

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

TESE DE DOUTORADO

**“ESTRUTURAÇÃO POPULACIONAL DO CAMARÃO-ROSA
SOBRE-EXPLOTADO *FARFANTEPENAEUS PAULENSIS*
(PÉREZ FARFANTE, 1967) NO LITORAL SUL-SUDESTE
BRASILEIRO E SEU SIGNIFICADO PARA A CONSERVAÇÃO”**

ARTUR DE LIMA PRETO

SÃO CARLOS, SP

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

**“ESTRUTURAÇÃO POPULACIONAL DO CAMARÃO-ROSA SOBRE-
EXPLOTADO *FARFANTEPENAEUS PAULENSIS* (PÉREZ FARFANTE,
1967) NO LITORAL SUL-SUDESTE BRASILEIRO E SEU SIGNIFICADO
PARA A CONSERVAÇÃO”**

DOUTORANDO: ARTUR DE LIMA PRETO

ORIENTADOR: 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 Ciências, área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

- SÃO CARLOS, SP -

2009

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

P942ep

Preto, Artur de Lima.

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

68 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2009.

1. Genética de populações. 2. Genética da conservação.
3. *Farfantepenaeus paulensis*. 4. Camarão. 5. Estrutura
populacional. I. Título.

CDD: 575.15 (20^a)

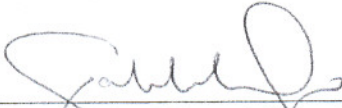
Artur de Lima Preto

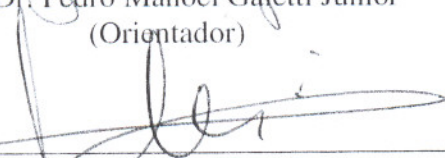
**Estruturação populacional do camarão-rosa sobre-explotado
Farfantepenaeus paulensis (Pérez Farfante, 1967) no litoral sul-sudeste
brasileiro e seu significado para a conservação**

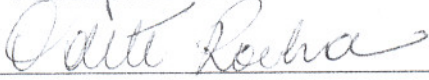
Tese apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

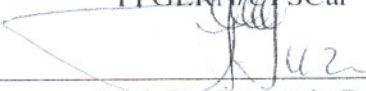
Aprovada em 18 de fevereiro de 2009


BANCA EXAMINADORA


Presidente 
Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Júnior
(Orientador)

1º Examinador 
Prof. Dr. Nivaldo Nordi
PPGERN/UFSCar

2º Examinador 
Profa. Dra. Odete Rocha
PPGERN/UFSCar

3º Examinador 
Prof. Dr. Fernando D'Incao
FURG/Rio Grande-RS

4º Examinador 
Profa. Dra. Patrícia Domingues de Freitas
UFBA/Salvador-BA


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

“Dedico esta tese à minha família, em especial aos meus pais e a meu irmão, pessoas estas que incondicionalmente me apoiaram em todas as minhas decisões, sem as quais a conclusão deste trabalho não seria possível”.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer em primeiro lugar ao meu orientador Pedro Manoel Galetti Junior, pela oportunidade concedida e pela confiança depositada em todas as fases deste trabalho;

À FAPESP pela concessão da bolsa de estudos e de recursos, sem os quais a conclusão desta tese seria muito mais difícil;

À banca examinadora pelas críticas e sugestões, que só vieram a enriquecer este trabalho;

A toda a minha família, que sempre esteve do meu lado, me apoiando;

À Karina, que me apoiou em todos os momentos, mantendo-se firme ao meu lado nas dificuldades e nas alegrias;

Aos professores e pesquisadores Luciano Jensen (Instituto de Pesca-SP) Adilson Fransozo (UNESP-Botucatu), Rogério Costa (UNESP-Bauru), Joaquim Olinto Branco (UNIVALI-SC), Wilson Wasielesky (FURG-RS) e Ronaldo Cavalli (UFRPE-PE), além dos amigos Alce, Ervilha, Zerbini, Aninha, Paulo, Helinho e Tito, sem os quais não seria possível a realização das coletas;

Aos amigos e colegas que conheci durante este doutorado e também àqueles que já me acompanham há tempos, sendo que cada um ajudou à sua maneira;

Aos professores do Departamento de Genética e Evolução, pelas conversas, discussões e sugestões;

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

Muito Obrigado.

Sumário

Resumo	1
Abstract	2
Introdução	3
Apresentação	4
Identificação de populações em espécies marinhas e sua importância	7
Estruturação populacional em espécies marinhas	8
Ferramentas utilizadas em estudos de estrutura populacional	10
Estudos de estrutura populacional relativos a <i>Farfantepenaeus paulensis</i>	15
Características ambientais da área de ocorrência de <i>F. paulensis</i> na costa brasileira	17
Características geológicas	17
Bioma e vegetação	18
Clima e Correntes Marinhas	19
Objetivos	21
Material e métodos	23
Locais de coleta	24
Extração de DNA	26
Amplificação dos microssatélites e eletroforese	26
Análises estatísticas	29
Análises morfométricas	29
Análises moleculares	30
Resultados	32
Análises morfométricas	33
Análises moleculares	36
Discussão	43
Conclusões	55
Referências	57

RESUMO

Farfantepenaeus paulensis, popularmente conhecida como camarão-rosa, é uma espécie que se distribui naturalmente desde Ilhéus (BA) até Mar Del Plata, na Argentina, e representa uma fonte de renda para muitas famílias de pescadores brasileiros. O estudo de sua estrutura populacional, com o uso de análises morfométricas e marcadores microssatélites, pode dar subsídios para o desenvolvimento de programas de manejo e conservação. Este trabalho teve como objetivo estudar a estrutura populacional de *F. paulensis* nas regiões sudeste e sul da costa brasileira, por meio do uso de marcadores microssatélites e da análise de seus padrões morfométricos. As coletas foram realizadas Na Lagoa dos Patos (RS), Lagoa de Santo Antônio (SC), Rio Itajaí-Açu (SC), Baía de Babitonga (SC) e no município de Cananéia (SP). Embora as análises morfométricas univariada e multivariada tenham exibido diferentes graus de diferenciação entre os locais estudados, os resultados das análises dos marcadores microssatélites e da análise morfométrica multivariada mostraram a possível ocorrência de quatro populações de *F. paulensis*. Os resultados obtidos neste estudo são de grande valia para o desenvolvimento de futuros programas de conservação desta espécie, de forma que este recurso não seja esgotado pela sobre-pesca, garantido a atividade pesqueira da geração atual e das gerações futuras.

ABSTRACT

Farfantepenaeus paulensis, also known as pink shrimp, is a shrimp species usually found from Ilhéus (Bahia, Brazil) to Mar Del Plata (Argentina) and represents an important employment source for many Brazilian fisher's families. The study of its population structure using morphometrical parameters and microsatellites markers may provide basis for conservation programs. The purpose of this study is to analyze the population structure of pink shrimp *F. paulensis* at the Brazilian coast, in the south and southeast regions, using microsatellite markers and its morphometrical parameters. The shrimps were sampled in Patos Lagoon (RS), St. Antônio Lagoon (SC), Itajaí-Açu River (SC), Babitonga Bay (SC) and Cananéia City (SP). Although univariate and multivariate morphometric analyses had shown different population structure degrees between the studied places, the results of both microsatellites markers and multivariate morphometric analyses showed the possibility of the occurrence of four *F. paulensis* populations. The results of this study are of great value to the development of future programs for the conservation of this species, so that this resource is not depleted by over-fishing, fishing activity guaranteed to the current generation and future generations.

INTRODUÇÃO

APRESENTAÇÃO

Farfantepenaeus paulensis, popularmente conhecida como camarão-rosa, é uma espécie que se distribui naturalmente de Ilhéus (BA) a Mar Del Plata, na Argentina (D'Incao 1995) (Figura 01). Os adultos são encontrados na plataforma continental, principalmente em frente aos estados de Santa Catarina e São Paulo, e neste último entre os municípios de Santos e São Sebastião (Zenker e Agnes 1977). Habitam preferencialmente profundidades entre 40 e 60 metros e possuem como características o sedentarismo na fase adulta, a não formação de cardumes, a preferência por viverem em fundos de areia, areia lodosa ou cascalho, além de apresentarem atividade predominantemente noturna e hábito de se enterrarem no sedimento (Iwai 1978).

Trata-se de uma espécie que se reproduz o ano inteiro, com picos de reprodução no outono e na primavera (Brisson 1977), sendo seu ciclo de vida semelhante ao de muitos outros peneídeos: a reprodução e desova ocorrem em águas sobre a plataforma continental, resultando em ovos demersais que posteriormente originam larvas planctônicas, no estágio inicial de náuplios. Estes náuplios, após passarem por seis sub-estágios, atingem o estágio de protozoa, composto por três sub-estágios, seguindo para o estágio de misis, que também engloba a passagem por três sub-estágios. O próximo estágio de desenvolvimento desta espécie é o estágio de pós-larva, composto por aproximadamente 24 sub-estágios, sendo que entre os sub-estágios quatro e 11 ocorre a migração destas pós-larvas para os estuários, onde adquirem o hábito bentônico. Estas pós-larvas permanecem neste ambiente até se tornarem sub-adultos, quando voltam para o oceano (Iwai 1978).

Apesar de *F. paulensis* ser um organismo que possui uma fase larval planctônica que, da mesma forma que muitas outras espécies marinhas com esta característica, pode ser amplamente dispersa pelas correntes marinhas (Palumbi 1992), resultando na ocorrência de populações panmíticas, sua característica sedentária na fase adulta pode desencadear um estreitamento da relação indivíduo-local, resultando na formação de diferentes grupos populacionais. Diferenças genéticas entre populações de peneídeos na costa brasileira já foram relatadas em *Litopenaeus schmitti* (Luvesuto 2006; Maggioni *et al.* 2003), *Farfantepeneaus brasiliensis* (Pinheiro 2008), *Xiphopenaeus kroyeri* (Gusmão *et al.* 2006; Voloch & Solé-Cava 2005) e *F. paulensis* (Gusmão *et al.* 2005).

No Brasil, a pesca deste camarão representa uma fonte de renda para muitas famílias de pescadores, sendo feita de duas formas: no oceano, na plataforma continental desde o Farol de São Tomé (RJ) até o Cabo de Santa Marta Grande (SC) (Iwai, 1978), onde são capturados indivíduos adultos, e nos estuários, a exemplo do que ocorre na Lagoa dos Patos (RS) (Wasielesky 2000), onde são capturados os juvenis.

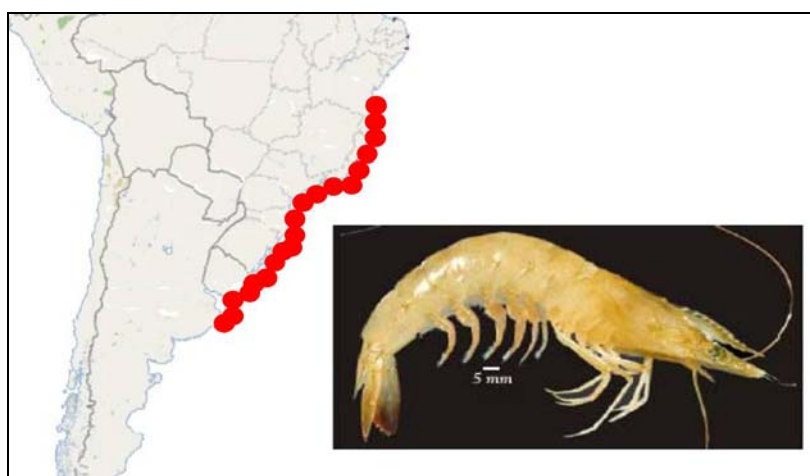


Figura 01: Área de ocorrência de *Farfantepeneaus paulensis* e vista de um exemplar da espécie.

Apesar da pesca desse camarão empregar muita mão-de-obra e sustentar muitas famílias, suas safras anuais têm oscilado muito nas últimas décadas, apresentando sinais de declínio do volume capturado, o que causa desemprego e diminuição significativa da renda de pessoas ligadas ao setor (Wasielisky 2000). Leite Jr. & Petrere Jr. (2006) analisaram a situação da pesca de duas espécies de camarão-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis*) nos municípios de Santos (SP) e Guarujá (SP), concluindo que sua pesca atingiu seu rendimento máximo sustentável.

Segundo D’Incao *et al.* (2002), a pesca de *F. brasiliensis* e *F. paulensis* na regiões sudeste e sul do Brasil já apresenta sinais evidentes de colapso, sendo observada nos últimos anos uma sensível diminuição de seu volume pescado (Figura 02). Os autores ainda relatam que, devido a essa queda na pesca de camarão-rosa, as frotas camaroeiras destas regiões foram obrigadas a direcionar o esforço de pesca para espécies até então pouco exploradas, tais como o camarão barba-ruça *Artemesia longinaris* e o camarão-santana *Pleoticus muelleri*. Recentemente, o Ministério do Meio Ambiente emitiu um relatório que classifica *F. paulensis* como espécie sobreexplorada ou ameaçada de sobreexploração (MMA 2004), o que torna mais evidente a situação crítica dos estoques desta espécie no ambiente.

Tendo em vista esta situação, torna-se necessária a adoção de programas de manejo em que o foco seja a conservação dos estoques naturais de *F. paulensis*, de forma que não ocorra o seu esgotamento pela pesca intensiva. Para que tais programas possam ser desenvolvidos, é importante que se conheça a estruturação populacional de *F. paulensis* no ambiente visto que, dada uma espécie, a identificação e o gerenciamento de cada grupo

populacional de forma individual pode assegurar sua sustentabilidade a longo prazo (Philipp *et al.* 1993).

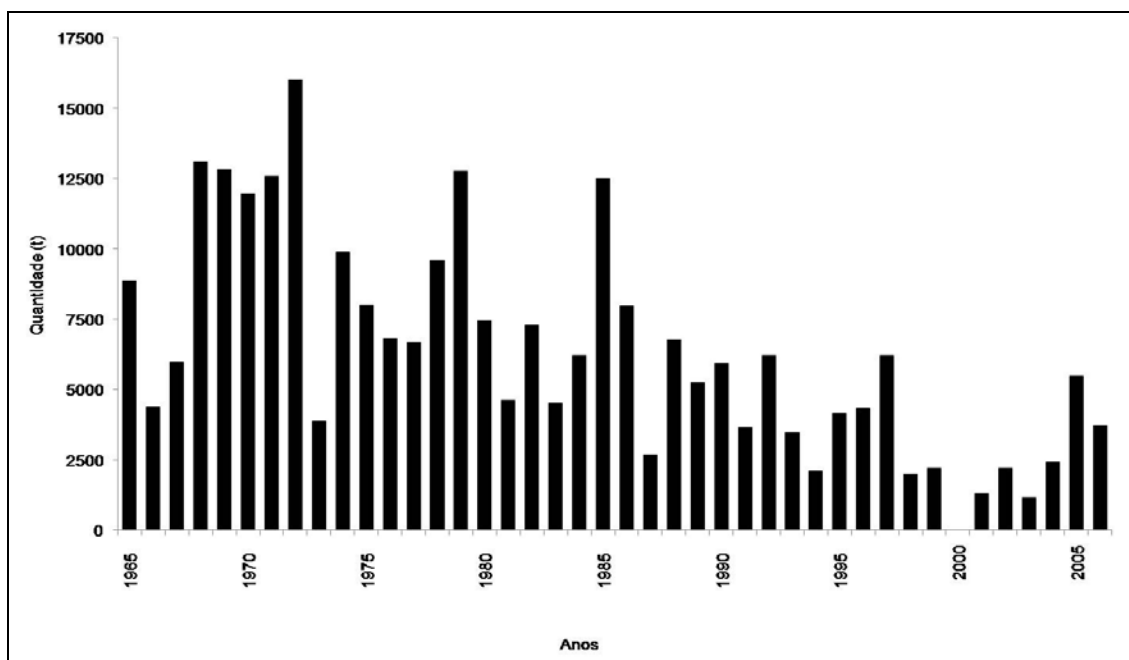


Figura 02: Pesca do camarão-rosa nas regiões sudeste e sul do Brasil. Não foi possível a obtenção dos dados da pesca do camarão-rosa do ano de 2000. Fonte: D’Incao *et al.* 2002, IBAMA (2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008).

IDENTIFICAÇÃO DE POPULAÇÕES EM ESPÉCIES MARINHAS E SUA IMPORTÂNCIA

População ou estoque (termo mais utilizado em biologia pesqueira) pode ser definido como um grupo de indivíduos de uma determinada espécie que persistem em um local com o passar do tempo (Booke 1981), ou ainda como um grupo intra-específico com indivíduos intercruzantes que se mantém íntegro espacial e temporalmente (Ihssen *et al.* 1981).

A identificação de estoques é parte integrante dos atuais levantamentos pesqueiros, que por sua vez são de extrema importância para o manejo de espécies marinhas ameaçadas. Todavia, apesar da importância da identificação dos estoques pesqueiros, observa-se uma escassez de

informações que permitam sua identificação, sendo que muitos levantamentos usam em sua metodologia modelos que assumem como homogêneas as características bióticas e abióticas das histórias de vida de diferentes estoques, onde estes passam a ser erroneamente considerados como apenas um estoque (Begg *et al.* 1999). Estes “erros” de levantamento são preocupantes, visto que uma correta identificação de estoques é decisiva na modelagem e monitoramento de programas de manejo mais específicos, assegurando sua sustentabilidade a longo prazo (Philipp *et al.* 1993).

A quantificação de características específicas de um grupo de indivíduos, sejam estas genóticas ou fenotípicas, permite inferências sobre seu grau de especiação, sendo esta decorrente de sua história de vida, do conjunto de fatores bióticos e abióticos ao qual este grupo esteve exposto. Este grau de diferenciação entre grupos de indivíduos dentro de uma espécie auxilia na definição de seus estoques (Allendorf *et al.* 1987, Palma & Andrade 2002).

ESTRUTURAÇÃO POPULACIONAL EM ESPÉCIES MARINHAS

O desenvolvimento de modelos adequados de isolamento reprodutivo (e conseqüentemente de especiação) em espécies marinhas tem desafiado muitos pesquisadores (Palumbi 1992). Isso acontece porque, ao contrário da maioria das espécies animais terrestres e de água doce, a capacidade reprodutiva e de dispersão dos animais marinhos geralmente é grande, visto que muitas espécies têm um longo período larval planctônico, o que facilita sua dispersão via correntes marinhas, além dos adultos reprodutores gerarem até milhões de ovos por ciclo reprodutivo (Palumbi 1992). Essa alta capacidade reprodutiva e de dispersão dá a estas espécies o potencial de formarem

grandes populações com um alto fluxo gênico, o que inibiria a ocorrência de isolamentos reprodutivos e, conseqüentemente, a estruturação de populações e a especiação (Palumbi 1992).

Todavia, embora certa homogeneidade genética dentro de espécies seja comum em ambientes marinhos, existem exemplos de estruturação populacional em espécies com alto potencial dispersivo (Palumbi 1994). Isso ocorre devido ao fato de o oceano não ser encarado por muitas espécies como um ambiente homogêneo, onde a ocorrência de barreiras não conspícuas tais como direção de correntes marinhas, gradientes de temperatura, áreas de ressurgência, diferentes formações geológicas e isolamentos por distância, pode levar à estruturação populacional destas espécies (Palumbi 1994). No caso de invertebrados marinhos, o fato de muitos deles possuírem alta capacidade de dispersão somente enquanto larvas, visto que apresentam mobilidade baixa ou nula quando adultos, também pode levar a uma estruturação de suas populações (Thorpe *et al.* 2000).

Estudos de estrutura populacional feitos com organismos de diversos taxa da fauna marinha apontam para a ocorrência de diferentes níveis de separação dentro de determinadas espécies, sendo observado em muitos casos algum nível de estruturação populacional e até mesmo a ocorrência de espécies crípticas (Gusmão *et al.* 2006, Tsoi *et al.* 2007).

FERRAMENTAS UTILIZADAS EM ESTUDOS DE ESTRUTURA POPULACIONAL

Como dito anteriormente, o estudo e a quantificação de caracteres fenotípicos e genotípicos de grupos de indivíduos auxilia na definição de estoques e populações dentro de uma espécie.

No estudo dos caracteres fenotípicos, a análise dos padrões morfométricos de grupos de indivíduos é uma poderosa ferramenta, onde as variações no crescimento, desenvolvimento e maturação sexual de diferentes grupos dentro de uma espécie fazem com que o formato corporal destes seja distinto (Cadrin 2000). Vale salientar que tais variações são resultado do desenvolvimento ontogenético de cada grupo associado à ação ambiental do local onde estes se encontram. Em outras palavras, a variação morfométrica entre grupos intra-específicos é resultado da adaptação destes às diferentes realidades às quais são expostos (Cadrin 2000).

Apesar de alguns pesquisadores ainda utilizarem análises morfométricas univariadas para estudos populacionais de animais marinhos (Sardà *et al.* 1998, Creasey *et al.* 2000), têm-se observado que o uso de análises multivariadas aumenta a possibilidade de detecção de diferentes grupos, visto que o desenvolvimento corporal de um indivíduo é multidimensional (Cadrin 2000).

Análises de relações morfométricas já foram utilizadas com êxito na identificação de diferentes estoques em diversas espécies aquáticas. Por meio deste tipo de análise, foi possível observar diferenças entre exemplares do peixe de água-doce *Astyanax scabripinnis* coletados em quatro pontos distribuídos nas bacias dos rios Ivaí, Paranapanema e Paraná, sendo que

estas diferenças corroboraram com os resultados obtidos em subseqüentes análises cariotípicas (Mizoguchi & Martins-Santos 1998). O estudo dos padrões morfométricos dos peixes marinhos *Diplodus sargus*, *Diplodus puntazzo* e *Lithognathus mormirus*, coletados em Portugal, Espanha, Itália e Grécia, indicaram que, em cada uma destas espécies, existem diferenças locais (Palma & Andrade 2002). No caso de um estudo realizado com a sardinha *Sardina pilchardus*, coletada em 14 pontos distribuídos entre o Mar do Norte e o Mar Mediterrâneo, a análise morfométrica multivariada possibilitou a observação de dois grupos distintos entre os locais estudados (Silva 2003). Já no caso do camarão *Marsupenaeus japonicus* coletado em cinco pontos da costa de Taiwan, a análise multivariada permitiu a identificação de dois estoques distintos desta espécie (Tzeng & Yeh 2002). Resultado semelhante ocorreu em um estudo realizado com o camarão *Parapenaeopsis hardwickii* coletados em seis pontos localizados no Mar Oriental da China e no estreito de Taiwan, nos quais foi observada a existência de três estoques deste camarão nos locais amostrados (Tzeng 2004).

O uso de técnicas genéticas para a identificação de estoques pesqueiros, por sua vez, tem sido crescentemente utilizada. Seu início se deu nas décadas de 1950 e 1960 com avaliações da tipagem sanguínea em peixes, passando a técnicas de eletroforese de proteínas e enzimas. Estas técnicas cederam espaço a análises de DNA mitocondrial e, com a popularização da PCR, a análises de fragmentos do DNA nuclear tais como RAPD, EPICs, AFLP e microssatélites (Ward 2000). Estas técnicas permitem identificar a ocorrência de isolamento reprodutivo entre grupos intra-específicos (Begg *et al.* 1999), e o uso conjunto destas técnicas com as análises morfométricas resulta em uma

poderosa ferramenta de identificação de estoques em espécies marinhas (Cadrin 2000).

Como exemplo do uso conjunto destas ferramentas, podemos citar o estudo de Vasconcelos *et al.* (2008) com a estrutura populacional do peixe marinho *Ocyurus chrysurus* em toda a costa brasileira e no Caribe, onde foram utilizadas a análise morfométrica multivariada e as análises moleculares de DNA mitocondrial e sistemas enzimáticos. Estes autores concluíram que, apesar da diferença encontrada entre os padrões morfométricos das populações brasileiras, não foi possível rejeitar a hipótese da panmixia desta espécie na costa brasileira devido à homogeneidade observada nas análises moleculares. Porém, os exemplares obtidos na costa brasileira apresentaram diferenças ao serem comparados com os animais do Caribe.

Sardà *et al.* (1998) estudaram a estrutura populacional do camarão *Aristeus antennatus* no Mar Mediterrâneo, desde Portugal até Israel, utilizando como ferramentas a análise de sistemas enzimáticos associada a análises morfométricas multivariada e univariada. Como no caso do estudo anterior, os autores observaram uma grande homogeneidade do padrão genético entre os camarões dos diferentes locais, embora tenham sido encontradas diferenças morfológicas. Essa contraposição entre os resultados das análises molecular e morfométrica levou os pesquisadores a sugerir o uso de marcadores moleculares mais sensíveis para esta análise, a fim de elucidar de que forma está estruturada a população desta espécie de camarão.

Outros trabalhos obtiveram resultados semelhantes, como o relatado por Creasey *et al.* (2000), ao estudarem a estrutura populacional da lagosta *Munidopsis scobina* em duas localidades próximas à costa de Omã, no Mar da

Arábia. Neste trabalho também foi realizada a análise de sistemas enzimáticos associada à análise de variância do comprimento de cefalotórax dos indivíduos estudados, não sendo encontradas diferenças locais ao nível molecular, embora tenham sido observadas diferenças de tamanho entre os diferentes locais e entre os sexos. Drengstig *et al.* (2000) avaliaram a estruturação populacional do camarão *Pandalus borealis* na costa da Noruega e arredores da Islândia, utilizando sistemas enzimáticos e, apesar do baixo polimorfismo obtido com os marcadores usados, foi observada a ocorrência de diferentes populações na área de estudo. Díaz-Jaimes *et al.* (2006) fizeram um estudo onde foi avaliada a estrutura de populações do camarão *Farfantepenaeus californiensis* em três pontos da costa oeste do México (Sinaloa, Michoacam e Oaxaca) utilizando a mesma técnica, sendo observada a ocorrência de duas populações distintas nos locais estudados. McMillen-Jackson & Bert (2003) caracterizaram e compararam os padrões da estrutura genética de *L. setiferus* e *Farfantepenaeus aztecus* coletados na costa leste dos Estados Unidos e do México, utilizando para isso a análise de DNA mitocondrial. Esses autores observaram a ocorrência de duas populações destas espécies na área estudada.

No Brasil, Voloch & Solé-Cava (2005) estudaram as populações do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* coletados nos municípios de Nova Almeida (ES), Cabo Frio (RJ) e Ubatuba (SP) com o uso de sistemas enzimáticos. Estes autores observaram uma diferenciação entre as populações de Ubatuba e do grupo de Cabo Frio e Nova Almeida, levando os autores concluir que a zona de ressurgência formada na área de Cabo Frio poderia

funcionar como uma possível barreira natural para estas populações, que resultaria em sua estruturação.

Nos últimos anos, muitos pesquisadores têm estudado a estruturação populacional em espécies marinhas com o uso de marcadores microssatélites, que nada mais são do que seqüências simples de bases repetidas em tandem, presentes no genoma de um determinado organismo (Ferreira & Grattapaglia 1998). A análise de microssatélites é, segundo Ward (2000), mais indicada a estudos de estrutura populacional em fina escala do que o uso de sistemas enzimáticos, devido ao fato dos microssatélites serem, segundo Ferreira & Grattapaglia (1998), marcadores com locos altamente polimórficos e codominantes, que permitirem a visualização de ambos os alelos de um indivíduo heterozigoto.

Com o uso de marcadores microssatélites, Xu *et al.* (2001), estudaram a variabilidade genética de exemplares selvagens de *Penaeus monodon* em quatro regiões das Filipinas, comparando-as com duas populações de cativeiro, e posteriormente traçaram um paralelo entre a variabilidade genética de *P. monodon* selvagens e a degradação dos mangues das áreas estudadas causada pelo cultivo intensivo de camarões. Ball & Chapman (2003) utilizaram marcadores microssatélites para estudar os padrões genético-populacionais de *Litopenaeus setiferus* coletados na costa leste dos Estados Unidos e México, desde a Carolina do Norte (EUA) até Baía de Campeche (México), observando a ocorrência de duas populações distintas.

Maggioni *et al.* (2003) conduziram uma pesquisa sobre a variabilidade genética e a estrutura populacional das populações naturais de *Litopenaeus schmitti* ao longo da costa brasileira, desde o município de São Luís (MA) até o

município de Tijucas (SC), utilizando marcadores microssatélites de *L. setiferus* e de *L. schmitti*. Foi observada a ocorrência de duas populações: uma no sul (de Tijucas a Santos) e outra no norte (de Vitória a São Luís). Borrell *et al.* (2004) avaliaram a diferenciação genética entre populações cubanas de camarão da mesma espécie, onde também foram utilizados marcadores microssatélites desenvolvidos para *L. setiferus* e *L. schmitti*, sendo observada a ocorrência de duas populações.

Valles-Jimenez *et al.* (2005) estudaram a estrutura populacional de *Litopenaeus vannamei* em quatro locais entre o México e Panamá utilizando cinco marcadores microssatélites, onde se observou a ocorrência de uma população para cada local estudado. Também com o uso de marcadores microssatélites, Ward *et al.* (2006) e Liu *et al.* (2006) estudaram, respectivamente, a estrutura populacional de *Penaeus esculentus* ao norte da Austrália e *Fenneropenaeus chinensis* na costa da China (Mares Amarelo e de Bohai e Costa Oeste), e ao sul da Península Coreana. Como resultado, observou-se a existência de diferentes populações de *P. esculentus* ao norte da Austrália e a ocorrência de duas populações distintas de *F. chinensis*, sendo uma na Península da Coréia e outra na Costa da China.

ESTUDOS DE ESTRUTURA POPULACIONAL RELATIVOS A *Farfantepenaeus paulensis*

Existem poucos estudos feitos sobre a estrutura populacional de *F. paulensis*.

Delevedove (1996) estudou a variabilidade genética de pós-larvas e juvenis de *F. paulensis* coletados no estuário da Lagoa dos Patos (RS), no município

de Laguna (SC) e no município de Porto Belo (SC), comparando-os com adultos coletados na costa catarinense. Para a realização da análise, foram utilizados 14 sistemas enzimáticos, sendo que sete eram monomórficos e o restante possuía um número de alelos por loco entre dois e cinco. Constatou-se uma pequena divergência genética entre os animais dos diferentes pontos de coleta, o que levou o autor a sugerir que as pós-larvas e os juvenis utilizados no estudo são descendentes da população adulta da costa de Santa Catarina.

Gusmão *et al.* (2005), por sua vez, utilizaram 11 sistemas enzimáticos para estudar a estrutura populacional de diversas espécies de camarão, inclusive de *F. paulensis*, sendo estes coletados nos municípios do Rio de Janeiro (RJ), Santos (SP), e na Lagoa dos Patos (RS). Foi observado um número de alelos por loco variando entre um e seis, sendo observada uma diferença significativa entre os animais do sul e do sudeste, sugerindo a existência de duas populações distintas entre o sudeste e o sul.

Todavia, os resultados obtidos nesses estudos com marcadores enzimáticos podem não expressar a variabilidade genética real destas populações visto que a técnica empregada apresenta como limitação um baixo polimorfismo, o que não permite uma cobertura completa do genoma do indivíduo, sendo que o uso de marcadores microsatélites em estudos genético-populacionais pode permitir a obtenção de resultados mais precisos (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Maggioni & Rogers (2002), ao desenvolverem marcadores microsatélites para três espécies do gênero *Farfantepenaeus* que ocorrem na costa brasileira, identificaram seis marcadores para *F. paulensis*, com número de alelos por

loco variando entre quatro e 20. Esses marcadores microssatélites, associados a marcadores microssatélites heterólogos, descritos para espécies do mesmo gênero, a exemplo dos descritos para *F. brasiliensis* (Francisco *et al.* 2008), podem permitir a avaliação da estrutura populacional de *F. paulensis*.

CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS DA ÁREA DE OCORRÊNCIA DE *F. paulensis* NA COSTA BRASILEIRA

Características geológicas

O local de ocorrência de *F. paulensis* na costa brasileira se dá, geologicamente, no Escudo Atlântico da Plataforma Sul-Americana, mais precisamente na Província Mantiqueira (Delgado *et al.* 2003) (Figura 03). A formação desta província teve início a aproximadamente 900 milhões de anos, passando por diversos eventos tectônicos até sua completa instalação a 500 milhões de anos. Esta província é caracterizada pela presença de rochas graníticas e por ser contínua em praticamente toda a costa brasileira e, desde sua completa instalação, os eventos geológicos em sua área de ocorrência limitam-se basicamente à ação da erosão e deposição de sedimentos (Delgado *et al.* 2003).

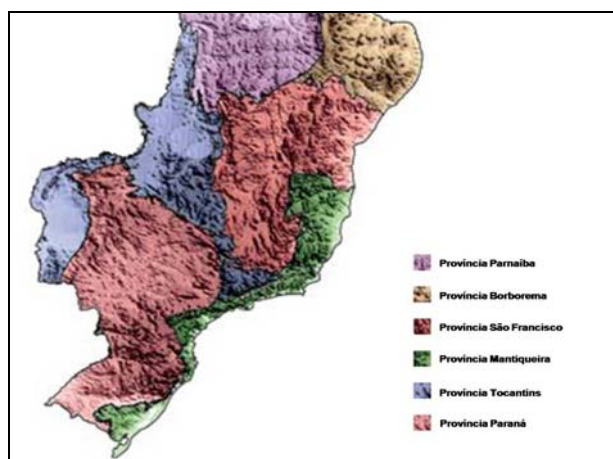


Figura 03: Províncias estruturais do Escudo do Atlântico que ocorrem em território brasileiro.

Bioma e vegetação

Na área de ocorrência de *F. paulensis* ocorrem, segundo IBGE (2007a), dois biomas: o bioma mata atlântica, que se estende do Rio Grande do Norte até o norte do Rio Grande do Sul, e o bioma pampa, que engloba toda a porção sul do Rio Grande do Sul (Figura 04).

Nas regiões costeiras do estado de São Paulo até o norte do Rio Grande do Sul, a vegetação é composta pela Floresta Ombrófila Densa, com a presença de mangues nas áreas estuarinas (IBGE 2007a). Essa vegetação se encontra em diversos estágios de degradação em virtude da ação antrópica, onde observamos ambientes com ação antrópica mínima, como no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, no município de Cananéia (SP), até ambientes onde a vegetação natural foi totalmente removida, como na barra do Rio Itajaí-Açu, no município de Itajaí (SC).

Na costa sul do Rio Grande do Sul ocorre a Formação Pioneira, sendo que nas áreas estuarinas ocorre a restinga (IBGE 2007a). A presença de diversas indústrias e da zona portuária na foz da Lagoa dos Patos, no município de Rio Grande (RS), mostra que também nessa região há forte ação antrópica, o que resulta na degradação de seu ambiente.

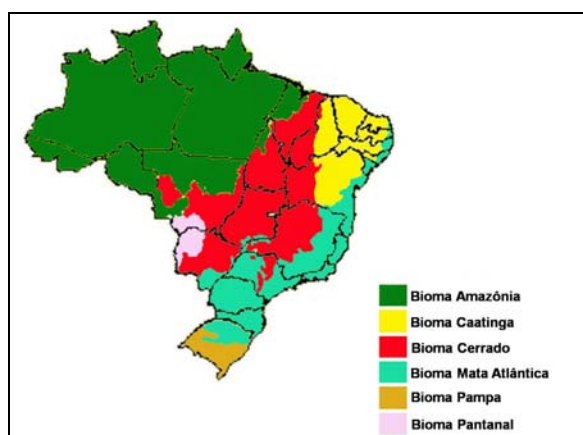


Figura 04: Biomas existentes no território brasileiro. Fonte: IBGE (2007a).

Clima e Correntes Marinhas

Nesta mesma área, ocorrem basicamente dois tipos de clima: o Tropical Brasil Central e o Temperado (IBGE 2007b) (Figura 05). O primeiro, com temperatura média anual entre 18° C e 20° C, abrange praticamente toda a costa da região sudeste. Este clima é ainda caracterizado, no litoral paulista, pela não ocorrência de períodos de estiagem (IBGE 2007b). O clima temperado, por sua vez, ocorre em praticamente toda a região sul, caracterizando-se por temperaturas médias anuais entre 10° C e 15° C e, no caso das áreas costeiras desta região, pela não ocorrência de seca (IBGE 2007b).

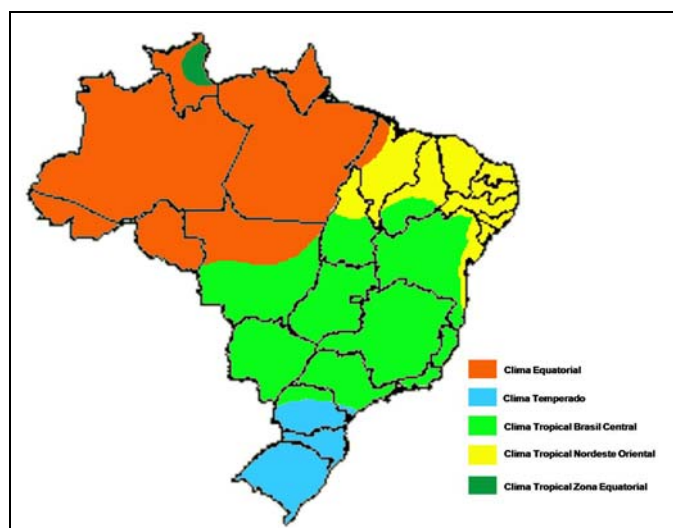


Figura 05: Climas que ocorrem em território brasileiro. Fonte: IBGE (2007b).

Em relação às correntes marinhas que atuam na área de ocorrência de *F. paulensis*, são observadas as correntes oceânicas do Brasil e das Malvinas, além da corrente costeira (Figura 06). No caso das correntes oceânicas, a primeira é derivada da Corrente Sul Equatorial que, ao se aproximar do litoral brasileiro, divide-se em duas: a Corrente das Guianas, que segue para o norte, e a Corrente do Brasil, que percorre a plataforma continental desde a região

nordeste até a altura do Rio da Prata, na Argentina, onde uma parte desvia para leste formando a Corrente do Atlântico Sul, e outra se aprofunda no oceano (D’Incao 1995). A Corrente das Malvinas, de origem sub-antártica, segue para norte distanciando-se da costa na latitude de Cabo Blanco, na Argentina (47° S). Esta corrente torna-se mais estreita quando atinge a latitude de Buenos Aires e, quando atinge a Zona de Convergência Subtropical, se aprofunda no oceano, sendo posteriormente detectada até mesmo em Cabo Frio (RJ) (D’Incao 1995).

Além das correntes oceânicas, observa-se também a ocorrência da corrente costeira, que atua diretamente na plataforma continental. Esta corrente apresenta, entre o município de Florianópolis e o Uruguai, sentido norte-sul no período de julho a março, com velocidade média de 0,9 nós, e sentido sul-norte no período de abril a junho, com velocidade média de 0,6 nós (D’Incao 1983).

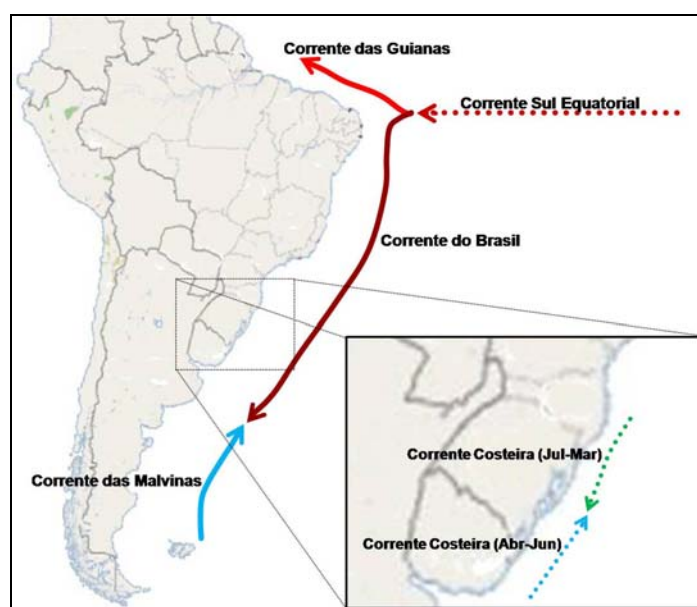


Figura 06: Correntes marinhas que ocorrem na costa brasileira.

OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar a estrutura populacional de *F. paulensis* no litoral das regiões sudeste e sul do Brasil, áreas de maior ocorrência deste camarão no litoral brasileiro, utilizando marcadores microssatélites e relações morfométricas. Com isso, pretendeu-se testar a hipótese de ocorrência de estruturação de populações de *F. paulensis* ao longo da costa sul-sudeste brasileira e auxiliar em futuras definições de conservação e manejo desses animais.

Com isso, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- Avaliar, através do uso de marcadores microssatélites, a estruturação populacional de *F. paulensis* das diferentes áreas estudadas;
- Verificar a variabilidade genética de *F. paulensis* em alguns pontos dentro de sua área de ocorrência, e compará-la com a de outras espécies de peneídeos já estudadas; e
- Verificar se há variações morfométricas em *F. paulensis* nas diferentes áreas de ocorrência brasileiras e compará-las com os resultados obtidos com a análise de microssatélites.

MATERIAL E MÉTODOS

LOCAIS DE COLETA

Foram coletados juvenis de *F. paulensis* nos estuários de Cananéia (SP), agora denominada CA (25°00'06,18''S 47°54'55,52''W), Baía de Babitonga (SC), denominada BB (26°15'76''S 48°38'53,65''W), Rio Itajaí-Açú (SC), denominado IR (26°55'00,97''S 48°39'06,36''W), Lagoa de Santo Antônio (SC), denominada SL (28°26'51.64''S 48°49'07.26''W) e Lagoa dos Patos (RS), denominada PL (32°02'35,81''S 52°09'23,60''W) (Figura 07). Estas coletas foram realizadas entre janeiro e fevereiro de 2006.

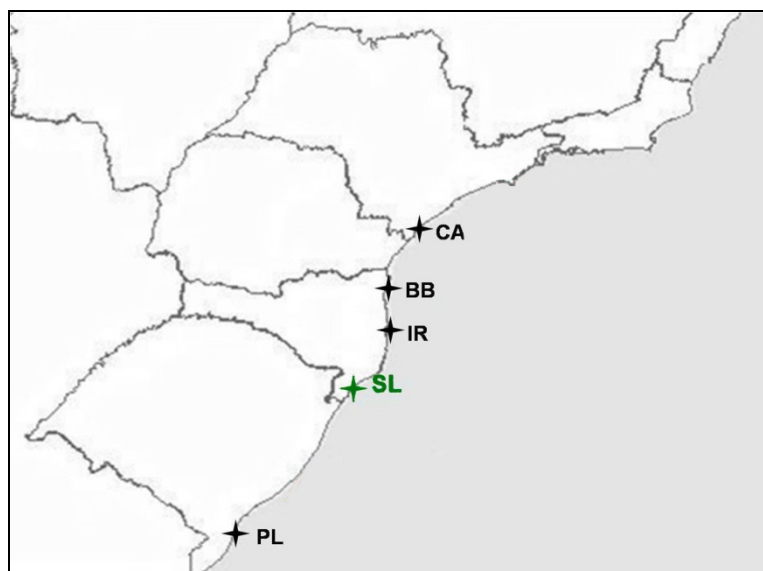


Figura 07: Locais onde foram realizadas as coletas de *F. paulensis*. CA: Cananéia (SP); BB: Baía de Babitonga (SC); IR: Rio Itajaí-Açú (SC); SL: Lagoa de Santo Antônio (SC); PL: Lagoa dos Patos (RS). Local de coleta em verde: amostras de tecido e DNA perdidas.

As coletas foram feitas à noite com redes de espera do tipo “saquinho” (Figura 08), sendo coletados 23 machos e 24 fêmeas em CA, 20 machos e 30 fêmeas em BB, 24 machos e 26 fêmeas em IR, 27 machos e 23 fêmeas em SL e 30 machos e 20 fêmeas em PL.

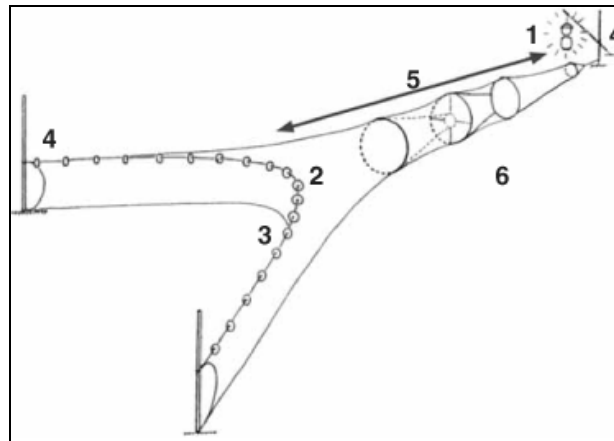


Figura 08: Desenho esquemático de rede de espera tipo saquinho. (1) atrativo luminoso; (2) tralha superior; (3) tralha inferior; (4) calões de sustentação; (5) saco da rede; (6) aros de sustentação do saco.

Para a análise morfométrica, os animais foram pesados individualmente e posteriormente foi feita a biometria de cada animal, onde foram medidos o comprimento total (Lt), o comprimento do cefalotórax (Lc) e o comprimento do abdômen (La), segundo D’Incao & Calazans (1978) (Figura 09). Pedacos de musculatura abdominal de cada exemplar foram retirados e imersos em etanol 100%, sendo posteriormente levados ao Laboratório de Biodiversidade Molecular e Citogenética do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos.

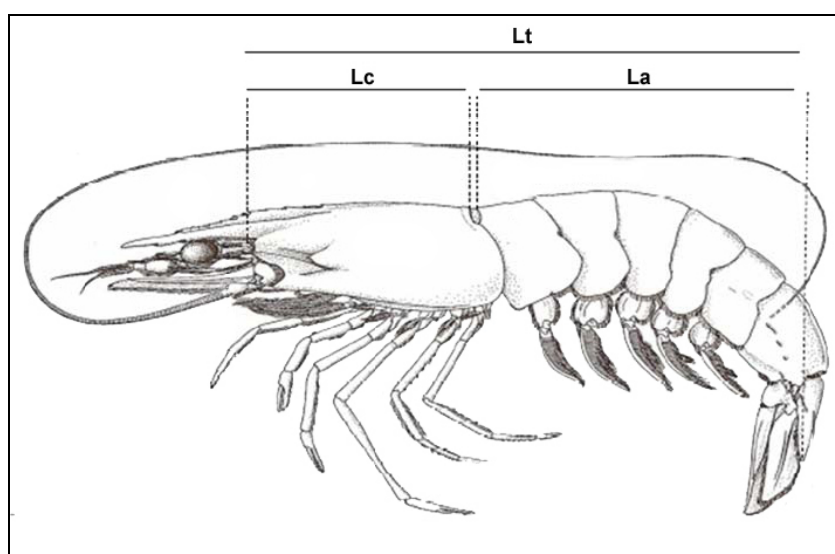


Figura 09: Variáveis utilizadas na análise morfométrica. Lt = comprimento total, Lc = comprimento de cefalotórax, La = comprimento do abdômen. Imagem extraída e modificada de Luvesuto (2006).

EXTRAÇÃO DE DNA

Para a extração do DNA total dos tecidos amostrados foi adotada a técnica de extração descrita em D'Amato & Corach (1996) modificada, conforme protocolo que segue: foi realizada a homogeneização de 10 mg de tecido de cada animal coletado em 700 µl de tampão (brometo de cetiltrimetilamônio 2%; NaCl 1,4 M; EDTA pH = 8 a 20 mM; Tris HCl pH = 8 a 100mM). Depois se adicionou 1,4 µl de β-Mercaptoetanol e 0,7 µl de proteinase K 20 mg/ml (Cf = 400 µg/µl). As amostras foram incubadas a 50 - 60°C por um período mínimo de 3h, sendo depois acrescentado 700 µl de Clorofórmio/Álcool isoamílico 24:1. As amostras foram misturadas por inversão até que a solução se tornasse homogênea e depois centrifugadas por 5 min a 13.000 rpm. O material sobrenatante dos tubos foi transferido para novos tubos, onde foram acrescentados um décimo do volume deste sobrenatante de acetato de sódio 5 M e 60% do volume resultante de isopropanol 100% gelado, sendo as amostras posteriormente incubadas a -20°C *over night*. Após a incubação, as amostras foram centrifugadas por 20 min a 14.000 rpm, lavadas com 1 ml de etanol 70% gelado e centrifugadas por 5 min 13.000 rpm. Após a centrifugação, o DNA foi seco em estufa a 37° C e ressuspendido em uma solução de 50 µl de TE e 1 µl de RNase 20 mg/ml.

AMPLIFICAÇÃO DOS MICROSSATÉLITES E ELETROFORESE

Para as reações de PCR, foi adotado o protocolo descrito por Schuelke (2000), que consiste na adição de uma seqüência de 18 bases (cauda M13) na terminação 5' do primer *forward* do microssatélite utilizado, além do acréscimo

na solução de reação de seqüências M13 fluorescentes livres, as quais se ligam aos fragmentos de DNA amplificados pela PCR (Figura 10).

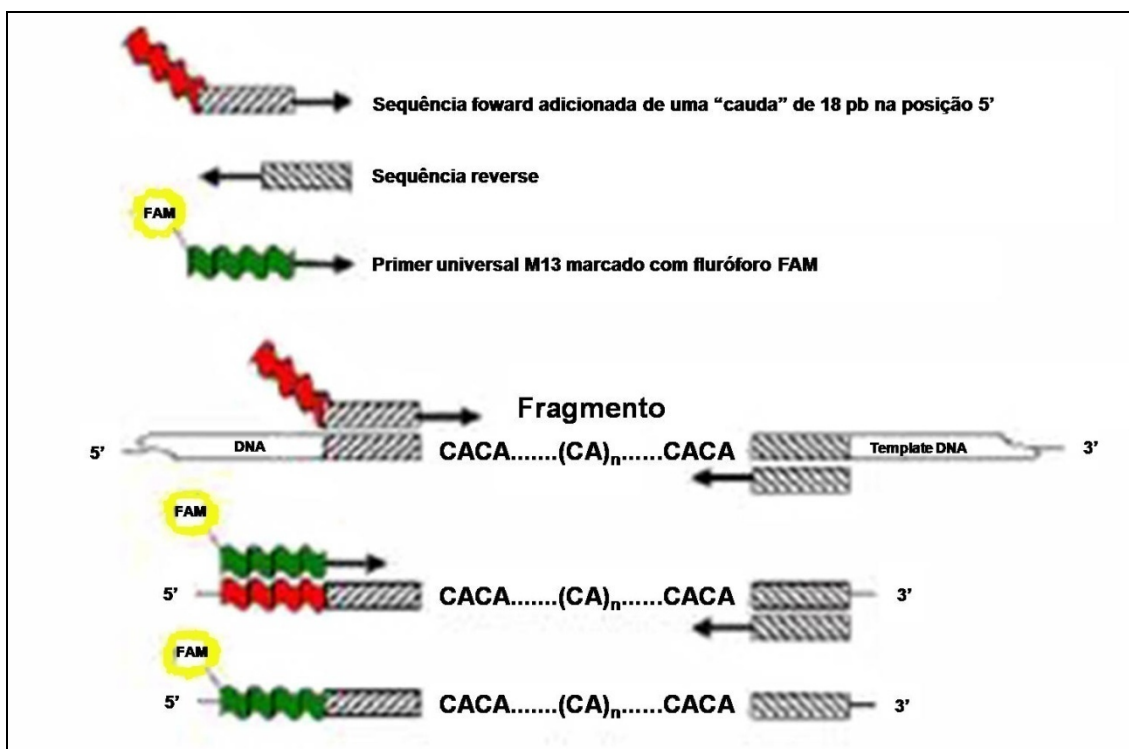


Figura 10: Ilustração do funcionamento do protocolo descrito por Schuelke (2000) para a amplificação do fragmento de interesse associado a um fluoróforo.

Para a realização deste estudo, foram utilizados pares de *primers* descritos por Maggioni & Rogers (2002) para *F. paulensis* e pares de *primers* heterólogos descritos por Francisco *et al.* (2008) para *F. brasiliensis* (Tabela 01).

As reações de PCR foram testadas, variando-se os fabricantes e as concentrações dos componentes da reação (Solução tampão, MgCl₂, DNA, dNTP, *primer*, Taq DNA polimerase), além da temperatura de anelamento dos pares de primers utilizados. Optou-se pelo uso de Solução tampão, MgCl₂ e Taq DNA polimerase fabricados pela Invitrogen[®], sendo utilizada a seguinte solução de reação: em um volume final de 15 µl foram colocados 10-50 ng de DNA, solução tampão 1X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,17 mM de dNTPs, 0,13 pmol/µl

de *primer forward*, 0,53 pmol/ μ l de *primer reverse*, 0,53 pmol/ μ l da seqüência M13 marcada com fluoróforos FAM (para os marcadores Fbra02 e Fpa104), HEX (para o marcador Fbra01) ou TET (para os marcadores Fbra05 e Fpa413) e 0,5 U de Taq DNA polimerase. O programa da reação de PCR utilizado consistiu em um passo de 5 min de desnaturação inicial a 94° C, seguido de 35 ciclos de 30 s a 94° C (desnaturação do DNA), 30 segundos na temperatura de anelamento do par de *primer* utilizado, 30 s a 72° C (extensão), seguido por 10 ciclos de amplificação da seqüência M13, composto por 30 s a 94° C (desnaturação), 45 s a 53° C (anelamento do *primer*) e 45 s a 72° C (extensão). O passo final da reação consistiu em uma temperatura de extensão final a 72°C por 15 minutos.

Após a padronização da reação, foram realizadas amplificações utilizando-se amostras de DNA de cinco diferentes indivíduos de *F. paulensis*, provenientes de CA, BB e IR, com o intuito de verificar o polimorfismo dos locos dos primers utilizados. Os produtos de amplificação foram analisados em gel de agarose 3% e, verificado o polimorfismo, realizaram-se as demais reações de PCR. Foi realizado um total de 585 reações de PCR (117 reações para cada par de primer utilizado), onde foram utilizados 33 animais de CA, 29 de BB, 27 de IR e 28 de PL. As amostras de tecido e DNA dos animais coletados em SL foram perdidas, não permitindo sua análise com os marcadores microssatélites. Estes produtos de PCR foram genotipados em um seqüenciador MEGABACE™ e os resultados foram analisados pelo programa Fragment Profiler™.

Tabela 01: Descrição dos pares de *primers* dos marcadores microsatélites utilizados neste estudo. T significa tamanho dos alelos observados neste estudo, em pares de base. T°A significa temperatura de anelamento do par de primer (° C). Nome de marcadores com (*) são descritos para *F. brasiliensis*

Marcador	Nº de acesso no Genbank	T	Motif	5'-3'	T°A
Fpa104	AY049197	112-150	(CA) ₃₆ CG(CA) ₇	ACGTGCATGAGTATGTGTA (Forward) GAATATTATCGCTGTACCAA (Reverse)	57,5
Fpa413	AY049199	186-236	(GT) ₁₁	TCTTTATATTCAGGGTGAGGGGAG (Forward) CAGCCCAGTTCCTTTTCAAG (Reverse)	60,0
Fbra01*	EU559711	100-204	(CA) ₁₀	ACGCACACAGAGCACATAC (Forward) CTTGCTTGGAAACGTCCTA (Reverse)	55,0
Fbra02*	EU559712	100-348	(GTCT) ₅ ...(CT) ₆	ACACACACGCACACACTTAT (Forward) TAGCCTCTTTGTGGTTTGT (Reverse)	68,0
Fbra04*	EU559714	216-294	(TGTC) ₅ ...(TC) ₁₁	CTTGTTTATGGTGGGATGAG (Forward) CACAGACAGAGATTTATGCG (Reverse)	65,0

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Análises morfométricas

Para o estudo das relações morfométricas, os animais foram inicialmente separados de acordo com o sexo, sendo depois os dados de Lt, Lc e La submetidos a uma transformação proposta por Burnaby (1966) para que os efeitos da idade e do tamanho destes animais fossem minimizados. A variável peso não foi utilizada nas análises morfométricas por ser muito influenciada por fatores ambientais e fisiológicos.

Foram feitos testes preliminares para se avaliar a ocorrência de dimorfismo sexual nos exemplares coletados, nos quais foram utilizados os testes T e de Mann-Whitney ($p = 0,05$ em ambos). Nestes testes, os exemplares obtidos em todos os locais de coleta foram agrupados de acordo com o sexo, para que as variáveis medidas pudessem ser comparadas. Não sendo observada a ocorrência de dimorfismo significativo entre os sexos, não foi necessária a realização de análises estatísticas para machos e fêmeas separadamente.

Foi realizada tanto a análise univariada, na qual as variáveis utilizadas foram analisadas separadamente, como a análise multivariada, onde todas as variáveis foram analisadas ao mesmo tempo.

Para a análise univariada, os dados de Lt, Lc e La foram submetidos aos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Levene para avaliar, respectivamente, a normalidade e a homocedasticidade dos dados ($p = 0,05$).

Embora os dados tenham apresentado uma distribuição normal, suas variâncias não apresentaram homogeneidade, sendo então aplicado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas proposto por Seigel & Castellan (1988) ($p = 0,05$ em ambos). Na análise multivariada Lt, Lc e La foram submetidos à análise de discriminantes canônicos ($p = 0,05$) onde, pelo teste do Qui-quadrado, se verifica a probabilidade da variação encontrada nos animais ser decorrente de suas diferentes origens, além de se gerar um gráfico que mostra a relação entre as variáveis canônicas criadas para cada local de coleta. Para todas as análises morfométricas descritas, foi utilizado o programa STATISTICA 7.

Análises moleculares

Em relação à análise de microssatélites, o déficit de heterozigotos, o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE), a diferenciação gênica, as frequências alélicas e as heterozigosidades esperadas e observadas foram medidas utilizando-se o programa GENEPOP versão 3.4 (Raymond & Rousset 1995), com um número de desmemorizações de 10000, número de *batches* de 1000, e um número de interações por *batch* de 10000.

As estatísticas F (F_{is} e F_{st}) (Weir & Cockerham 1984) e o desequilíbrio de ligação foram calculados através do programa FSTAT versão 2.9.3.2 (Goudet 1995). O nível de significância adotado em todas as análises descritas foi de 5%, ajustado com a correção seqüencial de Bonferroni (Rice 1989).

Para determinar a ocorrência de alelos nulos ou ausência de amplificação, stutters ou erros na genotipagem, allelic dropouts ou amplificação preferencial de alelos menores, cujas ocorrências podem influenciar nos resultados das análises, foi utilizado o programa MICRO-CHECKER versão 2.2.3 (Oosterhout *et al.* 2004), sendo o cálculo das freqüências de alelos nulos feito segundo Chakraborty *et al.* (1992).

O programa GENECLASS versão 2.0 (Piry 2004) foi usado para determinar o número de migrantes neste estudo. Para a determinação do número de migrantes, foram utilizados os modelos Bayesiano (Rannala & Mountain 1997) e frequentista (Paetkau *et al.* 1995). O algoritmo de simulação utilizado em ambos os modelos foi o proposto por Paetkau *et al.* (2004), onde se adotou um número de simulações de 100000 e um nível de significância de 5% para os modelos Bayesiano e frequentista.

RESULTADOS

ANÁLISES MORFOMÉTRICAS

Os resultados dos testes T e de Mann-Whitney (Tabela 02) não mostram diferenças significativas entre os sexos em *F. paulensis* ao se comparar as variáveis Lc, La e Lt, não sendo necessária a separação dos sexos ao realizar as demais análises estatísticas.

Tabela 02: Valores médios (\pm EP) das variáveis morfométricas em exemplares machos e fêmeas de *F. paulensis* e níveis de significância do teste T (pT) e do teste de Mann-Whitney (pMW). Lc: comprimento de cefalotórax; La: comprimento abdominal; Lt: comprimento total.

Variáveis	Fêmeas	Machos	pT	pMW
Lc (cm)	1,82 \pm 0,03	1,78 \pm 0,03	0,23	0,49
La (cm)	5,27 \pm 0,08	5,29 \pm 0,07	0,86	0,51
Lt (cm)	7,25 \pm 0,12	7,21 \pm 0,11	0,79	0,98

Os resultados do teste de Kruskal-Wallis (Tabela 03) mostram que os exemplares de CA e SL diferem entre si e dos demais locais na análise da maioria das variáveis testadas. Dessa forma, o resultado dessas análises sugere a ocorrência de três populações de *F. paulensis*: uma representada por CA, outra por SL, e a última por BB, IR e PL.

Tabela 03: Número de indivíduos coletados (N) e valores médios (\pm EP) de comprimento de cefalotórax (Lc), comprimento abdominal (La) e comprimento total (Lt) de *F. paulensis*. Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas ($p < 0,05$). CA = Cananéia; BB = Baía de Babitonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos.

Local de coleta	N	Lc (cm)	La (cm)	Lt (cm)
CA	47	1,91 \pm 0,04 ^A	5,29 \pm 0,10 ^A	8,44 \pm 0,14 ^A
BB	50	1,59 \pm 0,04 ^B	4,51 \pm 0,10 ^B	6,18 \pm 0,14 ^B
IR	50	1,70 \pm 0,04 ^B	5,19 \pm 0,10 ^A	6,85 \pm 0,14 ^B
SL	50	2,11 \pm 0,04 ^C	6,23 \pm 0,10 ^C	8,20 \pm 0,14 ^A
PL	50	1,73 \pm 0,04 ^B	5,18 \pm 0,10 ^A	6,73 \pm 0,14 ^B

Na análise de discriminantes canônicos, foram geradas as funções de classificação dos cinco locais de coleta, de acordo com as variáveis

morfométricas medidas (Tabela 04). Foram também geradas funções canônicas ou raízes (Tabela 05), usadas posteriormente na representação gráfica da Figura 08. Pode se verificar nesta tabela que as raízes 01 e 02 têm poderes de predição de 94% e 5% respectivamente, sendo as que melhor explicam as variações encontradas na análise de discriminantes canônicos. Devido ao maior poder de predição destas duas raízes, foram estas as utilizadas no gráfico da Figura 08.

Tabela 04: Funções de classificação dos cinco locais de coleta, segundo a análise de discriminantes canônicos. Lc: comprimento de cefalotórax; La: comprimento do abdome; Lt: comprimento total; CA = Cananéia; BB = Baía de Babitonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos.

Variável morfológica	Locais de coleta				
	CA	BB	IR	SL	PL
Lc	108,55	102,96	90,57	103,59	102,00
La	546,76	591,98	607,16	631,18	631,23
Lt	1379,69	1226,21	1189,66	1208,82	1197,94
Constante	-1174,24	-1018,47	-990,43	-1034,11	-1021,19

Tabela 05: Funções canônicas (raízes), segundo a análise de discriminantes canônicos. Lc: comprimento de cefalotórax; La: comprimento do abdome; Lt: comprimento total.

Variável morfológica	Raiz 01	Raiz 02	Raiz 03
Lc	-1,85	-7,85	10,60
La	13,52	-25,45	-10,31
Lt	-33,03	-6,82	-5,63
Constante	27,96	31,09	18,33
Poder de predição acumulado	0,94	0,99	1,00

A análise de discriminantes canônicos mostrou semelhança apenas entre os camarões coletados em SL e PL, sendo que os indivíduos dos outros locais apresentaram diferenças significativas (Tabela 06). Dessa forma, é constatada neste estudo a existência de quatro grupos de *F. paulensis*: um formado por SL e PL e os demais formados por seus respectivos locais de coleta.

Tabela 06: Níveis de significância de *F. paulensis* dos diferentes locais de coleta, segundo a análise de discriminantes canônicos. Números Com (*): diferença significativa ($p < 0,05$). CA = Cananéia; BB = Baía de Babitonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos.

Local de coleta	CA	BB	IR	SL
BB	0,00*			
IR	0,00*	0,00*		
SL	0,00*	0,00*	0,00*	
PL	0,00*	0,00*	0,01*	0,43

A Tabela 07 apresenta a matriz de classificação dos animais coletados, segundo o seu provável local de coleta. Dessa forma pode-se verificar o poder da análise de discriminantes canônicos em prever os locais de onde os animais foram coletados de acordo com suas características morfométricas. Constatou-se que mais de 97% dos exemplares de CA e 74% dos animais de SL foram classificados corretamente, sendo que as porcentagens de acerto na classificação dos animais de BB, IR e PL variaram de 50% a 66%.

Tabela 07: Matriz de classificação de *F. paulensis* coletados nas regiões sudeste e sul do Brasil. As linhas referem-se aos dados observados na coleta, as colunas referem-se às predições da análise estatística. CA = Cananéia; BB = Baía de Babitonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos.

Local de coleta	Acertos (%)	CA	BB	IR	SL	PL	Total
CA	97,87	46	1	0	0	0	47
BB	58,00	0	29	4	12	5	50
IR	66,00	0	6	33	8	3	50
SL	74,00	0	2	4	37	7	50
PL	50,00	0	1	7	17	25	50
Total	55,70	46	39	48	74	40	247

O gráfico da Figura 11 mostra a relação de similaridade entre os exemplares dos diferentes locais de coleta, onde se pode observar que somente os indivíduos coletados em CA aparecem como um grupo distinto dos exemplares dos outros locais.

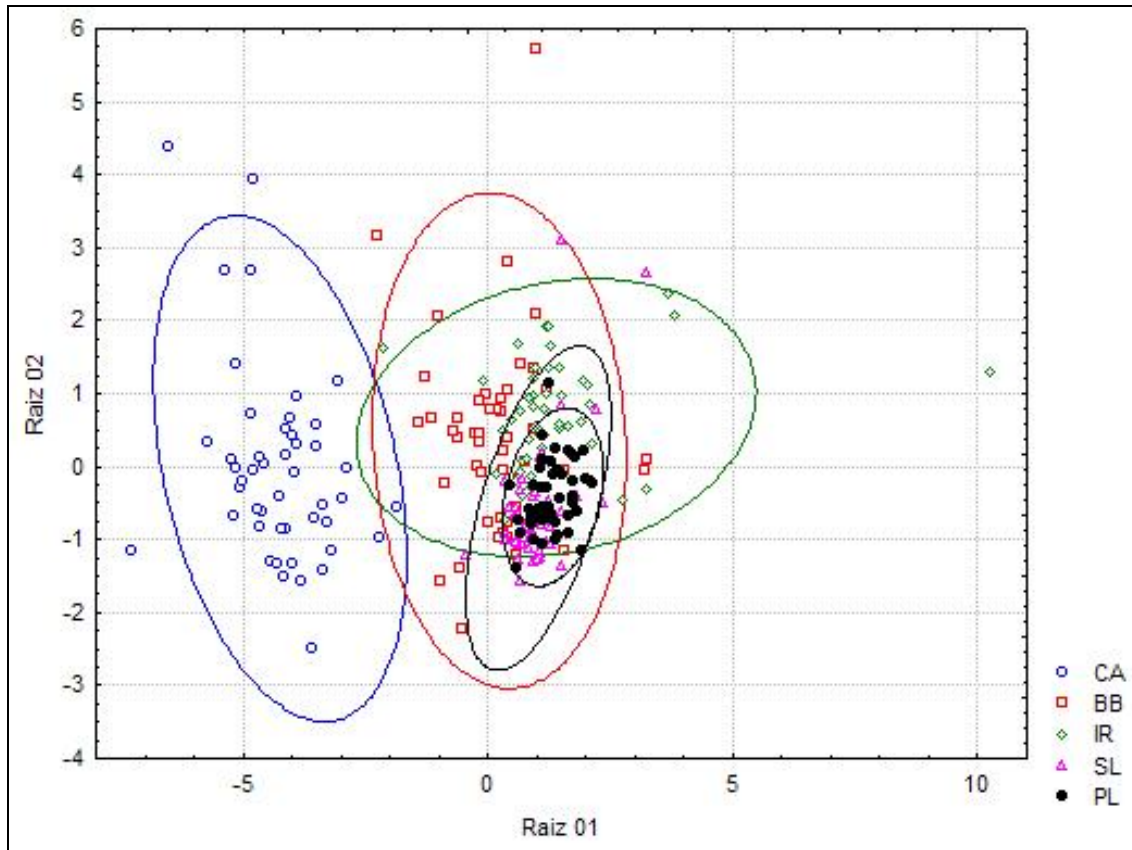


Figura 11: Gráfico da relação entre as raízes (Raiz 01 e Raiz 02) geradas na análise de discriminantes canônicas em *F. paulensis* em cada local de coleta. CA: Cananéia; BB: Baía de Babitonga; IR: Rio Itajaí-Açu; PL: Lagoa dos Patos.

ANÁLISES MOLECULARES

Os DNAs obtidos nas extrações apresentaram concentrações que variaram de 50 a 200 ng/μl, como pode ser visto na Figura 12.



Figura 12: Quantificação da extração de DNAs de *F. paulensis*.

As reações de PCR foram bem sucedidas, sendo observado polimorfismo em todos os locos microssatélites analisados (Figura 13). As

genotipagens, por sua vez, apresentaram baixo nível de ruído e alta intensidade fluorescente, como observado na Figura 14.

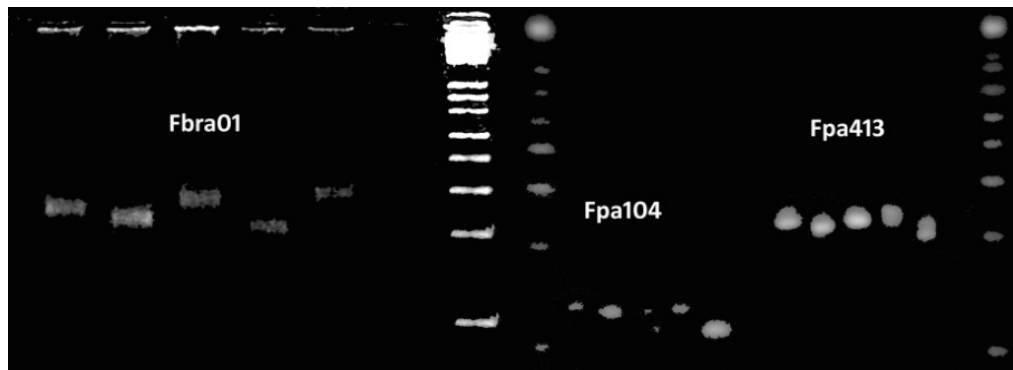


Figura 13: Produtos de amplificação dos locos microssatélites Fbra01, Fpa104 e Fpa413 em *F. paulensis*.

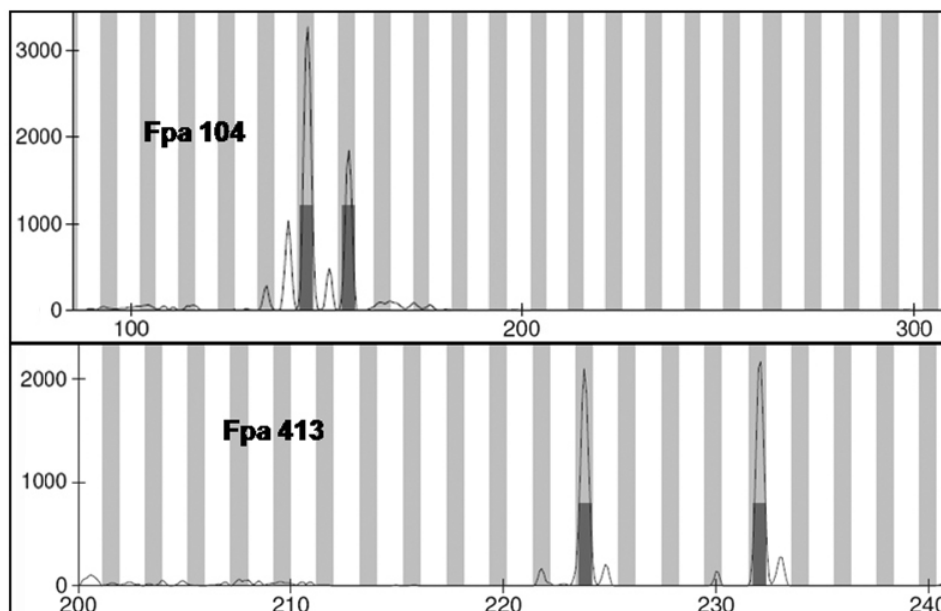


Figura 14: Eletroferogramas dos pares de primer Fpa 104 e Fpa 413.

O número total de alelos variou de 11 a 58, sendo observada a ocorrência de alelos privados e heterozigosidades esperadas maiores que as observadas em todos os locos estudados (exceto loco Fpa104 em PL, que apresentou heterozigosidade esperada menor que a observada) (Tabela 08), onde CA e IR apresentaram as maiores ocorrências de alelos privados (totais de 18 e 19 alelos, respectivamente). A análise do HWE mostrou que todas as

populações estudadas estão em desequilíbrio ($p < 0,0025$) e apresentaram déficit de heterozigotos ($p < 0,0025$), exceto o loco Fbra01 em IR e locos Fpa104 e Fpa413 em PL ($p > 0,0025$) (Tabela 08). As análises realizadas com o programa MICRO-CHECKER não detectaram efeitos de allelic dropouts nem de stutters nas genotipagens realizadas, embora tenham sido detectados alelos nulos em todos os locos, exceto no loco Fpa413 em IR e Fbra04, Fpa104 e Fpa413 em LP (Tabela 08). Foi observada a ocorrência de endogamia na maioria dos locos, nos quais os valores de F_{is} variaram entre -0,099 e 0,876 (Tabela 08). A análise de desequilíbrio de ligação, por sua vez, não indicou a ocorrência de locos ligados ($p > 0,005$) (Tabela 09), o que significa que estes locos possuem segregação mendeliana independentes.

Tabela 08: Número de alelos (a), número de alelos privados (ap), frequência de alelos nulos (an) heterozigosidade esperada (He), heterozigosidade observada (Ho), probabilidade do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) (valores de p), probabilidade de ocorrência do déficit de heterozigotos (De) (valores de p) e coeficiente de endogamia (Fis) de cinco locos microssatélites em *F. paulensis* em cada local de coleta. Números entre parênteses são o total de indivíduos coletados em cada local. Números seguidos de (*): probabilidade de ocorrência de desequilíbrio de HWE ($p < 0,0025$) ou de déficit de heterozigotos ($p < 0,0025$). CA = Cananéia; BB = Baía de Babitonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos.

Loco		CA (33)	BB (29)	IR (27)	PL (28)	Total	Média
Fpa104	a	13	08	08	07	16	09
	ap	04	02	01	00	07	1,75
	a n	0,169	0,773	0,170	0,000	-	0,278
	He	0,823	0,822	0,586	0,521	-	0,688
	Ho	0,576	0,103	0,407	0,571	-	0,415
	HWE	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	-
	De	0,0000*	0,0000*	0,0020*	0,1340	0,0000*	-
	Fis	0,304	0,876	0,308	-0,099	-	0,347
Fpa413	a	10	09	07	06	11	08
	ap	01	01	00	00	02	0,50
	a n	0,330	0,197	0,000	0,000	-	0,132
	He	0,793	0,890	0,669	0,724	-	0,769
	Ho	0,394	0,586	0,593	0,704	-	0,569
	HWE	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	-
	De	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,2200	0,0000*	-
	Fis	0,507	0,345	0,117	0,029	-	0,250
Fbra01	a	15	17	14	10	24	14
	ap	03	03	02	00	08	02
	a n	0,214	0,231	0,086	0,308	-	0,210
	He	0,903	0,906	0,896	0,825	-	0,882
	Ho	0,576	0,556	0,741	0,429	-	0,575
	HWE	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	-
	De	0,0000*	0,0000*	0,0530	0,0000*	0,0000*	-
	Fis	0,366	0,392	0,176	0,485	-	0,355

Fbra02	a	23	23	26	16	58	22
	ap	08	10	12	05	35	8,75
	a n	0,182	0,361	0,137	0,202	-	0,220
	He	0,934	0,929	0,945	0,886	-	0,923
	Ho	0,636	0,429	0,700	0,577	-	0,585
	HWE	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	-
	De	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	-
	Fis	0,322	0,543	0,264	0,353	-	0,371
Fbra04	a	14	13	15	08	22	12,50
	ap	02	01	04	00	07	1,75
	a n	0,255	0,473	0,487	0,153	-	0,342
	He	0,881	0,916	0,902	0,786	-	0,871
	Ho	0,515	0,321	0,304	0,565	-	0,427
	HWE	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,000*	-
	De	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0010*	0,000*	-
	Fis	0,419	0,653	0,668	0,286	-	0,507
Total	a	75	70	70	47	-	-
	ap	18	17	19	05	-	-
	HWE	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	-	-
	De	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	-	-
	Fis	0,381	0,557	0,318	0,243	-	-
Média	a n	0,230	0,407	0,176	0,133	-	0,236
	He	0,867	0,893	0,800	0,748	-	0,827
	Ho	0,539	0,399	0,549	0,569	-	0,514

Tabela 09: Probabilidade de ocorrência de desequilíbrio de ligação entre locos microssatélites em *F. paulensis* (valores de p). Números seguidos de (*): probabilidade significativa ligação entre locos ($p < 0,005$).

Loco	Fpa104	Fpa413	Fbra01	Fbra02
Fpa413	0,080			
Fbra01	0,005	0,460		
Fbra02	0,165	0,25	0,895	
Fbra04	0,005	0,420	0,180	0,025

As frequências alélicas dos locos analisados variaram significativamente entre os locais estudados ($p < 0,0125$) (Figura 15). Os valores de F_{st} , por sua vez, variaram entre 0,0254 e 0,0879, sendo que as diferenças observadas entre os locais estudados foram significativas ($p < 0,0083$) (Tabela 10), sendo estes valores indicativos da ocorrência de estruturação populacional.

Tabela 10: Valores de F_{ST} obtidos em cada local de coleta. Números com (*): diferença significativa ($p < 0,0083$). CA = Cananéia; BB = Baía de Babilonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos.

Local de coleta	CA	BB	IR
BB	0.0357*		
IR	0.0254*	0.0427*	
PL	0.0508*	0.0879*	0.0507*

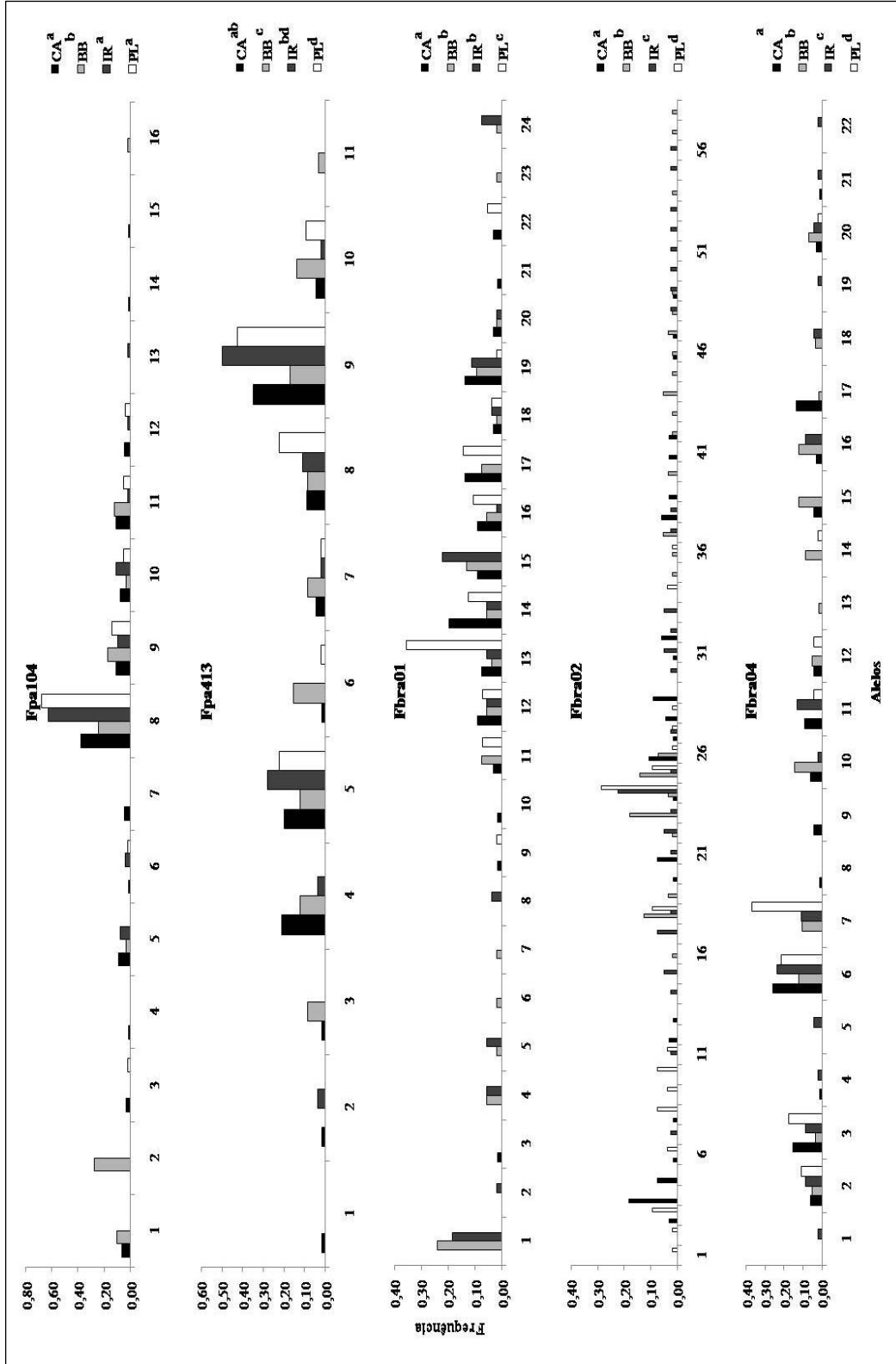


Figura 15: Gráfico das frequências dos cinco locos microsátélites utilizados em *F. paulensis*. Legenda: CA = Cananéia; BB = Baía de Babitonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos. Letras minúsculas sobrescritas significam diferença significativa entre as frequências locais (p < 0,0125).

Os resultados das análises de migrantes indicaram a possível presença de migrantes em todos os locais de coleta, em totais de 22 migrantes segundo o modelo Bayesiano e de 33 migrantes segundo o modelo frequentista (Tabelas 11 e 12 respectivamente). Destes, apenas 7 animais poderiam ser reclassificados como pertencentes a um dos locais estudados (com apenas um $p > 0,05$) de acordo com a análise Bayesiana, enquanto que apenas 6 migrantes com essa característica foram observados na análise frequentista. Treze dos migrantes observados pelo modelo Bayesiano não foram reclassificados em nenhum dos locais de coleta ($p < 0,05$), sendo observados 22 migrantes nestas condições com o modelo frequentista. O restante dos animais foi reclassificado em mais de um local de coleta (2 e 5, respectivamente). Sendo assim, ambos os modelos de análise indicaram a ocorrência de migrantes, e a maior parte destes não foi reclassificado em nenhum dos locais estudados.

Tabela 11: Possíveis migrantes encontrados em cada local de coleta e probabilidades (p(CA); p(BB); p(IR) e p(PL)) destes de terem sido concebidos por grupos reprodutores contribuintes dos outros locais de coleta estudados, segundo o modelo Bayesiano. CA = Cananéia; BB = Baía de Babitonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos. Números com (*): probabilidade significativa de o indivíduo não ter sido concebido pelo grupo reprodutor analisado ($p < 0,05$). HS: probabilidade altamente significativa de o indivíduo não ter sido concebido pelo grupo reprodutor analisado ($p < 0,000$).

Local de coleta	p(CA)	p(BB)	p(IR)	p(PL)
CA	HS	0,032*	0,001*	HS
CA	0,001*	HS	0,002*	HS
CA	0,011*	0,155	0,040*	0,004*
CA	0,013*	0,006*	0,018*	0,002*
CA	0,022*	0,001*	0,002*	HS
CA	0,030*	0,001*	0,057	0,006*
CA	0,041*	0,003*	0,027*	HS
BB	0,002*	HS	0,003*	HS
BB	0,006*	0,018*	0,009*	0,001*
BB	0,010*	0,023*	0,034*	HS
BB	0,001*	0,023*	0,005*	HS
BB	HS	0,025*	HS	HS
BB	0,003*	0,028*	0,052	HS
BB	0,243	0,043*	0,149	0,588
IR	0,064	0,003*	HS	HS
IR	0,001*	0,012*	0,007*	HS
IR	0,002*	0,004*	0,023*	0,002*
IR	0,001*	0,007*	0,028*	HS
IR	0,080	0,039*	0,032*	0,025*
PL	0,002*	0,054	0,011*	0,002*
PL	0,188	0,220	0,064	0,012*
PL	0,486	0,020*	0,043*	0,017*

Tabela 12: Possíveis migrantes encontrados em cada local de coleta e probabilidades (p(CA); p(BB); p(IR) e p(PL)) destes de terem sido concebidos por grupos reprodutores contribuintes dos outros locais de coleta estudados, segundo o modelo frequentista. CA = Cananéia; BB = Baía de Babitonga; IR = Rio Itajaí-Açu; PL = Lagoa dos Patos. Números com (*): probabilidade significativa de o indivíduo não ter sido concebido pelo grupo reprodutor analisado ($p < 0,05$). HS: probabilidade altamente significativa de o indivíduo não ter sido concebido pelo grupo reprodutor analisado ($p < 0,000$).

Local de coleta	p(CA)	p(BB)	p(IR)	p(PL)
CA	HS	0,049*	0,001*	HS
CA	0,002*	HS	0,001*	HS
CA	0,003*	0,002*	0,003*	HS
CA	0,009*	HS	0,002*	HS
CA	0,012*	HS	0,013*	HS
CA	0,026*	0,004*	0,004*	0,001*
CA	0,027*	0,015*	0,002*	HS
CA	0,040*	0,006*	HS	HS
CA	0,045*	0,001*	0,027*	0,002*
BB	0,005*	HS	0,001*	HS
BB	0,075	0,007*	0,120	0,283
BB	0,003*	0,010*	0,005*	HS
BB	0,010*	0,012*	0,003*	0,004*
BB	0,062	0,017*	0,014*	HS
BB	HS	0,023*	0,001*	HS
BB	HS	0,028*	HS	HS
BB	HS	0,028*	0,001*	HS
BB	HS	0,037*	0,001*	HS
BB	0,014*	0,041*	0,035*	0,001*
BB	0,004*	0,045*	0,003*	0,002*
BB	0,174	0,046*	0,114	HS
IR	0,055	0,002*	HS	HS
IR	0,001*	0,001*	0,002*	HS
IR	0,001*	0,004*	0,016*	0,001*
IR	0,004*	0,005*	0,022*	HS
IR	0,013	0,005*	0,048*	HS
IR	0,024	0,003*	0,049*	HS
PL	0,003*	0,006*	0,023*	0,002*
PL	0,023*	0,117	0,007*	0,003*
PL	0,384	0,074	0,073	0,034*
PL	0,365	0,190	0,095	0,041*
PL	0,238	0,042*	0,020*	0,046*
PL	0,216	0,004*	0,093	0,047*

DISCUSSÃO

As diferentes análises morfométricas utilizadas neste estudo foram concordantes ao mostrarem CA como um grupo diferenciado dos demais locais. Todavia, os resultados dos testes de Kruskal-Wallis indicaram, apesar de se observar alguma variação entre os resultados das análises de cada variável, a ocorrência de apenas mais dois grupos populacionais (um composto por BB, IR e PL e outro por SL), diferentemente dos três grupos apontados pela análise de discriminantes canônicos, onde SL e PL formam um grupo, seguidos por BB e IR. A diferença observada no resultado dos testes de Kruskal-Wallis aplicados a cada variável pode ser atribuída ao fato das variáveis Lt e La serem suscetíveis às condições de conservação dos camarões coletados, visto que diferenças entre os níveis de rigidez e hidratação da musculatura abdominal destes animais podem influenciar na medição destas variáveis.

Apesar dos resultados obtidos nas análises univariada e multivariada indicarem diferentes padrões de estruturação populacional, a análise dos discriminantes canônicos foi imprecisa ao classificar os exemplares capturados em BB, IR e PL, cujos índices de acerto foram inferiores a 70%. Estes são os mesmos locais que a análise univariada não diferenciou, mostrando que os resultados das análises morfométricas utilizadas são na verdade muito semelhantes. A imprecisão da análise multivariada ao classificar os exemplares de BB, IR e PL se reflete na representação gráfica da Figura 14, onde é possível distinguir apenas CA dos demais locais. Por outro lado, as diferenças entre os locais de coleta observadas na análise de discriminantes canônicos corroboraram com os resultados das análises moleculares (considerando a não realização de análises moleculares em SL), onde o resultado do teste F_{st} mostra diferenças significantes entre os locais estudados, o que demonstra a

existência de ao menos quatro estoques distintos de *F. paulensis* nos locais estudados.

Análises multivariadas também possibilitaram constatar a ocorrência de duas populações do camarão *Marsupenaeus japonicus* localizadas na costa de Taiwan (Tzeng & Yeh 2002), além de permitirem a identificação de quatro populações de *Artemia franciscana* no litoral colombiano, sendo que estas ainda se diferenciaram da população da costa norte-americana (Camargo *et al.* 2003). Também foi com este tipo de análise que se verificou a existência de três estoques do camarão *Parapenaeopsis hardwickii* entre o Mar Oriental da China e o estreito de Taiwan (Tzeng 2004). No Brasil, análises morfométricas multivariadas mostraram a ocorrência de diferentes grupos do camarão *Rimapenaeus constrictus* capturados em Ubatuba (SP) e Guarapari (ES) (Silva 2007), além de mostrarem diferenças nos camarões *Litopenaeus schmitti* (Luvesuto 2006) e *F. brasiliensis* (Pinheiro 2008), ambos coletados em três pontos na costa do Rio Grande do Norte.

Em relação às análises moleculares realizadas neste estudo, o número de alelos variou de 11 a 58, sendo que a maior quantidade de alelos ocorreu nos locos heterólogos Fbra01, Fbra02 e Fbra04. Um maior número de alelos em locos heterólogos também foi observado em Maggioni *et al.* (2003) ao utilizar marcadores microssatélites descritos para *Litopenaeus setiferus* em *L. schmitti*, resultando na obtenção de até 70 alelos em um loco, sendo que com o uso de microssatélites específicos para *L. schmitti* foram obtidos de 13 a 32 alelos. Grandes variações no número de alelos por loco foram observadas em estudos com *L. setiferus* na América do Norte (Ball & Chapman 2003), em *P.*

monodon nas Filipinas (Xu *et al.* 2001) e em *Penaeus esculentus* na Austrália (Ward *et al.* 2006).

As heterozigosidades observadas (H_o) médias obtidas neste estudo variaram de 0,399 a 0,569, semelhante a resultados obtidos em estudos com os camarões *L. setiferus*, *Farfantepenaeus duorarum* e *Farfantepenaeus aztecus* (Ball *et al.* 1998), *L. vannamei* (Valles-Jiménez *et al.* 2005, Benzie 2000) e *Penaeus monodon* (Supungul *et al.* 2000, Xu *et al.* 2001). No Brasil, Silva (2007) obteve H_o média em *R. constrictus* variando entre 0,143 e 0,533. Maggioni *et al.* (2003) e Luvesuto (2006) encontraram em *L. schmitti* H_o médias de 0,850 e entre 0,535 e 0,612, respectivamente. Pinheiro (2008) encontrou valores de H_o média em *F. brasiliensis* capturados em três locais no litoral do Rio Grande do Norte entre 0,471 e 0,540, valores muito próximos dos obtidos no presente estudo.

O desequilíbrio do HWE e déficit de heterozigotos, observados na maioria dos locos e em todos os locais amostrados no presente estudo, são fatos recorrentes em inúmeros estudos populacionais de peneídeos que utilizam marcadores microssatélites (Supungul *et al.* 2000, Xu *et al.* 2001, Ball & Chapman 2003, Valles-Jimenez *et al.* 2005, Liu *et al.* 2006, Tsoi *et al.* 2007), sendo geralmente atribuídos à ocorrência de acasalamento preferencial, endogamia, alelos nulos, allelic dropout ou stutters. Outro fator que pode acarretar estes desvios é a ocorrência de locos altamente variáveis em amostragens populacionais relativamente pequenas (Brooker *et al.* 2000).

A ocorrência de alelos nulos é sugerida como causa destes desvios em estudos com *L. setiferus* (Ball *et al.* 1998; Ball & Chapman 2003), *P. monodon* (Supungul *et al.* 2000; Xu *et al.* 2001), *L. vannamei* (Valles-Jiménez *et al.* 2005)

e *M. japonicus* (Moore *et al.* 1999; Sugaya *et al.* 2002; Jerry *et al.* 2004). Acasalamento preferencial e endogamia também podem levar ao desequilíbrio do HWE e déficit de heterozigotos (Supungul *et al.* 2000), mas estes fatores vêm geralmente acompanhados de desequilíbrio de ligação, ou seja, a ausência de segregação independente entre locos (Tsoi *et al.* 2007).

Como não foi constatada a ocorrência de desequilíbrio de ligação neste estudo, as hipóteses da endogamia e/ou do acasalamento preferencial serem as causas do desequilíbrio do HWE e do déficit de heterozigotos podem ser descartadas, da mesma forma que se podem descartar as ocorrências de allelic dropouts e stutters como causas destes desvios. Sendo assim, é possível que desequilíbrio do HWE e déficit de heterozigotos, observados neste estudo, sejam resultados da ocorrência de alelos nulos e/ou da hipervariabilidade alélica dos locos microssatélites, observada neste estudo.

Como dito anteriormente, os resultados da análise de discriminantes canônicos e do teste F_{st} confirmam a ocorrência de um peculiar cenário de estruturação populacional com a detecção de quatro populações de *F. paulensis* em distâncias muito curtas, caracterizadas pelas diferentes frequências alélicas entre estas populações e pela grande quantidade observada de alelos privados. Estes resultados corroboram com os encontrados por Gusmão *et al.* (2005), que encontraram diferenças entre populações de *F. paulensis* localizadas no litoral das regiões sul e sudeste brasileiras, mas contrastaram com os resultados de Delevedove (1996), que não encontrou diferenças genéticas entre *F. paulensis* coletados nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. O contraste entre os resultados obtidos no presente estudo e os observados por Delevedove (1996) pode ser

conseqüência do uso por parte deste último de sistemas enzimáticos como marcadores moleculares, que ao contrário dos marcadores microssatélites, não identificam diferenças populacionais em fina escala. Sardà *et al.* (1998), que também fez uso de sistemas enzimáticos no estudo populacional do camarão *Aristeus antennatus* capturados ao longo do Mar Mediterrâneo, sugeriu o uso de marcadores moleculares mais sensíveis, visto que a análise dos sistemas enzimáticos não indicou a estruturação populacional sugerida pelo resultado das análises morfométricas. Em todo caso, o uso conjunto de análises morfométricas e moleculares permitiu a identificação de diferentes estoques do camarão *Crangon crangon* ao redor da Inglaterra (Beaumont & Croucher 2006) e dos camarões *R. constrictus* (Silva 2007), *L. schmitti* (Luvesuto 2006) e *F. brasiliensis* (Pinheiro 2008) na costa brasileira.

Na tentativa de explicar o cenário observado neste estudo, onde análises morfométricas e moleculares apontam para a existência de quatro populações de *F. paulensis*, pode-se sugerir a existência de mais regiões de reprodutores na plataforma continental, a ocupação preferencial dos estuários por algumas populações mais próximas, ou até mesmo a influência das diferentes características ambientais entre os estuários estudados.

Visto que não foram constatadas áreas de reprodução de *F. paulensis* na costa do Rio Grande do Sul (Zenker e Agnes 1977; D’Incao 1983), e levando-se em conta a atuação da corrente marinha costeira nas regiões sudeste e sul do Brasil, é esperado que os juvenis encontrados na Lagoa dos Patos sejam provenientes da plataforma continental de Santa Catarina, o que já foi sugerido por D’Incao (1983). A ação desta corrente pode ainda explicar a diferença observada entre a população de Cananéia e as demais populações

da região sul, visto que a primeira deve possivelmente ser proveniente da plataforma continental do estado de São Paulo. A mudança do sentido dessa corrente no trecho entre o município de Florianópolis (SC) e o Uruguai, nos meses de abril a maio, pode ainda sustentar a idéia de uma possível volta dos sub-adultos de *F. paulensis* provenientes da Lagoa dos Patos à costa catarinense, principalmente se for considerado o grande fluxo destes animais do estuário da Lagoa dos Patos ao mar a partir do mês de fevereiro (D'Incao 1983).

Embora os camarões capturados nos estuários dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul sejam possivelmente provenientes de reprodutores situados na plataforma continental catarinense, é importante ressaltar que não se tratam de grupos homogêneos, como mostram os resultados obtidos neste estudo. O sedentarismo dos adultos de *F. paulensis* (Iwai, 1978) pode explicar essa heterogeneidade de grupos, além de ajudar a explicar a hipótese de uma ocupação preferencial dos estuários por pós-larvas provenientes de reprodutores mais próximos, visto que grupos reprodutores que tenham maior proximidade com determinados estuários podem contribuir com um maior número de pós-larvas do que grupos mais distantes. Segundo esse modelo de recrutamento por retroalimentação, adultos sedentários da plataforma continental forneceriam pós-larvas que seriam preferencialmente recrutadas em um estuário próximo, que ao final do ciclo forneceriam sub-adultos para áreas da plataforma continental que estivessem próximas destes estuários (Figura 16).

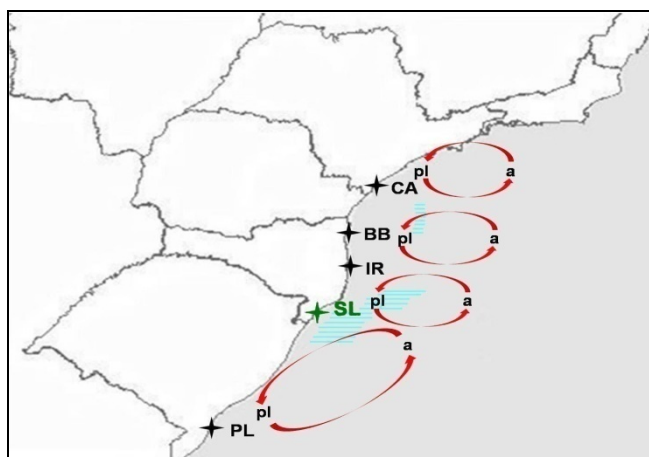


Figura 16: Modelo proposto de recrutamento por retroalimentação. CA: Cananéia (SP); BB: Baía de Babitonga (SC); IR: Rio Itajaí-Açú (SC); SL: Lagoa de Santo Antônio (SC); PL: Lagoa dos Patos (RS). Letras minúsculas: a) adultos na plataforma continental; b) pós-larvas no estuário. Local de coleta em verde: amostras de tecido e DNA perdidas.

A ocorrência de migrantes não contradiz este modelo, pois a proximidade dos grupos reprodutores aos estuários não deve ser um forte fator de isolamento populacional, o que permitiria a ocorrência de indivíduos em um estuário descendentes de grupos reprodutores mais afastados, principalmente se levarmos em conta a influência de correntes marinhas, marés e a ação dos ventos. Os migrantes observados neste estudo reforçam ainda a hipótese de existência de mais estoques reprodutores, visto que muitos dos migrantes não foram reclassificados em nenhum dos locais amostrados. Os valores de F_{st} , observados neste estudo também reforçam esta hipótese visto que, segundo Wright (1978), são indicadores de uma fraca estruturação populacional, onde o fluxo gênico entre populações não está de todo interrompido.

As diferentes características ambientais observadas nos locais de coleta também podem promover a estruturação populacional de *F. paulensis*, visto que as variações vão desde vegetação a diferentes estados de conservação ambiental, passando também por diferenças de clima e regimes hidrológicos. A influência do ambiente na estruturação de populações foi sugerida em *F.*

brasiliensis estudados no litoral do estado do Rio Grande do Norte (Pinheiro 2008), onde as características dos locais estudados apresentavam diferentes níveis de ação antrópica, com áreas de salinas e de cultivo de camarões próximas aos pontos de coleta, além de ocorrerem nestas áreas variações no regime hídrico. Diferenças ambientais também foram apontadas como fator de estruturação populacional no camarão *Artemesia longinaris* entre o litoral norte do estado de São Paulo e o litoral argentino, na região de Mar Del Plata (Castilho *et al.* 2007), assim como no camarão *Pleoticus muelleri* estudado no litoral norte do estado de São Paulo (Costa *et al.* 2004). Xu *et al.* (2001), com o uso de marcadores microssatélites, comparou exemplares selvagens de *P. monodon* de quatro localidades com diferentes níveis de degradação ambiental nas Filipinas, encontrando diferenças significativas entre elas. Os autores constataram também que, no local com maior nível de degradação ambiental, os animais amostrados apresentavam a menor variabilidade genética. Este padrão também foi observado no presente estudo, onde PL, situada em um ambiente que sofreu intensa ação antrópica, apresentou as menores quantidades de alelos. Sardà *et al.* (1998) sugerem que as diferenças morfológicas observadas no camarão *Aristeus antennatus* sejam decorrentes de adaptações dos animais às características ambientais peculiares dos locais onde foram capturados. Os resultados destes estudos mostram a importância que a preservação dos ambientes ocupados por uma determinada espécie tem na manutenção de suas populações, sobretudo os estuários, que funcionam como berçários naturais para inúmeras espécies marinhas. Diante dos resultados obtidos no presente estudo, fica claro que os fenômenos relacionados à manutenção da estruturação de populações em *F. paulensis*

podem estar intimamente ligados a fatores intrínsecos de sua biologia, mais especificamente ao sedentarismo dos adultos, bem como a características ambientais dos estuários que recebem suas pós-larvas.

Considerando a ocorrência de estruturação populacional no camarão-rosa *F. paulensis* nas áreas estudadas, é necessário que se pense no manejo conservacionista adequado para esta espécie, de forma a evitar a diminuição de seus estoques. Leite Jr. & Petrere Jr. (2006), ao constatarem a sobrepesca dos camarões *F. paulensis* e *F. brasiliensis* nos municípios paulistas de Santos e Guarujá, sugerem uma redução do esforço pesqueiro combinada com a adoção de períodos de defeso e fechamento de algumas áreas à pesca. Todavia, o desenvolvimento de programas de manejo conservacionistas não é tão simples, e decisões não podem ser tomadas sem considerar as implicações para os segmentos da sociedade que vivem da pesca, sendo que os órgãos responsáveis por esse manejo devem levar em conta a os dados científicos que se tem a disposição, além dos fatores econômicos, sociais e políticos ao determinar as ações que devem ser tomadas (Ward 2000).

O conhecimento da estruturação populacional de *F. paulensis* nas áreas estudadas mostra que o manejo para esta espécie deve ser diferenciado, onde medidas como a implantação de períodos de defeso e fechamento de áreas para a pesca se adaptariam às características específicas de cada estoque encontrado, de forma a evitar a limitação da atividade pesqueira em locais onde estas não sejam necessárias. Dessa forma, a preservação da diversidade biológica e da biomassa destes estoques seria otimizada, sem que se prejudique de forma drástica a sua pesca, onde o conceito de sustentabilidade

estaria mais próximo de ser alcançado sob o ponto de vista social, econômico e ambiental.

É verdade que, para o desenvolvimento destes programas, é importante que se conheça a área de ocupação destas populações na plataforma continental, para que se torne possível a delimitação de áreas para o manejo da pesca deste camarão, informação esta que não foi obtida neste estudo. Todavia ficou claro no presente estudo que os estuários, além de funcionarem como um berçário natural para esta e inúmeras outras espécies marinhas, são também importantes na manutenção da diversidade genética entre as populações de *F. paulensis*, sendo de extrema importância que os estuários e os camarões que nele se encontram sejam contemplados pelos planos de manejo e conservação da espécie.

A posse de informações a respeito da estrutura populacional de *F. paulensis* se faz importante também ao se pensar em programas de repovoamento desta espécie no ambiente. Ward (2006) ressalta esta importância, pois a reintrodução de indivíduos com características genéticas diferentes dos exemplares que se encontram em uma determinada área pode trazer conseqüências danosas para a população selvagem, onde toda a adaptação alcançada por esta população ao ambiente pode se perder. Dessa forma, é necessário que a produção de juvenis para reintrodução seja realizada a partir de reprodutores capturados na área em que se pretende reintroduzi-los.

A idéia de reintrodução de camarões ao ambiente já é realidade em países como o Japão, na reintrodução de *Marsupenaeus japonicus*, e China, que tem programas de reintrodução de *Fenneropenaeus chinensis* (Loneragan *et al.* 2006). Ye *et al.* (2005) desenvolveram um modelo bioeconômico de

reintrodução do camarão *Penaeus esculentus* na Austrália e concluíram que a reintrodução de 21 milhões de juvenis com 1 g no ambiente pode resultar no retorno de cem toneladas de camarões pescados.

A adoção de programas de reintrodução de *F. paulensis* é uma possibilidade, pois a metodologia de produção de larvas desta espécie em laboratório já é conhecida (Santos 2003, Wasielesky 2000, Ballester 2003).

A associação de programas de reintrodução de *F. paulensis* na natureza, redução do esforço pesqueiro, adoção de períodos de defeso e fechamento de algumas áreas à pesca, além da proteção das áreas de mangue e restinga, aplicadas de forma diferenciada para cada estoque, pode sim levar a conservação deste recurso pesqueiro a longo prazo, de forma sustentada.

CONCLUSÕES

Foi constatada a existência de quatro populações do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* no litoral sul-sudeste brasileiro, sugerida tanto pela análise morfométrica como pela análise de microssatélites.

A identificação destas quatro populações de *F. paulensis* nas áreas estudadas é uma importante informação para o desenvolvimento de futuros programas cujo foco seja a conservação de *F. paulensis*, visto que cada população estudada é detentora de características genéticas exclusivas.

REFERÊNCIAS

- Allendorf F, Ryman N, Utter F (1987) Genetics and fishery management: past, present and future. 1-19 p. In: Ryman N, Utter F (editores). Population genetics and fishery management. University of Washington Press, Washington.
- Ball AO, Leonard S, Chapman RW (1998) Characterization of (GT)*n* microsatellites from native white shrimp (*Penaeus setiferus*). Molecular Ecology 7:1251-1253
- Ball AO, Chapman RW (2003) Population genetic analysis of white shrimp, *Litopenaeus setiferus*, using microsatellite genetic markers. Molecular Ecology 12:2319-2330.
- Ballester EL (2003) Influência do biofilme na sobrevivência e no crescimento de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* cultivados em sistema de berçário no estuário da Lagoa dos Patos. Dissertação (Mestrado). 95 p.
- Beaumont AR, Croucher T (2006) Limited stock structure in UK populations of the Brown shrimp, *Crangon crangon*, identified by morphology and genetics. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 86:1107-1112.
- Begg GA, Friedland KD, Pearce JB (1999) Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. Fisheries Research 43:1-8.
- Benzie JAH (2000) Population genetic structure in penaeid prawns. Aquaculture Research 31:95-119.

- Booke HE (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, Espinosa G, Romo J Blanco G, Vázquez E, Sánchez JA (2004) DNA microsatellite variability and genetic differentiation among natural populations of the cuban White shrimp *Litopenaeus schmitti*. *Marine Biology* 144:327-333.
- Brisson S (1977) Estudo da população de peneídeos na área de Cabo Frio. II - Distribuição sazonal de post-larvas de camarão "rosa" (*Penaeus brasiliensis* Latreille e *Penaeus paulensis* Pèrez-Farfante) na entrada do canal da laguna de Araruama – Cabo Frio – Rio de Janeiro, Brasil. *Publicações do Instituto Pesqueiro da Marinha* 101: 1-19.
- Brooker AL, Benzie JAH, Blair D, Versini J-J (2000) Population structure of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* in Australian waters, determined using microsatellite markers. *Marine Biology* 136:149-157.
- Burnaby T (1966) Growth-Invariant Discriminant Functions and Generalized Distances. *Biometrics* 22:96-110.
- Cadrin S (2000) Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v.10, p. 91-112.
- Camargo WN, Ely JS, Sorgeloos P (2003) Morphometric characterization of thalassohaline *Artemia franciscana* populations from the Colombian Caribbean. *Journal of Biogeography* 30:697-702.
- Castilho AL, Gavio MA, Costa RC, Boschi EE, Bauer RT, Fransozo A (2007) Latitudinal variation in population structure and reproductive pattern of

- the endemic south american shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda : Penaeoidea). *Journal of Crustacean Biology* 27:548-552.
- Chakraborty R, De Andrade M, Daiger SP, Budowle B (1992) Apparent heterozygote deficiencies observed in DNA typing data and their implications in forensic applications. *Annals of Human Genetics*, **56**: 45-47.
- Costa RC, Fransozo A, Pinheiro AP (2004). Ecological distribution of the shrimp *Pleoticus muelleri* (Bate, 1888) (Decapoda, Penaeoidea) in southeastern Brazil. *Hydrobiologia* 529:195-203.
- Creasey S, Rogers A, Tyler P, Gage J, Jollivet D (2000) Genetic and morphometric comparisons of squat lobster, *Munidopsis scobina* (Decapoda: Anomura: Galatheididae) populations, with notes on the phylogeny of the genus *Munidopsis*. *Deep Sea Research Part II* 47:87-118.
- D'Amato ME, Corach D (1996) Genetic diversity of populations of the freshwater shrimp *Macrobrachium borellii* (Caridea, Palaemonidae) evaluated by RAPD analysis. *Journal of Crustacean Biology* 16:650-5
- Delevedove GCD (1996) Genética populacional do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Decapoda: Penaeidae) na região estuarina da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul, e no litoral de Santa Catarina. Dissertação (Mestrado). Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.
- Delgado IM, Souza JD, Silva LC, Silveira Filho NC, Santos RA, Pedreira AJ, Guimarães JT, Angelim LAA, Vasconcelos AM, Gomes IP, Lacerda Filho JV, Valente CR, Perrotta MM, Heineck CA (2003) Geotectônica do escudo atlântico. 227-258 p. In: Bizzi LA, Schobbenhaus C, Vidotti RM,

- Gonçalves JH (editores). Geologia, tectônica e recursos minerais do Brasil : texto, mapas e SIG. Brasília : CPRM – Serviço Geológico do Brasil. 692 p.
- Díaz-Jaimes P, Barbosa-Saldaña M, Uribe-Alcocer M (2006) Allozyme variation in eastern Pacific brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis* populations. Fisheries Science, v.72, p. 696-698.
- D’Incao F, Calazans DK (1978) Relações biométricas do “camarão rosa” *Penaeus paulensis* Pérez Farfante, 1967, na Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Atlântica 3:57-66.
- D’Incao F (1983) Estudo do crescimento e da mortalidade de *Penaeus (Farfantepenaeus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 na Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- D’Incao F (1995) Taxonomia, padrões populacionais e ecológicos dos dendrobranchiata (Crustacea: Decapoda) do Brasil do Atlântico ocidental. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- D’Incao F, Valentini H, Rodrigues LF (2002) Avaliação da pesca de camarões nas regiões sudeste e sul do Brasil 1965-1999. Atlântica 24(2):103-116.
- Drengstig A, Felvolden S, Galand PE, Aschan MM (2000) Population structure of the deep-sea shrimp (*Pandalus borealis*) in the north-east Atlantic based on allozyme variation. Aquatic Living Resources 2(13):121-128.
- Ferreira ME, Grattapaglia D (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 220p. Brasília: EMBRAPA.
- Francisco AK, Pinheiro AP, Silva TB, Galetti Jr PM (2008) Isolation and characterization of microsatellites in three overexploited penaeid shrimp

species along the Brazilian coastline. *Conserv Genet* DOI
10.1007/s10592-008-9570-9

Goudet J (1995) FSTAT, Version 1.2: A computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86:485-486.

Gusmão J, Lazoski C, Solé-Cava AM (2005) Population genetic structure of Brazilian shrimp species (*Farfantepenaeus* sp., *F. brasiliensis*, *F. paulensis* and *Litopenaeus schmitti*: Decapoda: Penaeidae). *Genetics and Molecular Biology* 28:165-171.

Gusmão J, Lazoski C, Monteiro FA, Solé-Cava AM (2006) Cryptic species and population structuring of the Atlantic and Pacific seabob shrimp species, *Xiphopenaeus kroyeri* and *Xiphopenaeus riveti*. *Mar Biol* 149:491–502.

IBAMA (2003) Estatística da pesca 2001 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Ibama. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/wp-content/files/estati2001.pdf>

IBAMA (2004) Estatística da pesca 2002 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Ibama. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/wp-content/files/estati2002.pdf>

IBAMA (2005) Estatística da pesca 2003 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Ibama. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/wp-content/files/estati2003.pdf>

IBAMA (2006) Estatística da pesca 2004 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Ibama. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/wp-content/files/estati2004.pdf>

- IBAMA (2007) Estatística da pesca 2005 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Ibama. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/wp-content/files/estati2005.pdf>
- IBAMA (2008) Estatística da pesca 2006 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Ibama. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/documentos/estatistica-pesqueira/>
- IBGE (2007a) Mapas temáticos: bioma. Disponível em: ftp://geofp.ibge.gov.br/mapas/tematicos/mapas_murais/biomas.pdf.
- IBGE (2007b) Mapas temáticos: clima. Disponível em: ftp://geofp.ibge.gov.br/mapas/tematicos/mapas_murais/clima.pdf
- Ihssen PE, Booke HE, Casselman JM, McGlade JM, Payne NR, Utter FM (1981) Stock identification: materials and methods. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.
- Iwai M (1978) Desenvolvimento larval e pós-larval de *Penaeus (Melicertus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 (Crustacea, Decapoda) e o ciclo de vida dos camarões do gênero *Penaeus* da região centro-sul do Brasil. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Jerry DR, Preston NP, Crocos PJ, Keys S, Meadows JRS, Li Y (2004) Parentage determination of kuruma shrimp *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* using microsatellite markers (Bate). *Aquaculture* 235:237-247.
- Leite Jr NO, Petreire Jr M (2006) Stock assessment and fishery management of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* Latreille, 1970 and *F. paulensis* Pérez-Farfante, 1967 in Southeastern Brazil (23° to 28° S). *Brazilian Journal of Biology* 66:263-277.

- Liu P, Meng X, Kong J, He Y, Wang Q (2006) Polymorphic analysis of microsatellite DNA in wild populations of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). *Aquaculture Research* 37:556-562.
- Loneragan NR, Ye Y, Kenyon RA, Haywood MDE (2006) New directions for research in prawn (shrimp) stock enhancement and the use of models in providing directions for research. *Fisheries Research* 80:91-100.
- 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 (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Maggioni R, Rogers AD (2002) Microsatellites primers for three western Atlantic *Farfantepenaeus* prawn species. *Molecular Ecology Notes* 2:51-53.
- Maggioni R, Rogers AD, Maclean N (2003) Population structure of *Litopenaeus schmitti* (Decapoda: Penaeidae) from the Brazilian coast identified using six polymorphic microsatellite loci. *Molecular Ecology* 12:3213-3217.
- McMillen-Jackson AL, Bert TM (2003) Disparate patterns of population genetic and population history in two sympatric penaeid shrimp species (*Farfantepenaeus aztecus* and *Litopenaeus setiferus*) in the eastern United States. *Molecular Ecology* 12:2895-2905.
- 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.
- Mizoguchi SMHN, Martins-Santos IC (1998) Cytogenetic and morphometric differences in populations of *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae)

- from Maringá region, PR, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* [online] vol 21.
- Moore SS, Whan V, Davis GP, Byrne K, Hetzel DJS, Preston N (1999) The development and application of genetic markers for the kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 173:19–32.
- Oosterhout CV, Hutchinson WF, Wills DPM Shipley P (2004) Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4:535–538.
- Paetkau D, Calvert W, Stirling I, Strobeck C (1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4:347-354.
- Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A (2004) Direct, real-time estimation of migration rate using assignment methods: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology*. 13:55-65.
- Palma J, Andrade JP (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 SR (1992) Marine speciation on a small planet. *Trends in Ecology & Evolution* 7:114-118.
- Palumbi SR (1994) Genetic-divergence, reproductive isolation, and marine speciation *Annual Review of Ecology and Systematics* 25:547-572.
- Philipp DP, Epifanio JM, Jennings MJ (1993) Point-Counterpoint - Conservation genetics and current stocking practices - Are they compatible? . *Fisheries* 18:14-17.

- Pinheiro AP (2008) Estrutura genética e biométrica de *Farfantepenaeus brasiliensis* em tres localidades do Estado do Rio Grande do Norte. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet J-M, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A (2004) GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity* 95:536-539.
- Rannala B, Mountain JL (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, Rousset F (1995) Genepop, Version 1.2: Population genetics software for exact tests and eucumenicism. *Journal of Heredity* 86:248-249.
- Rice WR (1989) Analizing tables of statistical test. *Evolution* 43:223-225.
- Santos MHS (2003) Alimentação do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) (DECAPODA, PENAEIDAE) cultivado. Tese (Doutorado). Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.
- Sardà F, Bas C, Roldàn MI, Pla C, Lleonart J (1998) Enzimatic and morphometric analyses in mediterranean populations of the rose shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). *Journal of experimental marine biology and ecology* 221:131-144.
- Schuelke M (2000) An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18:233-234.
- Seigel S, Castellan NJ Jr (1988) Nonparametrics statistics for the behavioral sciences. New York: Mcgraw-Hill.

- Silva A (2003) Morphometric variation among sardine (*Sardina pilchardus*) populations from the northeastern Atlantic and the western Mediterranean. ICES Journal of Marine Science 60:1352-1360.
- Silva TB (2007) Estudo populacional em camarões marinhos *Rimapenaeus constrictus* (Stimpson, 1874), baseados em dados genéticos e morfométricos. Dissertação. UFSCar, São Carlos.
- Sugaya T, Ikeda M, Taniguchi N (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*. Fish Sci 68:793–802
- Supungul P, Sootanan P, Klinbunga S, Kamonrat W, Jarayabhand P, Tassanakajon A (2000) Microsatellite polymorphism and the population structure of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand. Mar Biotechnol 2:339–347
- Thorpe JP, Solé-Cava AM, Watts PC (2000) Exploited marine invertebrates: genetics and fisheries. Hydrobiologia 420:165-184.
- Tsoi KH, Chan TY, Chu KG (2007) Molecular population structure of the kuruma shrimp *Penaeus japonicus* species complex in western Pacific. Mar Biol (2007) 150:1345–1364.
- Tzeng T, Yeh S (2002) Multivariate allometric comparisons for kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) of Taiwan. Fisheries Research 59: 279-288.
- Tzeng T (2004) Stock identification of sword prawn *Parapenaeopsis hardwickii* in the East China Sea and Taiwan Strait inferred by morphometric variation. Fisheries Science 70:758-764.

- Valles-Jimenez R, Cruz P, Perez-Enriquez R (2005) Population Genetic Structure of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: Microsatellite DNA Variation. *Marine Biotechnology* 6:475-484.
- Vasconcelos AV, Vianna P, Paiva PC, Schama R Solé-Cava AM (2008) Genetic and morphometric differences between yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus*, Lutjanidae) populations of the tropical West Atlantic. *Genetics and Molecular Biology* 31:308-316.
- Voloch C, Sole-Cava A (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.
- Ward RD (2000) Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia* 420:191-201.
- Ward RD (2006) The importance of identifying spatial population structure in restocking and stock enhancement programmes. *Fisheries Research* 80:9-18.
- Ward RD, Ovenden J, Meadows J, Grewe P, Lehnert S (2006) Population genetic structure of the brown tiger prawn, *Penaeus esculentus*, in tropical northern Austrália. *Marine Biology* 148:599-607.
- Wasielesky WJ (2000) Cultivo de juvenis do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda, Penaeidae) no estuário da Lagoa dos Patos: Efeitos de parâmetros ambientais e manejo de cultivo. Tese (Doutorado). Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population-structure. *Evolution* 38:1358-1370.
- Wright S (1978) *Variability Within and Among Natural Populations*. The University of Chicago Press. edition, Chicago.
- Xu Z, Primavera JH, Pena LD, Petit P, Belak J, Alcivar-Warren A (2001) Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. *Aquaculture* 199:13-40.
- Ye Y, Loneragan N, Die D, Watson R, Harch B (2005) Bioeconomic modelling and risk assessment of tiger prawn (*Penaeus esculentus*) stock enhancement in Exmouth Gulf, Australia. *Fisheries Research* 73:231-249.
- Zenker HH, Agnes JL (1977) Distribuição do camarão-rosa *Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis* ao longo da costa sudoeste e sul do Brasil. *Doc. Tec. SUDEPE-PDP* 21:1-105.