20 | 6 | 0,097 | 3 | 0,050 | 8 | 0,148 |
| 21 | 0 | 0,000 | 3 | 0,050 | 3 | 0,056 |
| 22 | 1 | 0,016 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| 23 | 4 | 0,065 | 3 | 0,050 | 1 | 0,019 |
| 24 | 3 | 0,048 | 1 | 0,017 | 6 | 0,111 |
| 25 | 0 | 0,000 | 0 | 0,000 | 1 | 0,019 |
| 26 | 4 | 0,065 | 7 | 0,117 | 2 | 0,037 |
| 27 | 2 | 0,032 | 2 | 0,033 | 0 | 0,000 |
| N _a | 20 | | 19 | | 18 | |
| N _{ap} | 3 | | 1 | | 4 | |

N_a = número de alelos;

N_{ap} = número de alelos privados