

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE TROPICAL**

**BASES BIOLÓGICAS PARA PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DO
ROBALO-PEVA (*Centropomus parallelus*. POEY, 1860) NO
LITORAL DO ESPÍRITO SANTO: ASPECTOS GENÉTICOS E
ZOOTÉCNICOS.**

RODRIGO SILVA ARAÚJO

Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Tropical

Mestrado em Biodiversidade Tropical

RODRIGO SILVA ARAÚJO

**BASES BIOLÓGICAS PARA PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL
DO ROBALO-PEVA (*Centropomus parallelus*. POEY, 1860)
NO LITORAL DO ESPÍRITO SANTO: ASPECTOS
GENÉTICOS E ZOOTÉCNICOS.**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Biodiversidade Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Orientador: Samuel Rezende Paiva, Dcs.

Co-orientador: Julien Chiquieri, Dcs.

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Araújo, Rodrigo Silva, 1986-

Bases biológicas para produção sustentável do robalo-peva (*Centropomus parallelus*. Poey, 1860) no litoral do espírito santo: aspectos genéticos e zootécnicos. [São Mateus], 2014.

Xii, 76 p., 29,7cm (UFES, M. Sc., Biodiversidade Tropical, 2014)

Dissertação, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGBT.

I. PPGBT/CEUNES/UFES.....II. Bases biológicas para produção sustentável do robalo-peva (*Centropomus parallelus*. Poey, 1860) no litoral do espírito santo: aspectos genéticos e zootécnicos.

Bases biológicas para produção sustentável do robalo-
peva (*Centropomus parallelus*. Poey, 1860) no litoral do
Espírito Santo: aspectos genéticos e zootécnicos.

Rodrigo Silva Araújo

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade Tropical.

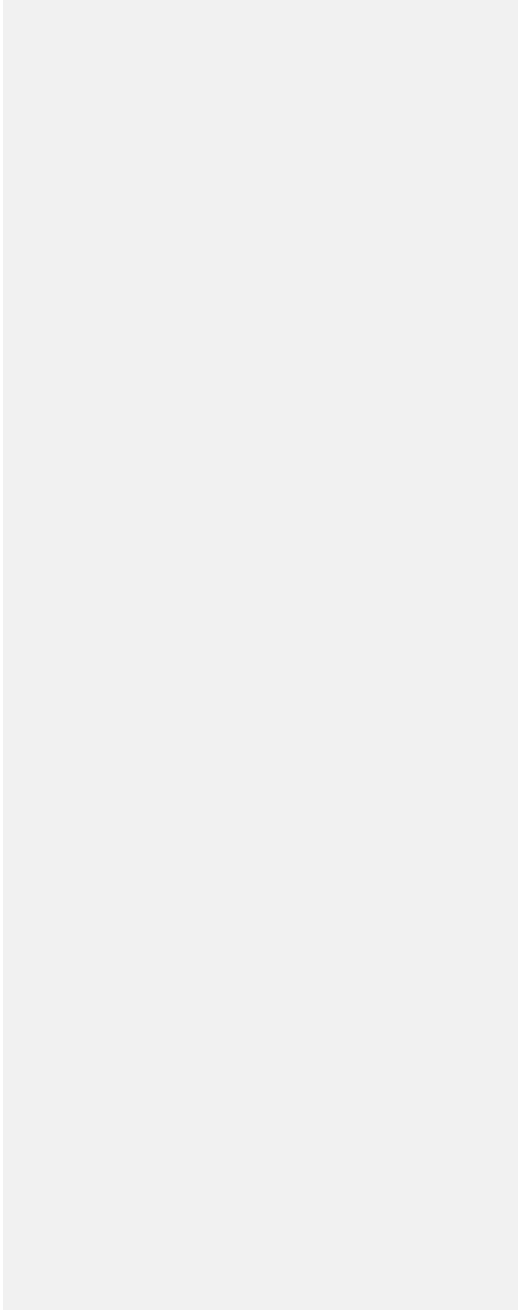
Aprovado em 13/03/2014 por:

Prof. Samuel Rezende Paiva, Dsc. –
Orientador, EMBRAPA

Prof. Julien Chiquieri, Dsc. –
Co-orientador, UFES

Prof. Vander Calmon Tosta, Dsc. - UFES

Prof. Marcelo Fanttini Polese, Dsc.- IFES



Cuide de seus pensamentos; eles se tornam palavras.
Cuide de suas palavras; elas se tornam ações.
Cuide de suas ações, elas se tornam hábitos.
Cuide de seus hábitos; eles se tornam caráter.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Samuel Rezende Paiva, pela oportunidade de aperfeiçoamento dos conhecimentos, pela paciência e boa vontade que possibilitaram a realização do presente trabalho.

Ao co-orientador Julien Chiquieri, pela amizade e confiança depositada durante todos esses anos de trabalho.

Ao professor e amigo Mauricio Hostim, pelo incentivo constante na minha carreira profissional.

Ao professor Levy, por nos inserir na bela iniciativa da Rede Capixaba de Pesquisa com Robalo peva – RECAPER.

Ao Centro Universitário Norte do Espírito Santo – CEUNES/UFES e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA CENARGEN Recursos Genéticos e Biotecnologia.

A CAPES e FAPES pela concessão da bolsa e por financiar boa parte dos experimentos.

Ao Lapinha e todos os membros da Associação de Pescadores de São Mateus – APESAM, pela área e mão de obra cedidas para execução dos experimentos e pelas boas prozas na beira do rio.

A Empresa Nutriave, por colaborar com a fabricação das rações utilizadas nos experimentos.

A todos os meus familiares que sempre me incentivaram, em especial aos meus avós e pais, que nunca deixaram de acreditar e investirem suas confianças em mim.

Aos grandes amigos e amigas, Felipe Carvalho, Gabriela Fink, Michelle Bolzan e Alex Fávoro.

A Daniella, Letícia e ao Pitanga, por todo carinho e excelente hospitalidade recebida durante minha estadia em Brasília. Serei eternamente grato a cada um de vocês!

A toda equipe do Laboratório de Genética e Conservação Animal - LGCA, em

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE FIGURAS	11
RESUMO	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO GERAL	15
Objetivos	17
CAPÍTULO 1- Desenvolvimento de uma ração para robalo-peva (<i>Centropomus parallelus</i>, Poey 1860)	18
Resumo	19
Introdução	20
Material e métodos	21
Resultados	29
Discussão	32
Conclusão	38
Referências bibliográficas	39
CAPÍTULO 2- Diversidade genética do robalo-peva (<i>Centropomus parallelus</i>, Poey 1860): Desafios da piscicultura e conservação da espécie	47
Resumo	48
Introdução	49
Material e métodos	51
Resultados	56
Discussão	62

LISTA DE TABELAS

Tabela	Capítulo 1	Página
1	Composição percentual de uma ração experimental formulada para fase de engorda e terminação do robalo-peva (<i>Centropomus parallelus</i>).	23
2	Parâmetros de qualidade da água medidos nos dois sistemas experimentais de cultivo do <i>C. parallelus</i> . São Mates, ES.	24
3	Valores nutricionais das rações utilizadas nos experimentos conforme disponibilizado pelos fabricantes.	28
4	Ganho de Peso (GP) e Taxa de Crescimento Específico (TCE) de juvenis de <i>C. parallelus</i> ao passarem por um período de 15 dias de restrição alimentar seguidos de mais 15 dias com alimentação diária.	30
5	Avaliação do grau de crescimento compensatório medido através do Ganho de Peso (GP) e Taxa de Crescimento Específico (TCE) em juvenis de <i>C. parallelus</i> após 30 dias de experimento.	31
6	Ganho de peso (GP), Taxa de Crescimento Específico (TCE), Índice hepatossomático (IHS) e Índice de gordura visceral (IGV) de juvenis de <i>C. parallelus</i> alimentados com diferentes granulometrias da ração experimental.	31
7	Fator de condição K de juvenis de <i>C. parallelus</i> alimentados com diferentes granulometrias de uma ração experimental formulada para espécie.	32
8	Ganho de peso (GP), Taxa de Crescimento Específico (TCE) de juvenis de <i>C. parallelus</i> alimentados com diferentes granulometrias da ração experimental	32
9	Ganho de Peso (g) e Taxa de Crescimento Específico (%cm/dia) em juvenis de <i>C. parallelus</i> alimentados com três	33

Tabela	Capítulo 2	Página
1	<i>Protocolo utilizado para extração de mtDNA de nadadeiras do</i>	53
2	Quantidade de reagentes para produzir 200 ml de solução tampão de extração a partir de 160 ml de água deionizada.	54
3	Padronização de PCR para o gene citocromo b em nadadeiras de <i>Centropomus parallelus</i> .	54
4	Perfil do termociclador para amplificação de mtDNA, gene citocromo b, em nadadeiras de <i>Centropomus parallelus</i> .	55
5	Protocolo de reação de sequenciamento para o gene citocromo b extraídos de nadadeiras de <i>Centropomus parallelus</i> .	56
6	Perfil do termociclador para reação de sequenciamento de mtDNA, gene citocromo b, extraídos de nadadeiras de <i>Centropomus parallelus</i> .	56
7	Diversidade Intra-populacional observada entre as localidades deste trabalho e de Prodocimo et al., 2008.	57
8	Composição nucleotídica dos haplótipos identificados no presente estudo bem como no trabalho de Prodocimo <i>et al.</i> (2008). Hap = haplótipo. Cada número na primeira linha corresponde a posição do SNP identificado na sequência do citocromo b estudada	58
9	Frequência de cada Haplótipo identificado nas localidades estudadas. A identificação genética de cada haplótipo pode ser observada na Tabela 6.	59
10	Haplótipos ancestrais mais frequentes da espécie <i>C. parallelus</i> distribuídos em quatro estados da costa brasileira.	60
11	Diversidade Intra-populacional do robalo-peva (<i>Centropomus parallelus</i>) na costa do Brasil.	60

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura		Página
1	Croqui do sistema fechado de recirculação contínua de água utilizado nos experimentos com juvenis de <i>Centropomus parallelus</i> no Centro Universitário Norte do Espírito Santo –CEUNES/UFES. São Mateus, ES.	23
2	Tanques rede utilizados em testes de cultivo de <i>c. parallelus</i> na área de piscicultura da Associação de Pescadores de São Mateus – APESAM. São Mateus, ES.	27
3	(a) Biometria e (b) pesagem do <i>C. parallelus</i> utilizando, respectivamente, um ictiometro artesanal (precisão milimétrica) e pesola com capacidade máxima de 100g (precisão de 1g).	28

Figura	Capítulo 2	Página
1	Localidades da costa brasileira onde foram realizadas amostragens de <i>Centropomus parallelus</i> para estudo da diversidade genética.	51
2	Gel de Agarose com uma amostra das ampliações obtidas por PCR de uma região do gene mitocondrial citocromo b, de <i>Centropomus parallelus</i> .	54
3	Haplótipos identificados nas sequências do citocromo b da espécie <i>Centropomus parallelus</i> na costa do Espírito Santo.	60
4	Haplótipos identificados nas sequências do citocromo b da espécie <i>Centropomus parallelus</i> em quatro estados da costa brasileira.	60
5	Rede de haplótipos de <i>Centropomus parallelus</i> identificados após sequenciamento de 759 pb do gene mitocondrial Citocromo b. Vermelho: Espírito Santo; Amarelo: Rio de Janeiro; Azul: Santa Catarina; Verde: Bahia; Negro: PRODOCIMO et al., (2008). Cada círculo na figura representa um haplótipo identificado no estudo e seu tamanho é proporcional ao número de animais que apresentam o haplótipo. o tamanho das linhas que conectam os círculos é proporcional ao número de mutações (SNPs) que diferenciam os haplótipos; O número em vermelho nas linhas representa a posição da mutação referente a tabela 8.	61

RESUMO

A piscicultura marinha sempre se apresentou extremamente promissora frente a extensão do litoral do Brasil. Contudo, para que isso se torne uma realidade estudos sistemáticos das espécies alvo tem de ser otimizados. Dessa, forma o presente trabalho contribuiu com informações tanto sobre os aspectos nutricionais bem como aspectos genéticos do robalo-peva *Centropomus parallelus* no litoral do Estado do Espírito Santo. Foram realizados cinco experimentos, na área de nutrição, em que foram avaliados os seguintes parâmetros nutricionais: (a) o grau de crescimento compensatório; (b) aplicação de diferentes granulometrias do pellet para ração experimental; (c) comparações entre rações comerciais e a experimental e, por fim; (d) o impacto do uso de Vitamina C e prebiótico sob o desenvolvimento da espécie. Os resultados obtidos comprovam a existência de crescimento compensatório da espécie em grau de compensação total e que a granulometria ideal do pellet da ração foi de 4 mm ($p < 0,05$). A ração INVE NRD e a Ração Experimental foram superiores para os índices de ganho de peso e taxa de crescimento específico ($p < 0,05$). Entretanto, não foi observado diferenças significativas ($p < 0,05$) para uso de aditivos na ração comercial. Para as análises genéticas, foram analisados 759pb do gene citocromo b em 107 amostras de robalo peva em quatro estados da costa da brasileira. Os resultados obtidos indicam que não há grande estruturação genética entre populações estudadas (AMOVA 4,59; $p < 0,00098$), contudo foi observado uma grande quantidade de haplótipos específicos em várias localidades mas em baixa frequência. Os resultados obtidos irão permitir uma otimização do sistema de produção dos animais bem como sugerem que amostras introduzidas de outros Estados não irão impactar os animais da costa do ES.

ABSTRACT

The Brazilian coast was always promising for aquaculture mainly because it's broad extension however, there is a substantial need of biological information from the target species. The aim of this study was increase the nutritional and genetic knowledge from the Fat Snook (*Centropomus parallelus*) along the Espírito Santo State coast (Southeast Brazil) by the execution of five experiments. Four experiments were conducted in the nutrition field, where the following parameters were evaluated: (a) the degree of compensatory growth observed in the specie; (b) test to define optimal particle size pellet for an experimental diet; (c) growth performance test between commercial and experimental diets; and (d) growth performance test for a diet supplemented with Vitamin C and probiotic. The results confirm the existence of full compensatory growth in the Fat Snook and the observation that 4 mm particle size pellet performed better with the experimental diet ($p < 0.05$). The commercial INVE NRD and experimental diets showed the best growth rate ($p < 0.05$), nevertheless no significant differences ($p < 0.05$) were observed for vitamin C and supplemented diets. For genetic study was analyzed 759 bp from mitochondrial cytochrome b gene in 107 samples originated from four Brazilian States. The results indicate that there is low genetic structure among populations studied (AMOVA 4. 59; $p < 0.00098$), however it were observed a large amount of rare haplotypes in several locations. The patterns observed in this study will permit an optimization of the Fat Snook production system and suggest that samples introduced from other states might not impact the animals of Espírito Santo coast.

Key words; Aquaculture, native species, animal genetic resources conservation, molecular markers.

INTRODUÇÃO GERAL

A produção mundial de pescado até o ano 2000, era proveniente em grande parte da pesca extrativista, onde muitos barcos capturavam poucos peixes, demonstrando uma produção limitada do setor, perante uma crescente demanda do mercado por organismos aquáticos (CREPALDI *et al.*, 2007). Nesse cenário de pouca oferta e muita procura, a aquicultura tornou-se uma excelente alternativa para atender o mercado, avançando com produção e chegando atualmente a contribuir com 42% na produção mundial de pescado (FAO, 2010). Segundo a mesma instituição, a expectativa é que a atividade se torne a principal fornecedora de pescado até 2020.

O Brasil, contém a maior reserva de água doce superficial do planeta (6.000 bilhões de m³; ANA, 2009), 8500 km de costa marinha, condições climáticas favoráveis (CAVALLI, *et al.*, 2011) e uma rica diversidade de espécies nativas com potencial para o cultivo. Segundo o boletim estatístico do ano de 2010 (BRASIL, 2011), o Brasil é o 17º colocado no ranking mundial de produção aquícola, tendo a tilápia, uma espécie exótica, como principal peixe cultivado. Em ambiente marinho, a produção é considerada inexistente.

Algumas espécies nativas da costa brasileira se destacam pelo potencial o cultivo, sendo elas: os robalos (*Centropomus spp.*); as garoupas (*Epinephelus spp.*); os vermelhos (*Lutjanus spp.*) e o beijupirá (*Rachycentron canadum*). Porém, para que a atividade se consolide e possa atender as demandas, bem como para que o Brasil caminhe de acordo com o panorama mundial da aquicultura, torna-se de fundamental importância o investimento em pesquisa e o desenvolvimento de tecnologia de produção.

O robalo-peva (*Centropomus parallelus*) é uma das poucas espécies marinhas que possui informações sobre sua tecnologia produtiva (NEVES, 2008). A espécie é

A espécie é considerada um dos recursos pesqueiros mais importantes, do ponto de vista social, para as populações humanas tradicionais do litoral do Brasil. A exploração desse recurso, inicialmente equilibrada e sustentável, exercida principalmente como fonte de subsistência através da pesca, passou a ser cada vez mais intensiva em decorrência da demanda do mercado e da pesca recreativa (TIBA, 2007).

O litoral do Estado do Espírito Santo possui ecossistemas aquáticos continentais, onde o robalo habita suas águas costeiras além de adentrar nos seus estuários e rio. Segundo o boletim estatístico da pesca do Espírito Santo (BRASIL, 2013), o estado produziu em 2011, com pesca extrativista, 4500 Kg das espécies *C. parallelus* e *C. undecimalis*. Diante do potencial hídrico e com o domínio técnico da reprodução artificial, esse peixe passa a ser uma alternativa de renda, atendendo assim, aos programas de piscicultura em águas continentais, estuarinas e marinhas (AOKI *et al.*, 2002).

Motivada pelas aptidões para a piscicultura marinha, foi criada a Rede Capixaba de Pesquisa com robalo peva – RECAPER, uma organização multistitucional, formada para estudar a viabilidade do cultivo sustentável da espécie. A rede formou importantes parcerias entre a empresa privada de piscicultura marinha, que desenvolveu e adaptou tecnologia de produção de larvas de robalo-peva em escala comercial, uma fábrica de ração animal, produzindo rações específicas para a espécie, com o Centro Universitário Norte do Espírito Santo – CEUNES/UFES, a Associação dos Pescadores de São Mateus – APESAM e a Universidade de Vila Velha – UVV. Desde 2010 a rede vem executando experimentos com *C. parallelus*, sendo essa dissertação uma consequência dessa linha de pesquisa criada nos últimos anos.

Certos avanços já foram alcançados com relação à produção da espécie, obtendo

produtores utilizar para alimentação do robalo-peva, rações para peixes carnívoros de água doce (TSUZUKI & BERESTINAS, 2008).

Outro aspecto relevante para otimização da fase de terminação e engorda, são os possíveis avanços gerados por programas de melhoramento genético. Segundo RESENDE *et al.* (2008) o melhoramento de espécies nativas é a chave para o desenvolvimento da aquicultura do Brasil, pois gera consideráveis incrementos na taxa de crescimento, refletindo em redução no custo de produção e alto desempenho zootécnico.

Perante a preocupação com a conservação e as lacunas existentes na piscicultura do *C. parallelus*, o presente estudo avaliou a estrutura genética de diferentes populações, formando uma base de dados para futuros programas de melhoramento genético e verificou, através de experimentos, os efeitos de uma ração experimental no cultivo do *C. parallelus*.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Realizar estudos zootécnicos e genéticos do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, de forma a subsidiar as bases para futuros programas de conservação, piscicultura e melhoramento genético da espécie.

Objetivos específicos

Avaliar a diversidade genética da espécie *C. parallelus* por meio de marcadores de

CAPÍTULO 1: Desenvolvimento de uma ração para robalo-peva (*Centropomus parallelus*, Poey 1860)

RESUMO

A piscicultura marinha sempre se apresentou extremamente promissora frente a extensão do litoral do Brasil. Contudo, para que isso se torne uma realidade estudos sistemáticos das espécies alvo tem de ser otimizados. Dessa, forma o presente trabalho contribuiu para adicionar conhecimentos sobre os aspectos nutricionais do robalo-peva (*C. parallelus*). De forma específica, foi formulado uma ração experimental e por meio de cinco experimentos foram avaliados os seguintes parâmetros: (a) grau de crescimento compensatório; (b) comparação entre ração de peixes onívoros e a experimental; (c) aplicação de diferentes granulometrias do pellet para ração experimental; (d) comparações entre rações comerciais e a experimental e, por fim; (e) o impacto do uso de Vitamina C sob o desenvolvimento da espécie. Os experimentos foram conduzidos em sistema de recirculação e tanques rede localizados respectivamente no Centro Universitário Norte do Espírito Santo – CEUNES/UFES e no estuário do rio São Mateus, ES. Os resultados obtidos comprovam a existência de crescimento compensatório da espécie em grau de compensação total. A ração experimental proporcionou melhores desenvolvimento dos peixes quando comparados aos alimentados com a ração para peixes onívoros. Para granulometria de pellet, a que melhor proporcionou desenvolvimento dos peixes foi a ração de 4 mm ($P < 0,05$). Dentre as diferentes rações avaliadas no quarto experimento, a ração Importada e a Ração Experimental, obtiveram resultados estatísticos superiores para os índices de ganho de peso e taxa de crescimento específico. Avaliando o uso de vitamina C na ração experimental, os resultados não mostraram diferença estatística entre os tratamentos.

INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da tecnologia de produção massiva de juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) em laboratórios, diversos locais no Brasil realizam tentativas de engorda da espécie, embora de forma não quantificada e instável (CERQUEIRA, 2005). A falta de informação sobre às exigências nutricionais, juntamente com a determinação do tipo de ração e o adequado manejo alimentar tornam-se os principais entraves para viabilidade do cultivo.

Os gastos com alimentação representam entre 60 e 80% do custo total da produção (KUBITZA, 1999). Segundo WEATHERLEY & GILL (1987) dietas balanceadas influenciam o comportamento, a integridade estrutural, a saúde, as funções fisiológicas e a reprodução. Para GODDARD (1996) e KUBITZA & LOVSHIN (1999), além de dietas balanceadas, o conhecimento de estratégias alimentares ótimas é essencial para maximizar uma produção aquícola. No caso do robalo-peva, pouco se sabe sobre sua alimentação.

Assim como os demais peixes carnívoros, o robalo-peva possui intestino curto e menos eficiente, quando comparado aos peixes onívoros. No entanto para haver crescimento dos tecidos, que geram os desejados índices produtivos, essa espécie, assim como na natureza, deve consumir alimentos com elevados níveis de proteína, para compensar sua ineficiência digestiva. TUCKER (2000) sugere que para peixes marinhos, como é o caso da espécie, os níveis de proteína no alimento estão próximos a 50%.

Atualmente, nos modernos sistemas de aquacultura intensiva, os peixes são criados em altas densidades utilizando grandes quantidades de ração. Sob estas condições certamente haverá alta concentração de amônia, oriunda dos excrementos ou da excreção de nitrogênio, conjuntamente com a diminuição dos

GONÇALVES (2009) sugere que o uso de dietas contendo aditivos pode ser uma medida preventiva com o intuito de auxiliar na manutenção do bem estar metabólico e contribuindo, conseqüentemente, para a melhora do desempenho animal.

Além de determinar dietas balanceadas e adequadas, o conhecimento de estratégias alimentares ótimas são essenciais. Segundo CAMARGO *et al.* (2008), em sistemas de cultivo o fornecimento diário de alimento pode ser desnecessário, já que os peixes passam naturalmente por períodos de jejum durante o ciclo de vida. Tal fenômeno natural é conhecido tecnicamente como “crescimento compensatório” e seus efeitos na piscicultura sob a diminuição do custo de produção, mão-de-obra e descarga de matéria orgânica na água já foram descritos por ALI *et al.* (2003), RIBEIRO (2007), ORTIZ *et al.* (2008), SALOMÃO *et al.* (2011), SANTOS (2011) e JOBLING *et al.* (1994).

Considerando a engorda do robalo-peva um tema muito questionado e com poucos estudos consistentes acerca do assunto, o presente trabalho analisou o desenvolvimento do *C. parallelus* através de cinco experimentos.

MATERIAL E MÉTODO

Foram realizados cinco experimentos para analisar o desenvolvimento do robalo peva alimentados com uma ração experimental extrusada (tabela 1). Os dados de exigências nutricionais para formulação da ração foram baseados nas seguintes bibliografias: NUTRIENT REQUIREMENTS OF WARMWATER FISHE (1983); CAVALHEIRO (2000); NUTRIENT REQUEREMENTS OF FISH (2003); SOUZA *et al.* (2010). A quantidade de ração ofertada diariamente em todos os experimentos foi baseada em 3% da biomassa do tanque (OLIVEIRA; 2013).

soltura e ainda fechados, os sacos foram mantidos flutuando na superfície da água dos tanques por uma hora, para aclimação da temperatura.

Tabela 1. Composição percentual de uma ração experimental formulada para fase de engorda e terminação do robalo-peva (*Centropomus parallelus*).

Alimentos	%
Farinha de peixe 55 FAPESA	53,86
Gordura de aves NT	4,63
Quirera de arroz NT brus	10
2010 - Premix peixe vaccinar	1,0
Vitamina C 35 PROT	0,02
Proteína de soja concentrada	24,35
Níveis de Garantia da ração	
Gordura (Gord)	12,00%
Cálcio (Ca)	4,80%
Amido (Amido)	10,46%
Potássio (K)	0,82%
Ferro (Fe)	450,29 mg/kg
Zinco (Zn)	261,73 mg/kg
Vitamina A (VitA)	20,00 KUI/kg
Vitamina C (VitC)	600,00 UI/kg
Acido Pantotênico	37,50 mg/kg
Triptofano (Tript)	0,43%
Materia Seca (MS)	88,78%
Proteína (PB)	47,77%
Fibra (FB)	1,37%
Fósforo (P)	2,56%
Ac. Linolênico w3 (W3)	10,94%
Sódio (Na)	0,41%
Cobre (Cu)	32,19 mg/kg
Iodo (I)	1,25 mg/kg
Vitamina D (VitD)	5,00 KUI/kg
Tiamina (TIB1)	25,00 mg/kg
Fenilalanina-Tironin	3,28%
Valina (Valin)	2,27%
Proteína Animal	32,32%
Cinzas (Cinza)	17,92%
Energia Metabolizada	3,3580 Mcal/Kg
Ác. Linoleico w6 (W6)	6,35%
Magnésio (Mg)	0,15%

A salinidade, temperatura, pH, Oxigênio Dissolvido (OD) e amônia (N-NH₃) foram monitorados a cada 15 dias com um multiparâmetro YSI, modelo *Professional Plus*. Os valores médios dos parâmetros de qualidade da água analisados para os dois sistemas de cultivo estão presentes na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros de qualidade da água medidos nos dois sistemas experimentais de cultivo do *C. parallelus*. São Mates, ES.

Parâmetros	Sistemas	
	T.R.*	REC.*
Temp. (C°)	26,7 (± 2,40)	28,40 (± 2,80)
pH	7,30 (± 0,50)	7,17 (± 0,38)
OD (mg/litro)	5,06 (± 0,91)	6,02 (± 1,33)
N-NH ₃ (mg/litro)	0,036 (± 0,005)	0,023 (± 0,002)
Salinidade (ppm)	5,7 (± 1,12)	5,3 (± 0,5)

* Tanque rede (T.R.); Sistema de recirculação (REC.)

Os quatro primeiros experimentos, foram conduzidos em sistema fechado de recirculação contínua de água, instalado em uma estufa agrícola da fazenda experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES), município de São Mateus, ES (18°42' S 39°52' O). Os peixes foram distribuídos em tanques de 150 litros, sendo 30% da água renovada semanalmente (Figura 1).

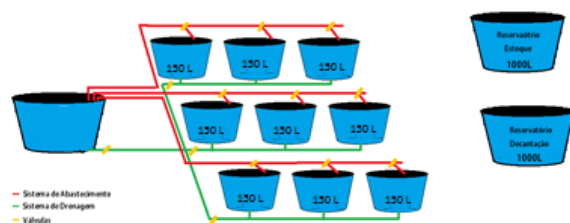


Figura 1: Croqui do sistema fechado de recirculação contínua de água utilizado nos experimentos com juvenis de *Centropomus parallelus* no Centro Universitário Norte do Espírito Santo –

para a filtração química. Para o retorno da água as unidades experimentais, três moto-bombas submersas com vazão de 1950 L/h foram utilizadas. A sifonagem dos tanques, para o recolhimento das fezes e restos de ração era realizada diariamente com uma mangueira de três metros de comprimento e 10 mm de diâmetro.

Experimento 1: Crescimento Compensatório em juvenis de *C. parallelus*

O protocolo escolhido para verificar o grau de crescimento compensatório em juvenis de robalo-peva, foi o alternado entre períodos de restrições e realimentações (ALI *et al.*, 2003). O teste durou 30 dias, sendo os tratamentos descritos abaixo aplicados na primeira quinzena. Posteriormente todos os peixes foram alimentados diariamente por mais 15 dias. A ração experimental foi utilizada em todas as etapas.

Período: 11 de novembro a 11 de dezembro de 2010

Média da biomassa inicial: 15 peixes/tanque (0,74 g/litro)

Média de peso e comprimento padrão dos peixes: 7,4 g ($\pm 2,4$) e 7,1 cm ($\pm 0,7$)

Frequência das pesagens e biometrias: 15 dias

Tratamentos:

- 1) Alimentação diária (Controle);
- 2) Restrição 2:1 (2 dias em jejum: 1 dia de alimentação);
- 3) Restrição 4:1 (4 dias em jejum: 1 dia de alimentação).

Experimento 2: Comparação entre a ração experimental e ração de tilápia

A ração de tilápia extrusada e com granulometria do pellet de 2 mm. A composição básica, indicada pelo rótulo do produto, está presente na tabela 3.

Neste experimento houve avaliação do índice hepatossomático e

Tratamentos:

- 1) Ração experimental
- 2) Ração onívoro

Experimento 3: Diferentes granulometrias da ração experimental

A determinação do tamanho ideal do pellet da ração está próximo a 20% da abertura da boca do peixe (MABILIA; 2005). Para medir essa abertura, antes do início do experimento, foram amostrados aleatoriamente 10 peixes. Todos foram anestesiados com eugenol, diluído em água a concentração de 50 mg/litro (VIDAL *et al.* 2006) e com auxílio de uma pinça cirúrgica, realizou-se a abertura da boca e com um paquímetro (0,1 mm) mediu a distância entre a ponta da pré-maxila (superior) e a maxila inferior. A distância média obtida foi de 16,3 mm, sendo o tamanho ideal do pellet 3,26 mm. Não havendo a possibilidade da fabricação deste tamanho de ração, devido a padronização comercial do fabricante, optou-se pelos testes das granulometrias de 2 e 4 mm.

Período 17 de março a 16 de junho de 2011

Média da biomassa inicial: 10 peixes/tanque (0,7 g/litro)

Média de peso e comprimento padrão dos peixes: 10,4 g ($\pm 1,5$) e 8,2 cm ($\pm 0,4$)

Frequência das pesagens e biometrias: 30 dias

Tratamentos:

- 1) Ração experimental 2 mm
- 2) Ração experimental 4 mm

Experimento 4: Comparação da ração experimental com outras comerciais para

Período: 24 de fevereiro a 27 de maio de 2012

Média da biomassa inicial: 10 peixes/tanque (0,12 g/litro)

Média de peso e comprimento padrão dos peixes: 1,75 g ($\pm 1,5$) e 4,3 cm ($\pm 1,0$)

Frequência das pesagens e biometrias: 20 dias

Tratamentos:

- 1) Ração Experimental (controle)
- 2) Ração Nacional
- 3) Ração Importada

Experimento 5: Uso de vitamina C na ração experimental

Com apoio da Associação de Pescadores de São Mateus – APESAM, o quinto e último experimento foi executado em tanques-rede. 12 tanques de 6 m³ e malha de 15 mm, foram alocados na área de piscicultura da associação no rio Cricaré (18°43'6.90"S 39°48'51.72"O). Os associados além de ceder o espaço, forneceram a mão-de-obra para alimentação e manutenção dos tanques (Figura 2).

Para evitar fuga de peixes, bolsões de polietileno de 6 m³ com 6 mm de malha, foram acoplados internamente aos tanques-rede e mantidos nos quatro primeiros meses de cultivo.

Período: 30 de abril de 2012 a 04 de julho de 2013

Média da biomassa inicial: 205 peixes/tanque (0,11 g/litro)

Média de peso e comprimento padrão dos peixes: 3,05 g ($\pm 1,3$) e 5,1 cm ($\pm 0,7$)

Frequência das pesagens e biometrias: 180 dias

- 1) Ração Base + 600 mg kg⁻¹ de Vitamina C (controle)

Tabela 3. Valores nutricionais das rações utilizadas nos experimentos conforme disponibilizado pelos fabricantes.

	Ração (níveis de garantia por kg do produto)			
	EXPERIMENTAL	NACIONAL	IMPORTADA	TILÁPIA
Proteína bruta	47,7 %	45,0 %	57,0 %	36,0 %
Fibra Bruta	1,37 %	5,0 %	1,0 %	6,0 %
Extrato Etéreo	12,00 %	7,0 %	14,5 %	8,0 %
Matéria Mineral	17,92 %	13,0 %	13,0 %	12,0 %
Umidade	11,20 %	12,0 %	7,0 %	12,0 %
Cálcio	4,80 %	2,5 %	1,7 %	1,80 %
Fósforo	2,56 %	7,0 %	1,4 %	0,60 %



Figura 2: Tanques rede utilizados em testes de cultivo de *C. parallelus* na área de piscicultura da Associação de Pescadores de São Mateus – APESAM. São Mateus, ES.

Para o procedimento de pesagem e biometria, 10% dos peixes foram amostrados em cada unidade experimental e anestesiados individualmente (VIDAL *et al.* 2006), pesados em balança com capacidade máxima de 100 g e com precisão de 0,1 g. Para medida de comprimento utilizou um ictiômetro artesanal de precisão milimétrica. Posteriormente os peixes foram direcionados para um reservatório de 15 litros contendo água sem anestésico, onde retomaram os movimentos normais, podendo então ser devolvido aos tanques (Figura 3).

Para pesagem do fígado e da gordura visceral, foram abatidos três peixes de cada parcela no final do experimento 2. Com tesoura e pinça cirúrgicas de ponta fina, realizou-se um corte ventral, estendendo do ânus até Istmo branquial, extraíndo o fígado e a gordura visceral. Para pesagem foi necessário uma balança analítica de quatro casas decimais.

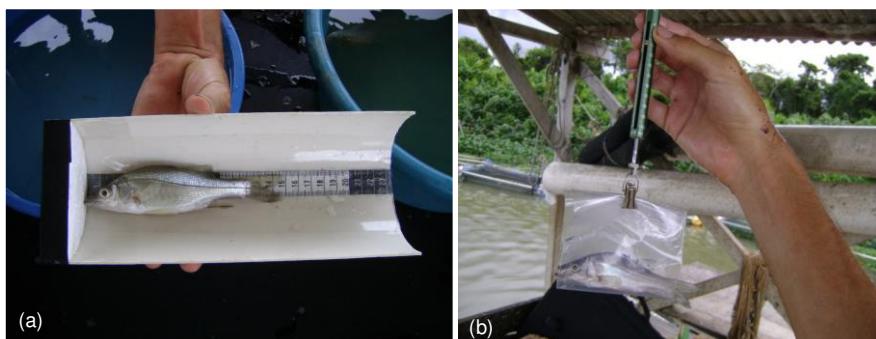


Figura 3: (a) Biometria e (b) pesagem do *C. parallelus* utilizando, respectivamente, um ictiômetro artesanal (precisão milimétrica) e pesola com capacidade máxima de 100g (precisão de 1g).

Os experimentos em sistema de recirculação foram conduzidos no Delineamento

RESULTADOS

Experimento 1: Crescimento Compensatório em juvenis de *C. parallelus*

A avaliação da existência e do grau de crescimento compensatório em juvenis de robalo-peva, mostra que durante a etapa de privação alimentar, os peixes do tratamento controle (alimentação diária) atingiram os maiores índices de ganho de peso e taxa de crescimento específico, quando comparado aos demais tratamentos pelo teste de TUKEY ($P \leq 0,05$). Não houve diferença estatística entre os tratamentos restrição 2:1 e restrição 4:1.

Com o retorno da alimentação diária, os peixes dos tratamentos restrição 2:1 e restrição 4:1, atingiram maiores ganhos de peso e taxas de crescimento específico em relação ao tratamento controle. O tratamento restrição 4:1 apresentou resultados superiores aos demais tratamentos para os índices avaliados (tabela 4).

Tabela 4: Ganho de Peso (GP) e Taxa de Crescimento Específico (TCE) de juvenis de *C. parallelus* ao passarem por um período de 15 dias de restrição alimentar seguidos de mais 15 dias com alimentação diária.

Tratamentos	GP (g)		TCE (%cm/dia)	
	1-15 dias	16-30 dias	1-15 dias	16-30 dias
Controle	1,23 a	0,35 c	0,97 a	0,09 c
Rest. 2:1	0,33 b	0,63 b	0,29 b	0,53 b
Rest. 4:1	0,16 b	1,36 a	0,15 b	1,10 a
CV%	20,80	12,40	24,93	10,30
DMS	0,35	0,25	0,34	0,17

Teste de Tukey ($P \leq 0,05$) com as letras diferindo na vertical.

O desenvolvimento dos peixes que passaram pelas restrições alimentares, após as duas etapas (30 dias), alcançaram o grau de compensação total, pois atingiram os mesmos ganhos de peso e taxas de crescimento específico do tratamento controle, ao serem avaliados pelo teste de TUKEY ($P < 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5: Avaliação do grau de crescimento compensatório medido através do Ganho de Peso (GP) e Taxa de Crescimento Específico (TCE) em juvenis de *C. parallelus* após 30 dias de experimento.

Tratamentos	30 Dias	
	GP (g)	TCE (%/dia)
Controle	1,16 a	0,90 a
Rest. 2:1	0,96 a	0,82 a
Rest. 4:1	1,53 a	1,25 a
CV%	19,94	18,48
DMS	0,71	0,53

Teste de Tukey ($P \leq 0,05$) com as letras diferindo na vertical.

Os efeitos dos tratamentos não foram identificados na avaliação do fator de condição k em nenhuma das etapas deste experimento.

Experimento 2: Comparação da ração experimental com ração de tilápia

Os dados apresentados na tabela 6, mostram que os peixes alimentados com a ração experimental, ganhou 1,0 g de peso a mais que os peixes do tratamento ração de tilápia. As análises estatísticas, não identificaram diferença entre os tratamentos em nenhuma das etapas para as Taxas de Crescimento Específico e os índices Hepatossômático e Gordurovisceral.

Tabela 6. Ganho de peso (GP), Taxa de Crescimento Específico (TCE), Índice hepatossômático (IHS) e Índice de gordura visceral (IGV) de juvenis de *C. parallelus* alimentados com diferentes granulometrias da ração experimental.

Ração	GP (g)	TCE (%/dia)	IHS	IGV
Tilápia	3,54 b	0,34 a	0,73 a	0,68 a
Experimental	4,54 a	0,39 a	0,87 a	0,81 a

* Médias não seguidas da mesma letra, na coluna, diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

ração experimental, obtiveram melhores resultados que os peixes do tratamento ração de tilápia (tabela 7).

Tabela 7: Fator de condição K de juvenis de *C. parallelus* alimentados com diferentes granulometrias de uma ração experimental formulada para espécie.

Rações	Fator de condição k	
	Inicial	Final
Tilápia	1,90 a	1,90 b
Experimental	1,89 a	2,05 a
CV%	0,05	1,04
DMS	1,04	0,06

Teste de Tukey ($P \leq 0,05$) com as letras diferindo na vertical.

Experimento 3: Diferentes granulometrias da ração experimental

O tratamento Exp. 4 mm, proporcionou aos peixes maiores taxas de ganho de peso e crescimento específico, quando comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) as taxas do tratamento Exp. 2mm (tabela 8).

Tabela 8. Ganho de peso (GP), Taxa de Crescimento Específico (TCE) de juvenis de *C. parallelus* alimentados com diferentes granulometrias da ração experimental.

Tratamentos	GP (g)	TCE (%/dia)
Exp. 2 mm	4.54 b	0,39 a
Exp. 4 mm	6.05 a	0,49 a

* Médias não seguidas da mesma letra, na coluna, diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Não houve diferença estatística entre os tratamentos para o fator de condição k.

Experimento 4: Comparação entre a ração experimental e comerciais.

Os peixes alimentados com a Ração Experimental e Importada, expressaram

Tabela 9: Ganho de Peso (g) e Taxa de Crescimento Específico (%cm/dia) em juvenis de *C. parallelus* alimentados com três tipos de ração para peixes carnívoros.

Rações	GP (g)	TCE (%/dia)
R. Experimental (Controle)	3,21 a	1,17 b
R. Importada	4,38 a	1,41 a
R. Nacional	1,22 b	0,55 c
CV%	17,42	5,01
DMS	1,47	0,15

Teste de Tukey ($P \leq 0,05$) com as letras diferindo na vertical.

Para o fator de condição k, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos.

Experimento 5: Uso de aditivos na ração experimental

O aumento das doses de Vitamina C na ração experimental, não originou diferenças estatísticas entre os tratamentos para nenhum dos índices avaliados (tabela 10).

Tabela 10: Uso de Vitamina C na ração experimental para ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE - %cm/dia) e fator de condição k em *C. parallelus* cultivados em sistema de tanques-rede no rio Cricaré, São Mateus, ES.

Tratamentos	GP (g)	TCE	K
Ração Exp. (controle)	57,63 a	0,80 a	1,02 a
Ração Exp. + 1200 ppm de Vit. C	60,67 a	0,84 a	1,14 a
Ração Exp. + 2000 ppm de Vit. C	54,11 a	0,80 a	1,03 a
CV%	7,84	6,22	8,64
DMS	11,87	0,13	0,24

Teste de Tukey ($P \leq 0,05$) com as letras diferindo na vertical.

Partindo dessa referência é que se optou em testar jejuns menos rigorosos, alternando entre as alimentações períodos de até quatro dias em jejum. RIBEIRO (2007) encontrou resultado semelhante mantendo a mesma espécie por até três semanas em jejum.

WEATHERLEY & GILL (1987) indicam que durante a privação alimentar, os processos orgânicos essenciais são mantidos à custa das reservas energéticas endógenas, o que resulta em progressivo esgotamento e desgaste dos tecidos corporais. Como pode ser observado no presente trabalho, os peixes submetidos aos ciclos de restrição alimentar, apresentaram um déficit de peso e crescimento quando comparados aos peixes do tratamento controle, após os 15 dias de privação.

De acordo com SOUZA (2007), os peixes são bem adaptados a sobreviverem por períodos longos de privação alimentar, apresentando habilidade de recuperar-se por meio de alterações comportamentais, fisiológicas e bioquímicas. Na tabela 3, nota-se a coerência da citação anterior, em que os peixes do tratamento restrição 4:1, jejum mais rigoroso entre os avaliados, se recuperaram totalmente durante a fase da realimentação e atingiram os melhores resultados que os demais.

O princípio do ganho compensatório ainda é muito questionável e algumas hipóteses tentam explicar tal fenômeno. Segundo MOMMSEN & PLISETSKAYA (1991), os peixes são bioquímicos e hormonalmente preparados para compensar o processo de utilização de alimentos após período de privação alimentar. RIBEIRO (2007), estudando o crescimento compensatório de juvenis de robalo-peva, após passarem por até três semanas de privação total alimento, obteve resultados semelhantes aos apresentados neste estudo, comprovando a existência do crescimento compensatório para espécie.

podem gerar menor desperdício de ração, proporcionando ao produtor maior flexibilidade na alimentação, economizando ração e mão-de-obra.

ALI *et al.* (2003) propõem diferentes graus de compensação para peixes submetidos à privação alimentar. Para este trabalho, os peixes que passaram pela restrição, atingiram o grau de compensação total durante a realimentação, chegando ao final do experimento com mesmo ganho de peso e crescimento dos peixes alimentados continuamente.

O fator de condição k é bastante utilizado no estudo da biologia de peixes, pois fornece importantes informações sobre o estado fisiológico desses animais, supondo que indivíduos com maior massa em um dado comprimento estão em melhor condição (LIMA-JUNIOR *et al.*, 2004). Como os tratamentos do Experimento 1 foram aplicados apenas nos 15 primeiros dias, acredita-se que o tempo não foi suficiente para gerar uma significativa alteração no fator ao ponto de diferencia-los dentre os tratamentos.

No segundo experimento, a escolha da ração de tilápia como tratamento controle, levou em consideração a existência na região norte do Espírito Santo, embora não quantificada e pouco estabelecidas, tentativas de produção do robalo-peva, sendo normalmente a ração de tilápia utilizada para a engorda, devido a fácil aquisição no mercado local e menor preço. Para comparar os efeitos dessa ração com a ração experimental em juvenis de robalo-peva, optou-se como tratamento controle a ração para peixes onívoros (tilápia).

Espécies de hábito alimentar carnívoro, como o robalo, exigem dietas de elevado nível proteico, devido a estrutura adaptativa do trato digestório, caracterizada por um intestino curto, enquanto peixes onívoros apresentam intestino mais longo, permitindo que o alimento permaneça mais tempo em contato com as enzimas,

Para saber os efeitos dessas dietas sob o fígado dos peixes, calculou-se o índice hepatossomático. Segundo LAIDLEY *et al.* (1988), a diferença desse índice pode ser resultado de um maior acúmulo de gordura no fígado, fruto de distúrbio no metabolismo, ou de um aumento da gliconeogênese, induzida por um possível estresse. Sugere-se para o presente estudo, que a manutenção da boa qualidade do sistema de cultivo, possibilitou um estável nível de estresse e embora a ração para peixes onívoro, tenha proporcionado um menor desenvolvimento nos peixes, não gerou significativos distúrbios no metabolismo e por esse provável motivo não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Resultado similar ao índice hepatossomático (HPS) foi encontrado para o índice gordurovisceral (GVS). Segundo SOUZA (2003), a deposição de gordura visceral pode ser usada pelo peixe em situações de restrição alimentar. Como no experimento os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, entende-se que não houve a necessidade de gerar reservas e, por isso, não houve diferença estatística entre os tratamentos durante o período experimental.

Para os resultados do Experimento 3, TONINI *et al.* (2007) estudando o hábito alimentar natural do robalo-peva no sul da Bahia, descreve-o como predadores visuais, tendo como característica a otimização dos gastos energéticos com a busca do alimento, ROTTA (2003) sugere que um dos aspectos a serem levados em consideração na alimentação de peixes é o tamanho da boca. Se o criador não souber as dimensões da boca, pode fornecer o alimento em partículas muito grandes podendo os peixes morrerem de subnutrição. Quando as partículas de alimento são acentuadamente menores do que a boca, os peixes gastam mais energia para ingerir a quantidade de alimento adequada para suprir suas necessidades nutricionais. Partículas muito pequenas tendem a poluir mais rapidamente a água de cultivo, como também a perderem rapidamente suas

O conhecimento de hábitos e preferências alimentares e sua relação com a anatomia do sistema digestivo dos peixes são necessários, pois permitem desenvolver rações adequadas para melhor desenvolvimento, aliado a menores custos de produção. Em geral a indústria de alimentação animal brasileira, utiliza dados referentes à nutrição de espécies de clima temperado (NRC, 1993) para formular rações para peixes carnívoros. Esta é uma prática muito questionável, uma vez que as exigências nutricionais das diferentes espécies de peixes podem ser influenciadas por vários fatores, tais como tamanho do peixe, temperatura da água, função fisiológica, qualidade da proteína, energia dietética não proteica (carboidratos e lipídios), economicidade da formulação e a relação energia:proteína das rações (KUBITZA e CYRINO, 1999).

A ração experimental, desempenhou nos peixes do quarto experimento, resultados promissores para o cultivo da espécie. Mesmo possuindo um menor percentual de proteína, os peixes alimentados com essa ração alcançaram o mesmos índices de ganho de peso que os peixes do tratamento ração Importada. ROBINSON & LI, (1997) afirmam que dentre os macronutrientes a proteína é o item mais importante e mais caro da ração, afetando principalmente a criação de espécies carnívoras, que requerem altos níveis de proteína animal na dieta, tornando a ração mais onerosa.

Salienta-se, no entanto, que, apesar da importância atribuída à concentração proteica ideal, os peixes exigem uma dieta equilibrada em aminoácidos indispensáveis (PEZZATO *et al.*, 2004), que devem estar presentes em adequadas proporções nas dietas, obtidos pela combinação de ingredientes ou suplementados na forma sintética (STOREBAKKEN *et al.*, 2000). Novos testes na formulação da ração experimental precisam ser realizados, uma vez que melhorias podem ser notadas ao melhor conhecer a relação citada anteriormente.

susceptibilidade às doenças em consequência da deterioração da qualidade da água e do aumento das condições de estresse.

Segundo ROTTA (2003), o ácido ascórbico influencia diretamente o crescimento dos peixes, pois em função importante na formação do colágeno, que é o principal componente do esqueleto. Entretanto, assim como os resultados apresentados neste estudo, outros autores como o MELLO *et al.* (1999) não observaram diferenças significativas no ganho de peso de alevinos de piauçu para suplementação de vitamina C. Mesmo resultado foi relatado por Almeida (2003), que não observou diferenças ($p > 0,05$) no desempenho de pacu alimentado com esse tipo de aditivo. Como a ração experimental (base) continha em sua formulação uma pequena quantidade de vitamina C, 600 mg.kg^{-1} , acredita-se que essa quantidade tenha gerado os mesmos efeitos sob os cardumes dos demais tratamentos que continham maiores quantias desse aditivo, pois segundo SANTOS & OBA (2009) estudando dietas para manejo dos peixes cultivados, as vitaminas são compostos necessários em quantidades pequenas para o crescimento, reprodução e saúde normais dos peixes.

Os estudos com o uso de aditivos naturais como promotores de crescimento em rações para peixes e seus efeitos sobre o desempenho produtivo ainda são muitos contraditórios, sendo necessários mais estudos para a melhor elucidação dos efeitos e de sua eficácia na piscicultura.

CONCLUSÃO

Os primeiros testes da ração comprovaram a aceitação e o desenvolvimento do robalo-peva em diferentes sistemas de cultivo. Os juvenis submetidos a técnica de crescimento compensatório, atingiram o grau de compensação total, podendo o modelo adotado ser aplicado em sistemas de cultivo, proporcionando uma maior flexibilidade no planejamento da alimentação que reflita em economia de ração e mão de obra. A ração experimental mostrou-se mais indicada para alimentação da espécie do que a ração de tilápia. O pellet, com a granulometria de 4 mm é o mais apropriado para a alimentação da espécie com indivíduos com peso médio de 10 g. A formulação experimental obteve resultados positivos quando comparada as rações comerciais para peixes carnívoros, porém nenhum efeito foi observado com o aumento das doses de vitamina C em sua composição. No entanto novos testes com a formulação devem ser realizados para otimizar a produção da espécie em cativeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). Publicações. Disponível em: <http://www.ana.gov.br>. Acesso em: out. 2013.

ALI, M.; NICIEZA, A.; WOOTTON, R.J. Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and Fisheries*, v.4, p.147-190, 2003.

ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; CERQUEIRA, V.R.; SILVA, I.D.; ARAÚJO, J.; REIS, M. Mass production of juveniles of the fat snook *Centropomus parallelus* in Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.33, p.506-516, 2002.

AMARAL, H. J. Viabilidade técnica e econômica da criação do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, em sistema intensivo. Secretaria de Estado da Agricultura e Desenvolvimento Rural: Aquicultura e Pesca. Santa Catarina, SC. 2010. Disponível em: <http://cedap.epagri.sc.gov.br>. Acesso em: Jan. 2014.

AOKI P.C.M., XAVIER S.Z., FERRI L.S.; CARVALHO M.A.G. DE; ROSSONI M.C. Aspectos gerais da família Centropomidae e uma proposta de cultivo do Robalo-peba (*Centropomus parallelus* POEY, 1860) no estado do Espírito Santo. *Sci., Vila Velha (ES)*, 3 (1), 69-83. 2002.

ARANA, L. V. Fundamentos da aqüicultura, - Florianópolis: Ed. da UFSC, 2004.

BASCOLO, W. R.; SIGNOS, A.; FREITAS, J. M. A.; BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A. Nutrição de peixes nativos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.40, p.145-154, 2011.

BERESTINAS, A. C. Efeito de diferentes rações comerciais e frequências alimentares no crescimento de juvenis de robalo-peva *Centropomus parallelus*, Rev. 1960. Dissertação. Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Ciências

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Produção Pesqueira e Aquícola – Estatística 2010. Brasília, DF. 2011. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>>. Acesso em: set. 2013.

CAMARGO, A. C. S.; ZAIDEN, S. F.; URBINATI, E. C. Desenvolvimento gonadal de fêmeas de matrinxã, *Brycon amazonicus*, submetidas a restrição alimentar. Ciência Rural. 38, nº 4: 1105-1110. 2008.

CAVALHEIRO, J. M. O. Avaliação do desenvolvimento do cumurin *Centropomus parallelus* (Poey, 1860) em água doce, submetido à alimentação artificial. Tese de doutorado em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2000.

CAVALLI, R. O.; DOMINGUES, E. C.; HAMILTON, S. Desenvolvimento da produção de peixes em mar aberto no Brasil: Possibilidades e desafios. Revista Brasileira de Zootecni. V.40, p. 155-164. 2011.

CEAGESP. Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. Disponível em: www.ceagesp.gov.br. Acesso em: jan. 2014.

CERQUEIRA, V. R. Cultivo do robalo: aspectos da reprodução, larvicultura e engorda. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2002.

CERQUEIRA, V. R.; BERNARDINI, M. E. The weaning of the fat snook *Centropomus parallelus* larvae with experimental and commercial artificial diets. In: Larvi '95 - Fish & Crustacean Larviculture Symposium. Gent: European Aquaculture Society Special Publication, 1995.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo de Robalo-peva, *Centropomus parallelus*. In: Balsisserotto B. e Gomes L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil, Santa Maria, cap.18, 400-421, 2005.

CREPALDI, D. V.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; COSTA, A. A. P.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P. R.; PRADO, S. A.; COSTA, F. A. A.; DRUMOND M. L.; LOPES, A. E.; MORAES, V. E. A situação da Aquacultura e da pesca no Brasil e no mundo. Revista brasileira de reprodução animal. Belo Horizonte, MG. V.30. 2007.

CYRINO, J.E.P., BICUDO, A.J.A., SADO, R.Y., BORGHESI, R., DAIRIKI, J.K. A nutrição de peixes e o ambiente. Palestra. In: I Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, Unesp Botucatu, SP. Anais... Botucatu: Aquanutri, Cd-rom. 2005.

DIAS, J. B. Impactos sócio-econômicos e ambiental da introdução da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em açudes públicos do semi-árido nordestino, Brasil. Dissertação. Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente – PRODEMA. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN. 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION (FAO). Statistical databases. 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: set. 2013.

GODDARD, S. Feed management in Intensive Aquiculture. Newfoundland, Canada: Chapman & Hall, 1996.

GODINHO, H. M. *et al.* Reprodução induzida em robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 1-10, 2000.

GONÇALVES, A. Hematologia e macrófagos policariontes em *Colossoma macropomum*, mantidos em duas densidades de estocagem, alimentados com

HERBER, P. Nutrition of pond fishes. Cambridge: Cambridge University Press.

JOBLING, M.; MELOY, O. H.; dos Santos, L.; Christiansen, B. the compensatory growth response of the Atlantic cod: effects of nutritional history. *Aquaculture International*, Netherlands, v. 2, p. 75-90, 1994.

KUBITZA, F. *Nutrição e alimentação dos peixes*. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, São Paulo, SP. Brasil. 1997.

KUBITZA, F.; CYRINO, J. E. P. Effects of feed quality and feeding practices on the quality of fish. In: CHANGY, K.; WANG, S. S.(Ed.). *A Brazilian fish culture outlook*. São Paulo: Technomic Publishing Company, p. 53-69. 1999.

KUBITZA, F; LOVSHIN L. L. Formulated Diets, feeding strategies, and cannibalism control during intensive of juveniles fishes. *Rev. Fish. Sci., Philadelphia*, v .7, p. 1-22, 1999.

LAIDLEY, C.W.; P.T.K. WOO & J.F. LEATHERLAND. The stress-response of rainbow trout to experimental infection \With the blood parasite *Cryp/obia sallllosi/ica* Katz, 195 I. *J our. Fish Biol.*, London, 32: 253-261. 1988.

LIMA-JUNIOR, S.E. e GOITEIN, R. Diet and feeding activity of *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes, Pimelodidae) in Piracicaba River(State of São Paulo, Brazil) – the effect of seasonality. *B. Inst. Pesca, São Paulo*, 30(2): 135-140. 2004.

MABILIA, G. G. *Alimentação e Nutrição de Peixes Ornamentais*. 2005. Disponível em: <http://www.vitoriareef.com.br>. Acesso em: Jan. 2014.

MASUMOTO, T.; HOSOKAWA, H.; SHIMENO, S. Ascorbic acid's role in aquaculture nutrition. In: *AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP*, 1991, Thailand and Indonesia. *Proceedings...* Singapore: American Soybean Association, 1991.

MÉLARD, C.; BARAS, E.; DESPREZ, D. Compensatory growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. In: International Symposium On Tilapia In Aquaculture 4, vol. 1, 1997, Orlando. Proceedings... Orlando: NRAES, 1997.

MOMMSEN, T.P.; PLISETSKAYA, E.M. Insulin in fishes and agnathans: history, structure, and metabolic regulation. *Reviews Aquatic Sciences*, v.4, p.225-259, 1991.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, N.R.C. Nutrient Requirements of Warm water Fishes and Shellfishes. National Academy Press, Washington, DC, USA revised. 1983.

NEVES, F. F., Influência da frequência alimentar sobre o desempenho de juvenis de robalo-peva *Centropomus parallelus*. Dissertação (mestrado em aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 28f. 2008.

OLIER, B. S. Cultivo de robalo. Observatório Tecnológico de Santa Catarina, SC. Setor Pesca. 2011. Disponível em: <<http://www.observasc.net.br>>. Acesso em: Jan. 2014.

OLIVEIRA, C.; FOREST, F.; HILSDORF, A.W.S. Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.35, p.81-100, 2009.

OLIVEIRA, C.; FOREST, F.; HILSDORF, A.W.S. Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.35, p.81-100, 2009.

OLIVEIRA, L. A. A. G.; ALMEIDA, A. M.; PANDOLFO, P. S. V.; SOUZA, R. M. de; FERNANDEZ, J. F. J.; COMES, J. C. Crescimento e produtividade de juvenis de

diferentes sistemas de alimentação. Boletim do instituto de pesca, n. 2, v. 34. São Paulo – SP. 2011.

REIS, M. A. *et al.* Indução de desova do robalo-peva *Centropomus parallelus* Poey 1860, com diferentes doses de LHRHa. Acta Scientiarum, Maringá, v. 25, n. 1, p. 53-59, 2003.

RESENDE, EMIKO KAWAKAMI; RIBEIRO, RICARDO PEREIRA; LEGAT, ÂNGELA PUCHNIK; BENITES, CELSO. Melhoramento genéticos em peixes – uma revolução na aquicultura do Brasil. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2008. 4p. ADM –Artigo de Divulgação na Mídia, n.130. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/ADM130>>. Acesso em: 17 set. 2013.

RIBEIRO, F.F; Crescimento compensatório de juvenis de Robalo-peva (*Centropomus parallelus*) após privação alimentar. Dissertação (mestrado em aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACASOLI, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutrição de peixes. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnolli, N. (Ed). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, 2004.

STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K.D.; BAEVERFJORD, G. et al. Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. Aquaculture, v.184, p.115-132, 2000.

ROBINSON, E.H.; LI, M.H. Low protein diets for channel catfish *Ictalurus*

SALOMÃO, R. A. S., Temperatura e ganho compensatório de pacu *Piaractus mesopotamicus* cultivado em sistema de recirculação. X reunião científica do instituto de pesca. São Paulo, SP. 2011.

SANTOS, T.N.S.; CASTRO, V.; SOARES, A.L.; et al, Prebióticos, probióticos e simbióticos na nutrição dos animais (Revisão). Revista Eletrônica Nutritime, v.5, n° 3, p.573-576, 2008.

SANTOS, M. S., Crescimento compensatório de juvenis de Matrinxã *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829). Dissertação de mestrado do programa de pós graduação em aquicultura – FURG. Rio Grande – RS. 2011.

SEIFFERT, M. B. *et al.* Effect of dietary (n-3) highly unsaturated fatty acids (HUFA) on growth and survival of fat snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) larvae during first feeding. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, Ribeirão Preto, v. 34, n. 5, p. 645-651, 2001.

SILVA, L. E. S.; GALÍCIO, G. S. Alimentação de peixes em piscicultura intensiva. Enciclopédia Biosfera. Centro Científico Conhecer. Goiania, GO. V.8, n. 15; p: 49. 2012.

SOUZA, A. D. L. de. Efeito dos sistemas de criação semi-intensivo (viveiro escavado) e intensivo (tanque-rede) no desenvolvimento produtivo do pintado. Tese (Mestrado em Aquicultura) – UNESP, Jaboticabal, 2005.

SOUZA, V.L.; URBINATI, E.C.; GONÇALVES, D.C.; SILVA, P.C. Composição corporal e índices biométricos do pacu, *Piaractus mesopotamicus*, 1887 (Osteichthyes, Characidae) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. Acta Scientiarum, v. 24, n. 2, p.19-38, 2003.

TAKAHASHI, S. N. Nutrição de peixes: Criação de proteínas na aquicultura

TONINI, W.C.T.; BRAGA, L.G.T.; VILA NOVA, D.L.D. 2007 Dieta de juvenis do robalo *Centropomus parallelus* POEY, 1860 no sul da Bahia, Brasil. Boletim do Instituto Pesca, 33(1): 85–91.

TSUZUKI, M.Y; BERESTINAS, A. C. Desempenho de juvenis de Robalo-peva *Centropomus parallelus* com diferentes dietas comerciais e frequências alimentares. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 34(4), 535 – 541. 2008.

VANACOR, M.B & AOKI, P.C.M. Ocorrência dos robalos centropomus sp nos Rios Guaxindiba, Sahy, Putiri I e Putiri II, Barra do Sahy, Município de Aracruz- ES (Perciformes: Centropomidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA. Guarapari, ES. 1997.

VIDAL, L.V.O. Utilização do Eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). *Acta Sci. Biol. Sci.*, Maringá, v. 28, n. 3, p. 275-279, 2006.

MAHIOUS, A.; GATESOUBE, F.J.; HERVI, M.; METAILLER, R.; OLLEVIER, F. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). *Aquaculture International*, v.14, p.219-229, 2006.

WANG, Y; CUI, Y.; YANG, Y.; CAI, F. Compensatory growth in Hybrid tilapia, *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*, reared in sea water. *Aquaculture*, v.189, p.101-108, 2000.

WANG, W.-S.; WANG, D.-H. Enhancement of the resistance of tilapia and grass carp to experimental *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* infections by several polysaccharides. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v.20, p.261-270, 1997

WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. The biology of fish growth. London: Academic

Capítulo 2: Diversidade genética do robalo-peva (*Centropomus parallelus*, Poey 1860): Desafios da piscicultura e conservação da espécie.

RESUMO

Dentre as espécies nativas da costa brasileira com aptidão para piscicultura, o robalo-peva (*Centropomus parallelus*) é uma das espécies marinhas que já se detém informações sobre sua tecnologia produtiva. Embora em ambiente natural o robalo peva alcance tamanhos promissores de 75 cm e peso aproximado de 4 kg, na piscicultura a espécie não atingiu patamares de uma produção comercial. A exemplo das espécies exóticas cultivadas atualmente, acredita-se, que o melhoramento genético possa aumentar os índices produtivos do robalo peva. Para iniciar um programa de melhoramento é fundamental o conhecimento da variabilidade genética entre as populações selvagens da espécie para auxiliar no estabelecimento dos recursos genéticos a serem usados. O presente estudo coletou 115 amostras de nadadeira caudal do robalo em quatro estados da costa da brasileira e por meio de comparações de 759 pares de bases de parte do gene mitocondrial citocromo b, realizou o estudo sobre a diversidade genética da espécie. Foram observados 28 polimorfismos na sequência analisada bem como 32 haplótipos foram identificados. Os resultados obtidos indicam que não há estruturação genética muito evidente entre populações estudadas (AMOVA 15,84%. $P=0.00098$). Os resultados observados irão auxiliar tanto o processo de introdução de novos animais bem como a definição de famílias dos futuros programas de melhoramento da região.

Palavras-chave: Conservação de recursos genéticos animais, Piscicultura Marinha e Marcadores Moleculares.

Comentado [RA1]: Desde a década de 90 estudos direcionados a sua produção

Comentado [RA2]:

Comentado [RA3]: Deletar

Comentado [RA4]: Deletar

INTRODUÇÃO

A importância da carne de peixe para alimentação humana tem transformado a piscicultura em uma fonte essencial de alimento, além de aliviar a pressão de captura sobre os estoques naturais de algumas espécies. Dados da FAO (2012) mostram que das quase 800 espécies de peixes identificadas nas capturas marinhas, aproximadamente 12% têm sido usadas na aquicultura. Para o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), perca-gigante (*Lates calcarifer*), beijupirá (*Rachycentron canadum*), robalo-europeu (*Dicentrarchus labrax*) e dourada (*Sparus aurata*), a eficiência relativa da produção da aquicultura sobre a pesca tem sido superior a 97% (SERRALHEIRO, 2012).

Assim como na pesca extrativista, a aquicultura se não bem planejada pode gerar uma série de impactos ambientais. A introdução de espécies exóticas nos ecossistemas, representa atualmente a segunda maior causa de perda de biodiversidade, podendo reduzir ou até mesmo causar extinções locais de espécies nativas através da predação, competição, hibridação, transmissão de doenças e alteração na qualidade dos habitats (DIAS, 2006). A IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza) pontua a conservação da diversidade genética como uma das três prioridades global necessária à manutenção da biodiversidade (FRANKHAM *et al.*, 2008).

Dentre as espécies nativas da costa brasileira com aptidão para piscicultura, o robalo-peva (*Centropomus parallelus*) é uma das espécies marinhas que já se detém informações sobre sua tecnologia produtiva (NEVES, 2008). Embora em ambiente natural alcance tamanho promissor de 75 cm e 4 kg de peso (CERQUEIRA, 2005), na piscicultura a espécie não atingiu patamares de uma produção comercial.

Comentado [RA5]: melhorar

SHAFLAND e FOOTE, 1983). Caracterizam-se também por serem eurialinos, estando presentes no mar e em águas continentais, geralmente nas águas salobras de ambientes estuarinos, onde são encontrados em maior número (CHÁVES, 1961; PÉREZ-PINZON, 1991). A distribuição das espécies da família coincide aproximadamente com a distribuição dos ecossistemas de mangue, seu principal habitat. Os peixes desta família também podem ser encontrados nas praias, bocas de rios, recifes costeiros, pântanos salgados, córregos de gramíneas e lagos (MARSHALL, 1958 e GILMORE *et al.*, 1983).

Comentado [RA6]: Acrescentar um parágrafo dando ênfase aos mangues do estado e região norte (SM)

A exemplo das espécies exóticas cultivadas atualmente no Brasil, acredita-se, que o melhoramento genético possa aumentar os índices produtivos do robalo-peva. Segundo REZENDE *et al.* (2008), estima-se que os peixes da sétima geração melhorada alcance o dobro da taxa de crescimento da população original.

Comentado [RA7]: Principais espécies cultivadas

Para iniciar um programa de melhoramento genético, alguns aspectos básicos devem ser estudados, como por exemplo, a existência de variabilidade genética entre as populações selvagens da espécie. RESENDE *et al.* (2008) afirma que após a constatação dessa variabilidade é adotada uma metodologia de seleção dirigida, com a identificação de todos os reprodutores e a escolha dos que apresentam taxas de crescimento mais elevadas para sucessivos cruzamentos e melhorias de desempenho produtivo.

O conhecimento da variabilidade genética e da estrutura populacional das espécies tem sido considerado um princípio fundamental para a manutenção dos estoques nativos (FRANKHAM *et al.*, 2010), seja de espécies ameaçadas ou daquelas de interesse comercial (FREITAS, 2010).

Marcadores moleculares são amplamente utilizados na identificação de populações

De forma a desenvolver um programa sólido de melhoramento genético para a piscicultura do robalo-peva no Estado do Espírito Santo, o presente estudo teve por objetivo analisar a variabilidade genética do *C. parallelus* em diferentes regiões do Brasil por meio do sequenciamento de regiões do DNA mitocondrial.

MATERIAL E MÉTODO

Os espécimes de *Centropomus parallelus* foram obtidos através do Laboratório de Genética e Conservação Animal – LGCA do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Tropical – PPGBT/CEUNES/UFES e por intermédio de pescadores (profissionais e amadores) de diferentes localidades de quatro estados brasileiros: Espírito Santo, Bahia, Rio de Janeiro e Santa Catarina. As coordenadas geográficas foram registradas através do GPS *Garmin e-trex* (figura 1).

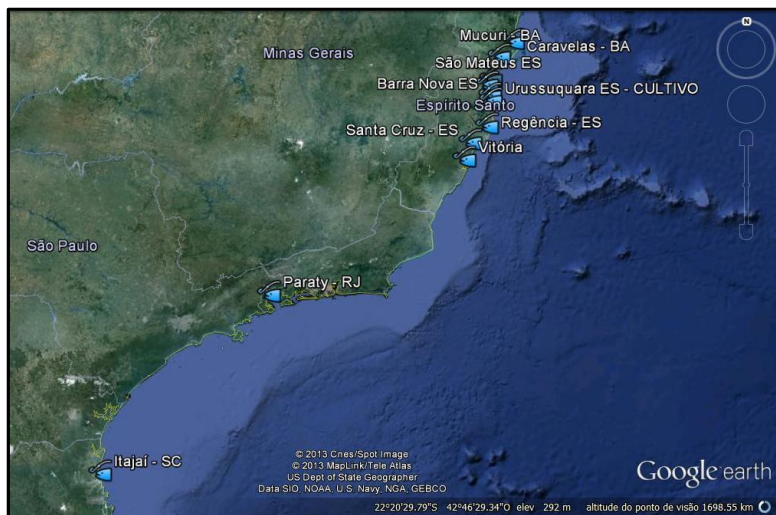


Figura 1: Localidades da costa brasileira onde foram realizadas amostragens

armazenados em microtubos de 1,5 ml contendo álcool etílico 70% e mantidos em freezer a -20° no LGCA.

O protocolo ROCHA (2011) (tabela 1) foi adotado para a extração do DNA genômico. A concentração do DNA extraído foi medida via espectrofotômetro *NanoDrop 3300* (Thermo Fisher Scientific, EUA).

Tabela 1: Protocolo utilizado para extração de mtDNA de nadadeiras do *Centropomus parallelus*.
Extração de DNA

Numerar três conjuntos de tubos do tipo eppendorf de 1,5 ml sendo que o primeiro conjunto poderá ser de 2,0ml, pois facilita na hora da maceração do material;

Cortar pequenos pedaços de tecido utilizado (a quantidade a ser cortada dependerá da quantidade de tecido de amostra que se tiver). Caso os mesmos;

Adicionar 500 microlitros do tampão de extração contendo CTAB e com a ajuda de esferas metálicas, que serão colocadas duas em cada tubo, o material será levado ao macerador de amostras onde deverá ficar por 30 segundos (é sugerido que se macere por 2 vezes);

Incubar os tubos em banho-termostatizado a 60°C por uma hora. A cada 20 minutos de incubação retirar os tubos, passar pelo vortex e retornar ao banho-maria;

Adicionar 20 microlitros de Proteinase k (10 mg/ml) a cada amostra. (Caso a proteinase K esteja em concentração 20mg/ml, ao invés de se adicionar 20 microlitros serão adicionados 10 microlitros);

Deixar em banho-termostatizado a 55°C overnight (16 horas);

Retirar os tubos do banho-maria e centrifugar por 2 minutos a 14.000 rpm;

Adicionar 500 micro-litros de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) no segundo jogo de tubos eppendorf;

Remover o sobrenadante (aproximadamente 450 microlitros) e inserir nos tubos contendo a solução clorofórmio-álcool isoamílico (24:1);

Homogeneizar as soluções gentilmente na horizontal com cuidado para não derramar a solução;

Centrifugar por 15 minutos a 14.000 rpm;

Remover apenas a camada superior e transferir o coletado para o terceiro conjunto de tubos. Evitar coletar camada que divide o clorofórmio da fração a ser coletada;

Adicionar 250 microlitros de isopropanol gelado (-20°C) e homogeneizar a solução gentilmente. Nessa etapa ocorre a precipitação do DNA existente;

Colocar os tubos a -4°C por pelo menos 30 minutos para auxiliar na precipitação;

Centrifugar por 30 minutos a 14.000 rpm para formação do pellet;

Adicionar pelo menos 50 microlitros de TE estéril (Tris-EDTA Ph 8,0) para diluir o pellet (100 microlitros para pellets visíveis) e deixar os tubos a 4 °C overnight;
 Estocar o DNA a 4 °C para uso imediato ou a -20 °C para usos menos frequentes.

Tampão de extração (temperatura ambiente): 100mM Tris-HCL (Ph 8,0); 1.4 NaCl; 0.2 M EDTA; 2% CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide); 0.2% 2-mercaptoetanol. Para 200 ml de solução seguir a tabela 2.

Tabela 2: Quantidade de reagentes para produzir 200 ml de solução tampão de extração a partir de 160 ml de água deionizada.

Quantidade	Reagentes
16,36 g.	NaCl ₂
400 µl.	2- mercaptoetanol
20 ml.	1M Tris-HCl (Ph 8.0)
8 ml.	EDTA (Ph 8.0)
4 g.	CTAB

Para padronizar a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) empregou-se um par de primer do gene mitocondrial citocromo *b* (Cyt. *b*) publicado por PRODOCIMO *et al.*, (2008): GluDG.L (59 - TGA CCT GAA RAA CCA YCG TTG – 39) e H16460 (59 - CGA YCT TCG GAT TAC AAG ACC G- 39). As reações ocorreram em volume final de 10 µl conforme a tabela 3. A configuração do termociclador encontra-se na tabela 4.

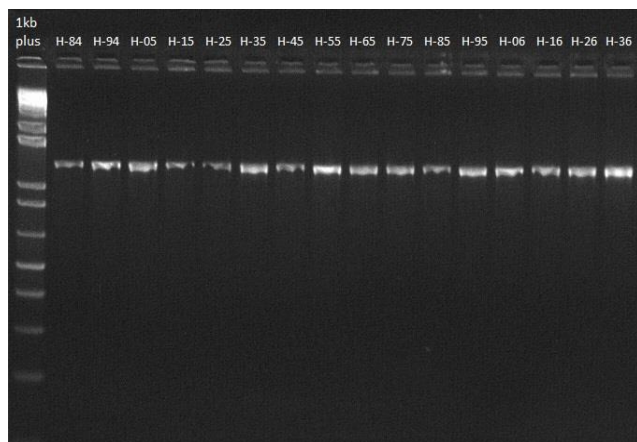
Tabela 3: Padronização de PCR para o gene citocromo *b* em nadadeiras de *Centropomus parallelus*.

Volume	Reagentes
4,7 µl	Água destilada
1,0 µl	Tampão 1X
0,4 µl	MgCl ₂ [50 µM]
0,8 µl	DNTP [200 µM]

Tabela 4: Perfil do termociclador para amplificação de mtDNA, gene citocromo b, em nadadeiras de *Centropomus parallelus*.

Temperatura	Tempo	Ciclos
96° C	5 min	1
94° C	1 min	35
55° C	1 min	35
60° C	1 min	35
72° C	10 min	1
4° C	∞	

A qualidade das extrações e PCR foram analisadas por eletroforese (160 volts por 40 minutos) em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo e submerso em TBE 1X (Tris/Borato/EDTA). Para comparação entre as bandas dos fragmentos foi utilizado como referência 1,5 µl do *ladder*TM 1 Kb Plus e 1,5 µl da amostra de DNA corado com 1,5 µl de azul de metileno. Posteriormente o gel foi visualizado em transiluminador de luz ultravioleta e foto-documentado (Figura 2).



na proporção de 5 µl de volume final da reação para 1 µl de mix Exo-Sap (0,5 µl de Exo-Sap + 1,5 µl de água Milli Q destilada). Em seguida as amostras foram levadas ao termociclador configurado com 1 ciclo de 37°C por 30 min e outro 80°C por 20 min.

A reação de sequenciamento foi utilizada o protocolo da tabela 5 com o termociclador configurado conforme a tabela 6. O procedimento foi realizado em um sequenciador automático ABI 3730 (*Applied Biosystems*) de acordo com as recomendações do fabricante. Todas as etapas de amplificação e reações de sequenciamento foram realizadas nos Laboratórios de Genética Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF – EMBRAPA CENARGEN.

Tabela 5: Protocolo de reação de sequenciamento para o gene citocromo b extraídos de nadadeiras de *Centropomus parallelus*.

Reação de sequenciamento
Adicionar 2,5 ul de EDTA (125mM) em cada poço;
Adicionar 25ul de etanol 100% em cada poço;
Tampar a placa e inverter/misturar 4x;
Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos;
Centrifugar a 4 °C por 3000g por 30 minutos;
Inverter a placa e dar spin invertido, logo após retirar da centrífuga;
Adicionar 30ul de etanol 70% em cada poço;
Centrifugar a 4 °C por 15 minutos a 3000g;
Inverter a placa e dar spin invertido;
Deixar a placa por ± 1 hora em temperatura ambiente para secar ou usar speed-vac por 15 minutos;
Ressuspender as amostras em formamida Hi-Di e guardar a 4 °C, na hora de correr, denaturar por 5 minutos e dar choque térmico em gelo.

Tabela 6: Perfil do termociclador para reação de sequenciamento de mtDNA, gene citocromo b, extraídos de nadadeiras de *Centropomus parallelus*.

As sequências foram alinhadas, editadas e analisadas pelos programas SeqScape v 2.6 (*AppliedBiosystems*), MEGA v.5.0 (KUMAR *et al.*, 2008), DNA alignment (www.fluxus-engineering.com/align.htm), Arlequin (SCHNEIDER *et al.*, 2000), Network 4.1.1.3 (www.fluxus-engineering.com) e DnaSP v5 (LIBRADO & ROZAS, 2009) sendo utilizada como referência a sequência [EU927346] depositada no *GenBank* por PRODOCIMO *et al.*, (2008). A análise de network foi realizada de acordo com BANDELT *et al.* (1999). Sequências depositadas por PRODOCIMO *et al.*, (2008) também foram usadas como referência para todas análises realizadas.

RESULTADOS

As análises foram feitas a partir de sequências de um fragmento do gene mitocondrial Citocromo b de 115 indivíduos provenientes de 12 localidades distribuídas em quatro estados do litoral brasileiro. Os alinhamentos das sequências, gerou um fragmento de 769 pares de bases. Oito amostras não atingiram o tamanho mínimo e foram descartadas (H01; C7; C6; C4; SC112; SC111; SC110; SC109). 19 sequências foram retiradas do NCBI (*GenBank*), todas do trabalho de PRODOCIMO *et al.*, 2008, totalizando 126 sequências (Tabela 7 e 8).

Tabela 7. Diversidade Intra-populacional observada entre as amostras de Araújo, *et al.*, (2014) e Prodocimo *et al.*, (2008).

Índices genéticos	Estudos Realizados	
	Araújo, <i>et al.</i> , 2014	Prodocimo <i>et al.</i> , 2008
N ^o Amostras	107	130
N ^o Estados Brasil	4	6
N ^o SNPs	18	19
N ^o Haplótipos	18	19
N ^o Haplótipos Específicos	14	15
Diversidade Nucleotídica	0.00116	0.00335

Na análise conjunta dos trabalhos, foram identificados 28 sítios polimórficos, sendo 18 com mutação do tipo *singletons* e 10 com informações filogenéticas. O total de sequência analisada definiu 32 haplótipos, sendo 14 específicos das localidades estudadas. A diversidade haplotípica média (H_d) foi de 0,733 ($DP \pm 0,033$) e a diversidade nucleotídica média (π) igual a 0,00116 ($DP \pm 0,00014$) (tabela 9).

Tabela 9: Frequência de cada Haplótipo identificado nas localidades estudadas. A identificação genética de cada haplótipo pode ser observada na Tabela 8.

Haplótipo	ES	RJ	SC	BA	NCBI*
H1	37	10	8	1	1
H2	1				
H3	1				1
H4					1
H5					1
H6					1
H7					1
H8					1
H9					1
H10					1
H11					1
H12					1
H13					1
H14	2				1
H15					1
H16					1
H17					1
H18					1
H19	20	3	8	1	1
H20	3	1			
H21	1				
H22				1	
H23	1				
H24	1				
H25	1				
H26	1				

Entre os 18 haplótipos identificados neste trabalho, 14 foram do tipo *singletons* e três com informações filogenéticas (não *singletons*) foram identificados em mais de um estado (tabela 10).

Tabela 10: haplótipos ancestrais mais frequentes da espécie *C. parallelus* distribuídos em quatro estados da costa brasileira.

Haplótipos	Nº	Estados
H1	56	1(BA); 37 (ES); 10 (RJ); 8 (SC)
H19	32	1 (BA); 20 (ES); 3 (RJ); 8 (SC)
H20	4	3 (ES); 1 (RJ)

A maior diversidade genética foi observada em Vitória, ES, com índice de 0,76 de diversidade haplotípica (h). A menor diversidade foi observada em Urussuquara, ES, com 0,25 (h) (figura 3). Entre os estados, o Espírito Santo apresentou o maior valor de diversidade genética, exceto a Bahia. (Figura 4 – Tabela 11).

Tabela 11: Diversidade Intra-populacional do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) na costa do Brasil.

Índices	Localidades								
	URU/ ES	BAN/ ES	COB/ ES	REG/ ES	SAM/ ES	VIT/ ES	ITA/ SC	BAH/ BA	PAR/ RJ
N ^o Amostras	8	10	26	10	10	16	14	3	10
N ^o SNPs	1	3	6	2	2	8	1	3	3
N ^o Haplótipos	2	3	7	3	3	8	2	3	3
N ^o Haplótipos Específicos	1	1	4	1	1	3		1	1
Diversidade Nucleotídica	0,00033	0,00078	0,00092	0,00087	0,00095	0,00193	0,00069	0,0026	0,00113

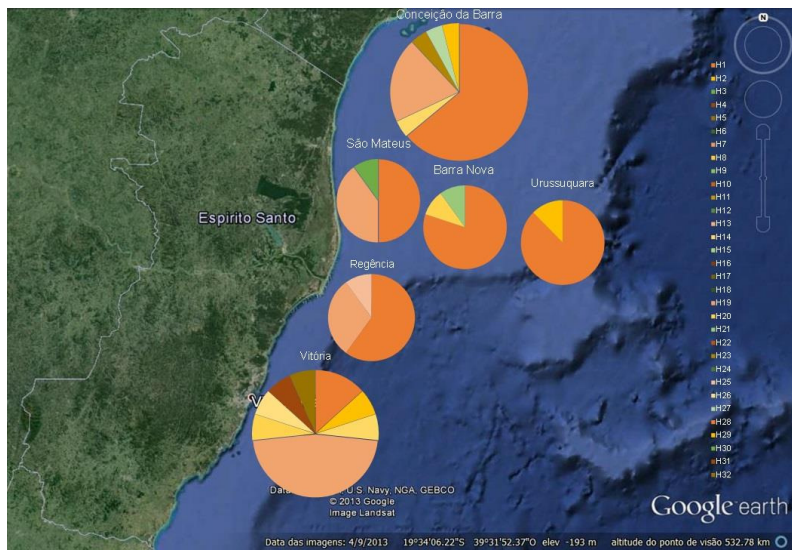


Figura 3: Haplótipos identificados nas seqüências do citocromo b da espécie *Centropomus parallelus* na costa do Espírito Santo

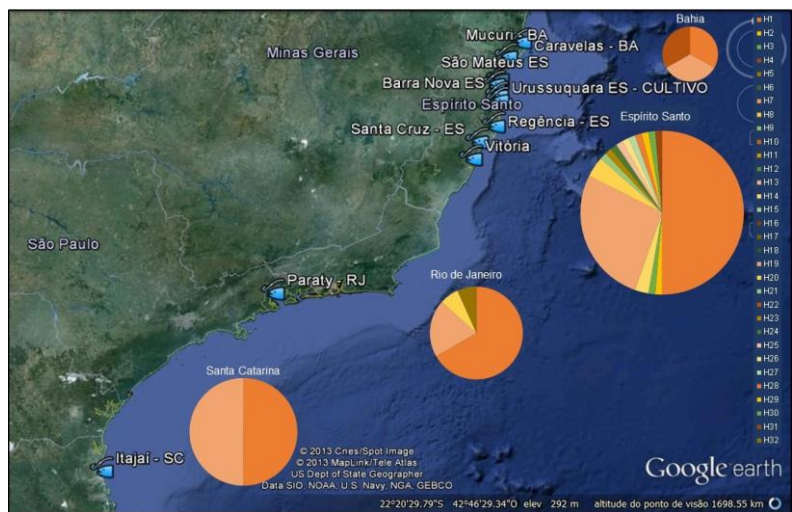
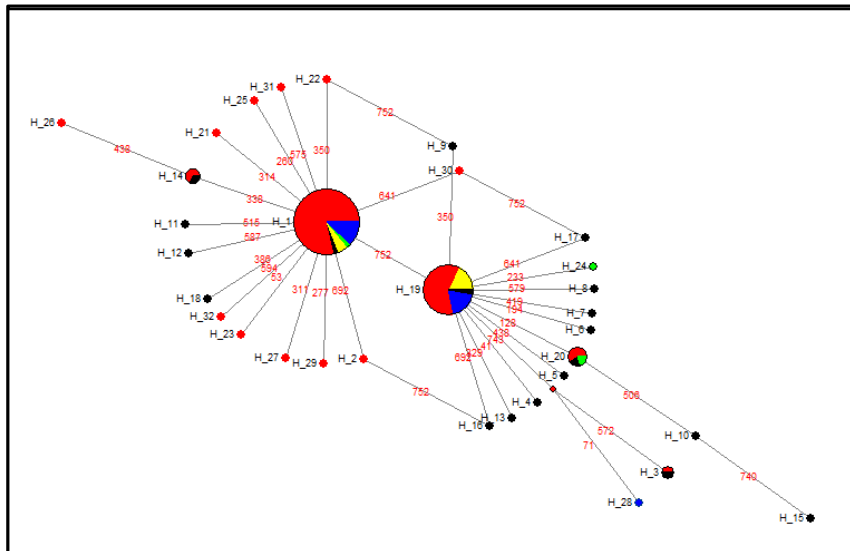


Figura 4: Haplótipos identificados nas seqüências do citocromo b da espécie

Tabela 12: Análise da Variância Molecular (AMOVA), Fst, entre as populações (grupos) de *Centropomus parallelus* coletadas pelo presente trabalho (Araújo *et al.*, 2014) e o de PRODOCIMO *et al.*, (2008), para o gene Citocromo b. Significância do teste (1023 permutações).

Fonte da Variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variância	% variação	Valores de p
Entre os Grupos	1	3,409	0,07216 Va	11,26	0.09677± 0.01110
Entre as populações dentro dos grupos	8	7,022	0,02940 Vb	4,59	0.00098± 0.00098
Dentro das populações	116	62,589	0,53956 Vc	84,16	0.00098± 0.00098
Total	125	73,589			

A relação entre os haplótipos encontrados no presente trabalho e de PRODOCIMO *et al.*, (2008) foi estimada na rede haplotípica (figura 5). Os haplótipos 1 e 19 foram os mais frequentes.



DISCUSSÃO

Os resultados apresentados, suportam a hipótese de que a espécie *Centropomus parallelus* realiza migrações ao longo da costa brasileira, pois não foi observado estruturação genética na área estudada. Resultados semelhantes foram obtidos por PRODOCIMO *et al.*, (2008).

Os peixes marinhos podem ser classificados em quatro categorias em relação à diversidade haplotípica (h) e nucleotídica (π): a primeira categoria é representada por populações com baixos valores de h ($<0,5$) e π ($<0,5\%$); a segunda com valores altos de h e baixos de π ; a terceira com baixos valores de h e altos de π ; e a quarta com altos valores de h e π (DIAS JUNIOR *et al.*, 2012). O robalo-peva se enquadra na segunda categoria, com alta diversidade haplotípica ($0,733 \pm 0,033$) e baixa diversidade nucleotídica (0,15%). RODRIGUES *et al.* (2008) aponta que a baixa diversidade haplotípica e nucleotídica, são consequências da sobre-exploração

Segundo GRANT & BOWEN (1998), as espécies da segunda categoria, teve origem próxima ao período Plioceno ou início do Pleistoceno, mas as suas genealogias (mtDNA) se aglutinaram em uma escala mais recente, talvez nos últimos cem mil anos. É atribuída uma expansão populacional após um período de baixa do tamanho efetivo da população, como consequência, as mutações ocorridas se mantiveram conservadas. A exemplo do robalo-peva (*C. parallelus*) na costa brasileira, tais espécies formam grandes populações, contendo um ou dois haplótipos predominantes, embutidos em um agrupamento de "ramificações", com uma ou poucas mutações diferenciadas dos haplótipos centrais.

Na rede haplotípica do presente estudo, os haplótipos H1 e H19 foram observados em praticamente todos os locais e compõe a base da diversidade encontrada, de forma que a maioria dos outros haplótipos derivam destes grupos com apenas uma

reticulação observada. De qualquer forma a diferença máxima entre eles é de até dois SNPs, sugerindo uma baixa divergência genética.

O índice de fixação (F_{st}), estimado pela diferenciação genética é um indicativo do grau de isolamento entre as populações. Para este trabalho, F_{st} encontrado foi 0.00098. VIDAL *et. al* (2014), avaliando a estrutura populacional do robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*), na costa da Guatemala, encontrou o índice de fixação de 0,0075, valor aproximado ao encontrado pelo presente trabalho. Segundo a classificação de WRIGHT (1978) e HARTL & CLARK (1997), os valores de F_{st} entre 0 e 0,05 é um indicativo de baixa estruturação genética. A ausência de estrutura populacional e baixa diversidade genética em espécies marinhas, identificadas por marcadores mtDNA, podem representar uma característica comum, acentuada nas últimas décadas pela deterioração dos ambientes marinhos e pressão da pesca extrativista (SHERMAN, 1994).

Outra espécie da costa brasileira que também possui uma forte relação com o ambiente estuarino é o peixe-rei (*Athirinella brasiliensis*). Ao contrário do presente trabalho, STOIEV (2010), utilizando o marcador mitocondrial *D-loop*, encontrou estruturação genética entre as diferentes populações da espécie na costa brasileira. Porém, uma distinção na fase reprodutiva pode ajudar a explicar a divergência entre os resultados. Após a postura, os ovos do peixe-rei se aderem a substratos no estuário, mantendo as novas gerações no local de origem até a fase larval, quando os mesmos já possuem capacidade locomotora, enquanto os ovos do robalo-peva são pelágicos e derivam com as correntes atuantes na região de desova. AVISE *et al.*, (1987), descrevendo que os peixes marinhos pelágicos, pelo menos em uma fase da vida, ficam geralmente livres de barreiras geográficas físicas, muitas vezes levando a uma distribuição contínua de peixes através dos oceanos.

Segundo o cenário descrito por GILMORE *et al.* (1983), após a desova em regiões costeiras ou estuarinas, com maior influência salina, as larvas do robalo-peva migram com ajuda dos ciclos de marés para regiões estuarinas rasas com menor salinidade, onde permanecem enquanto juvenis. Na medida em que aumentam de comprimento e se tornam menos vulneráveis à predação, os pré-adultos migram, para regiões de canais de rios ou estuário, retornando à região costeira por ocasião da maturação gonadal. A ocorrência de fluxo reprodutivo sentido estuário-plataforma (RODRIGUES, 2005), os ovos pelágicos e a permanência das larvas por cerca de 2,5 semanas nas águas costeiras (MULLER, 2000), podem ajudar a explicar a distribuição genética encontrada pelo presente estudo.

As amostras de Urussuquara, ES foram obtidas de um laboratório de piscicultura da espécie. Entretanto, as mesmas apresentaram o menor índice de diversidade. Especialmente na piscicultura brasileira, há uma tendência dos plantéis serem formados por peixes com alto grau de parentesco, havendo um risco maior de nascerem filhos com depressão genética por endogamia (consanguinidade) podendo resultar em diminuição na taxa de crescimento, baixa taxa de sobrevivência, maior susceptibilidade a doenças, defeito na formação do opérculo e deformidades na coluna vertebral (EMBRAPA, 2012).

Na perspectiva da piscicultura, a baixa diversidade genética, como a observada pelo presente estudo, não contribui para formação de futuros programas de melhoramento genético. Apesar disso, cuidados básicos precisam ser adotados na escolha e formação de matrizes, uma vez que a variabilidade genética é o atributo mais importante em uma população e constitui o material sobre o qual ocorre a seleção natural. SOUZA (2007) supõe que uma população com variabilidade elevada terá maior possibilidade de enfrentar com sucesso as mudanças ambientais, expressa melhor potencial reprodutivo, maior resistência a doenças,

amostras por localidade trará resultados mais aprofundados da diversidade genética.

Novos trabalhos com diferentes marcadores associados a uma maior amostragem devem ser realizados. Para PRODOCIMO *et al.*, (2008) dada a ampla distribuição geográfica de *C. parallelus*, ainda é possível que a diferenciação genética esteja presente em outras partes de sua distribuição, pois condições especiais, tais como as correntes associadas ao Golfo do México, podem ser necessárias para se encontrar estrutura genética entre diferentes populações da espécie.

CONCLUSÃO

As diferentes populações de *Centropomus parallelus* estudadas, não apresentaram estruturação genética, indicando um alto fluxo gênico da espécie na costa brasileira. Para a piscicultura, foi observado uma baixa diversidade genética entre as amostras provenientes do cultivo, indicando que a domesticação da espécie contribuiu para a formação de peixes menos adequados ao cultivo. A escolha das matrizes, com base em estudos genéticos, podem auxiliar na produção de peixes mais adaptados zootecnicamente as condições da piscicultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVISE, J.C. *Phylogeography: The History na Formation of Species*. Massachusetts: Haward University Press, 477p. 2000.

AVISE, J.C.; LANSMAN, R. A.; SHADE, R.O. The use of restriction endonucleases to mensure mitochondrial DNA sequence relateness in natural populations. I. Population structure na evolution in the genu *Peromyscys*. *Genetics* 92:279-295. 1987.

BANDELT, H.P., FOSTER, P., ROHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16:37-48. 1999.

BARLETTA, M; CORRÊA, M. F. M. Guia de identificação de peixes da costa do Brasil. Ed. UFPR. 1992.

CASTELLO J TEMPLETON A. R. Root probabilities for intraspecific gene trees under neutral coalescent theory. *Molecular Phylogenetics and Evolution*3: 102-113. 1994.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo de Robalo-peva, *Centropomus parallelus*. In: Balsisserotto B. e Gomes L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil, Santa Maria, cap 18, 403-431. 2005.

CLABAUT, C.; SALZBURGER, W.; MEYER, A.. Comparative phylogenetics analyses of the adaptive radiation of Lake Tanganyika cichlid fish: nuclear sequences are less homoplasious but also less informative than mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 61: 666-681. 2005.

dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte (PROdemA-UFRN), Natal, RN. 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION (FAO). Cultured Aquatic Species Information Programme Lates calcarifer. Fisheries Global Information System. 2007. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 30 jan. 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION (FAO). Statistical databases. 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: set. 2013.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; REVALDAVES, E; FORESTI, F. P. e SANTOS, S.A. Análise genética de estoques de reprodutores de curimatá (*Prochilodus lineatus*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) da estação de piscicultura de promessa, utilizando marcadores de RAPD. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu-SP. 2005.

FRANKHAM, R; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. Introduction to Conservation Genetics, Second Edition. Cambridge University Press. 618pp. 2010.

FREITAS, L. A. C. M. Diversidade genética em Dourado (*Salminus brasiliensis*, Curvier, 1816), uma espécie de interesse comercial no Pantanal Mato-grossense. Tese de doutorado. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos. 2010.

GILMORE, R. G.; DONAHOE, C. J.; e COOKE, D. W. Observations on the distribution and biology of the common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). Florida Scientist. v. 46, p. 313–336, 1983.

GOMES, P. C. Diversidade genética de três estoques de Piapara (*Leporinus elongatus*), utilizando RAPD. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de

HARTL, D.L. & CLARK, A. G. Principles os Population Genetics. Sunderlands: Sinauer Association, Inc. 1997.

IUCN - International Union for Conservation of Nature and Natural Resources – 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Disponível em:<<http://www.redlist.org>> Acessado em 27 dez. 2013.

KUMAR S, DUDLEY J, NEI M & TAMURA K MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. Briefings in Bioinformatics, 9:299-306. 2008.

LIBRADO, P. AND ROZAS, J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics,. 25: 1451-1452 | doi: 10.1093/bioinformatics/btp187. 2009.

MARSHALL, A. R. A survey of the snook fishery of Florida with Studies of the Biology of the principal species *Centropomus undecimalis* (Bloch). State Board of Conservation, Technical series. The Marine Laboratory. University of Miami. Florida. n. 22, 37 p., 1958.

MULLER, R. G. The 2000 stock assessment update of common snook, *Centropomus undecimalis*. Fish and Wildlife Conservation Commission. Florida Marine Research Institute. St. Petersburg, Florida, 22 p. 2000.

NEVES, F. F., Influência da frequência alimentar sobre o desempenho de juvenis de robalo-peva *Centropomus parallelus*. Dissertação (mestrado em aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 28f. 2008.

PÉREZ-PINZÓN, M. A.; LUTZ, P. L. Activity related cost of osmoregulation in the

RESENDE, EMIKO KAWAKAMI; RIBEIRO, RICARDO PEREIRA; LEGAT, ÂNGELA PUCHNIK; BENITES, CELSO. Melhoramento genéticos em peixes – uma revolução na aquicultura do Brasil. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2008. 4p. ADM –Artigo de Divulgação na Mídia, n.130. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/ADM130>>. Acesso em: 17 set. 2013.

RIVAS, L.R. Systematic review of the perciform shies of the genus *Centropomus*. *Copeia*. (3): 579 - 611. 1986.

RIVEIRA, M. A. J.; KELLY C. D.; RODERICK, G. K. Suble population genetic structure in the Hawaiian groper, *Ephinephelus quernus* (Serranidae) as revealed by mitochondrial DNA analysis. *Biological Journal of the Linnean Society* 81: 449-468. 2004.

ROCHA, B. B. S. Diversidade genética da tartaruga da Amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger, 1812) na Bacia do rio Tocantins-Araguaia. EMBRAPA. Brasília, DF. 2011.

RODRIGUES, P. P. Aspectos Reprodutivos do robalo peba, *Centropomus parallelus*, na foz do rio Doce, Linhares/ES. Dissertação. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória. 2005.

RODRIGUES, R; SCHEINEIDER, H; SANTOS, S; VALLINOTO, M. Low levels of genetic diversity depicted from mitochondrial DNA sequences in a heavily exploited marine fish (*Cynoscion acoupa*, Scianidae) from the Northern coast of Brazil. *Genetics and Molecular Biology*. São Paulo, SP. 2008.

SCHNEIDER, S.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. ARLEQUIN, v. 2000 : A software for population genetic data analysis. Genetic sand Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland. 111p. 2000.

SHAFLAND, P. L.; e K. J. FOOTE. A lower lethal temperature for fingerling snook, *Centropomus undecimalis*. Florida Game and Fresh Water Fish Commission. Florida. Northeast Gulf Science. v.6. n.2, p.175–178. 1983.

SHERMAN, K. Sustainability, biomass yields, and health of coastal ecosystems: an ecological perspective. Marine Ecology Progress Series, v. 112, p, 277-301. 1994.

SOUZA, A. D. L. de. Efeito dos sistemas de criação semi-intensivo (viveiro escavado) e intensivo (tanque-rede) no desenvolvimento produtivo do pintado. 2005. Tese (Mestrado em Aquicultura) – UNESP, Jaboticabal, 2007.

STOIEV, S. B. Variabilidade genética de *Atherinella brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1825) (Atheriniformes: Atherinopsidae) ao longo da costa brasileira. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná – UFPR. Pontal do Paraná, 2010.

TOLLEY, S. G.; DOHNER, E. T.; PEEBLES, E. B. Occurrence of larval snook, *Centropomus undecimalis* (BLOCH), in Naples Bay, Florida. Florida Scientist. v.50, n. 1, p. 34–38, 1987.

VIDAL, U. H; GORDILLO, J. L; SÁNCHEZ, W. M. C; CARRARA, X. C. Genetic variability of the common Snook *Centropomus undecimalis* (Perciforme: Centropomidae) in the connected marine and riverine environments. Revista Biología Tropical. Viña del Mar, Chile. 2014.

VOLPE, A. V. Aspects of the biology of the common snook, *Centropomus undecimalis* (BLOCH) of southwest Florida. In: MITTS, Ernest, State Board of Conservation. Technical series. The Marine Laboratory. Florida: University of Miami, n. 31, 37 p., 1959.

WERLE E, SCHNEIDER C, RENNER M, VO" LKER M, FIEHN W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. *Nucleic Acids Res.* 22:4354–4355. 1994.

ANEXO

Anexo 1: Amostras genéticas da espécie *Centropomus parallelus* de quatro estados brasileiros.

Amostras	Localidade	Data da Coleta	Latitude	Longitude
H-01	Barra Nova - ES	14/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-02	Barra Nova - ES	14/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-12	Barra Nova - ES	14/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-22	Barra Nova - ES	14/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-42	Barra Nova - ES	14/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-32	Barra Nova - ES	14/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-51	Barra Nova - ES	21/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-61	Barra Nova - ES	21/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-71	Barra Nova - ES	21/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-81	Barra Nova - ES	21/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-91	Barra Nova - ES	21/04/2012	18°57'13.02"S	39°44'26.22"O
H-52	Caravelas - BA	20/04/2012	17°39.984' S	39°17.378' O
H-62	Caravelas - BA	20/04/2012	17°39.984' S	39°17.378' O
H-72	Caravelas - BA	21/04/2012	17°41.227' S	39°18.804' O
H-33	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-43	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-53	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-63	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-73	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-83	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-93	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-04	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-14	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-24	Regência -ES	05/06/2012	19°39'47.87"S	39°48'46.35"O
H-35	São Mateus -ES	05/06/2012	18°42'29.82"S	39°48'48.36"O
H-45	São Mateus -ES	05/06/2012	18°42'29.82"S	39°48'48.36"O
H-55	São Mateus -ES	05/06/2012	18°42'29.82"S	39°48'48.36"O
H-65	São Mateus -ES	05/06/2012	18°42'29.82"S	39°48'48.36"O
H-75	São Mateus -ES	05/06/2012	18°42'29.82"S	39°48'48.36"O
H-85	São Mateus -ES	05/06/2012	18°42'29.82"S	39°48'48.36"O
H-95	São Mateus -ES	05/06/2012	18°42'29.82"S	39°48'48.36"O
H-06	São Mateus -ES	05/06/2012	18°42'29.82"S	39°48'48.36"O

H-94	Paraty - RJ	12/09/2012	23°12'21.37"S	44°41'21.68"O
H-05	Paraty - RJ	13/09/2012	23°12'21.37"S	44°41'21.68"O
H-15	Paraty - RJ	14/09/2012	23°12'21.37"S	44°41'21.68"O
H-25	Paraty - RJ	15/09/2012	23°12'21.37"S	44°41'21.68"O
SC102	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC103	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC104	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC105	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC106	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC107	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC108	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC109	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC110	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC111	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC112	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC113	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC114	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC115	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC116	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC117	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC119	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
SC120	Itajaí - SC	04/01/2013	26°52'25.89"S	48°41'21.26"O
H-36	Vitória - ES	16/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-46	Vitória - ES	17/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-56	Vitória - ES	18/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-66	Vitória - ES	19/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-76	Vitória - ES	20/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-86	Vitória - ES	21/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-96	Vitória - ES	22/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-07	Vitória - ES	23/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-17	Vitória - ES	24/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-27	Vitória - ES	25/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-37	Vitória - ES	26/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-47	Vitória - ES	27/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-57	Vitória - ES	28/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-67	Vitória - ES	29/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-77	Vitória - ES	30/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O
H-87	Vitória - ES	31/03/2013	20°16'21.79"S	40°20'3.20"O

H-98	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-09	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-19	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-29	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-39	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-49	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-59	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-69	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-79	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-89	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-99	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-10	Conceição da Barra - ES	01/04/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-20	Conceição da Barra - ES	01/05/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-30	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-40	Conceição da Barra - ES	01/04/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-50	Conceição da Barra - ES	01/05/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-60	Conceição da Barra - ES	01/02/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
H-70	Conceição da Barra - ES	01/04/2013	18°35'46.04"S	39°44'53.51"O
C-1	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-2	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-3	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-4	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-5	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-6	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-7	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-8	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-9	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
C-10	Urussuquara - ES	05/08/2013	19° 3'31.48"S	39°43'23.54"O
