



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**NÚCLEO DE ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA**  
**AQUÁTICA E PESCA**

**TESE DE DOUTORADO**

**DADOS QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS PARA UMA**  
**INSPEÇÃO ADEQUADA NO COMÉRCIO DE PRODUTOS DE**  
**PESCADO.**

Discente: Luara Hanna Oliveira Falcão

Orientador: Dr. Jonathan Stuart Ready

Belém - PA

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**NÚCLEO DE ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA**  
**AQUÁTICA E PESCA**

**LUARA HANNA OLIVEIRA FALCÃO**

**DADOS QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS PARA UMA**  
**INSPEÇÃO ADEQUADA NO COMÉRCIO DE PRODUTOS DE**  
**PESCADO.**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ecologia Aquática e Pesca pela Universidade Federal do Pará.

**Orientador:** Dr. Jonathan Stuart Ready

Belém - PA

2022

# LUARA HANNA OLIVEIRA FALCÃO

## DADOS QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS PARA UMA INSPEÇÃO ADEQUADA NO COMÉRCIO DE PRODUTOS DE PESCADO.

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ecologia Aquática e Pesca cuja banca examinadora está constituída pelos professores abaixo.

**Orientador:** Jonathan Stuart Ready

### Banca examinadora:

---

Dr. João Bráullio de Luna Sales - membro titular  
Universidade Federal do Pará

---

Dr. Cláudio de Oliveira - membro titular  
Universidade Estadual Paulista

---

Dra. Vanessa Paes Cruz - membro titular  
Universidade Estadual Paulista

---

Dra. Bianca Bentes da Silva - membro suplente.  
Universidade Federal do Pará

---

Dr. Luís Fernando da Silva Rodrigues Filho -  
membro titular. Universidade Federal Rural da  
Amazônia

---

Dra. Sílvia Britto Barreto - membro suplente  
Universidade Federal do Pará

*Dedico esse trabalho ao meu pai João, que mesmo no momento mais difícil e delicado de sua vida, ele continuava a me apoiar e incentivar a não desistir. Pai, sei que um dia nós encontraremos novamente, pois a certeza da existência da vida eterna é uma esperança que me ajuda a continuar.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, porque Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Jonathan Ready, que aceitou me orientar em um projeto de uma área inusitada e foi sempre muito compreensivo durante os momentos difíceis que passei. Aprendi muito com suas aulas e orientações.

Sou grata também aos meus coorientadores: ao Dr. Stefano Mariani que aceitou me receber na Liverpool John Moores University (LJMU) colaborando e apoiando o presente estudo; e ao Dr. Daniel Carvalho (PUC Minas) por todo o apoio, colaboração e envio de amostras.

Ao Dr. Peter Shum (LJMU), que me ensinou os procedimentos laboratoriais e concluiu as análises que não pude realizar devido aos atrasos ocorridos pela pandemia durante o Doutorado Sanduíche.

Agradeço ao projeto SEATRACES e aos doutores Amaya, Carmen, Joan, Quentin, Peter, Chris, Marine, Stefano, Jonathan, Daniel, Bráullio que enviaram as amostras dos locais que não pude visitar para coletar, devido ao lockdown durante a pandemia.

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia Aquática e Pesca e todo o corpo docente, especialmente ao Dr. João Bráullio e Dr. Jonathan Ready pelo apoio, suporte e aprendizado no Estágio à Docência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE) pelo apoio financeiro que possibilitou a experiência no exterior e a abrangência do presente trabalho.

Aos meus colegas de laboratório da UFPA Suellen, Cíntia, Talita, Luíz, Carla e Lilith que me ajudaram na etapa de extração de DNA. A Márcia e Fabrício pelas análises de estatística. E aos colegas de laboratório da LJMU Marine, Simone, Manus e Chris que me receberam muito bem e foram super solícitos.

Ao meu esposo, Dartahiam Waterkemper, que está sempre ao meu lado me apoiando, cuidando de mim e foi super compreensivo durante meu retorno ao Brasil, quando foi necessário ficarmos em países diferentes por um ano. Você é essencial em cada instante da minha vida e se fez presente mesmo quando estava longe. Te amo!

Aos meus pais, João e Tamara, que sempre me apoiaram nos estudos e na vida, me incentivando e dando todo o suporte necessário. Não há palavras suficientes para descrever aqui o quanto sou grata pelo amor de vocês.

À minha “família adotiva” em Belém: Flávia, João, Kellice e Tanaiara, que literalmente foram o meu suporte familiar em Belém, suporte que continua até hoje. Obrigada pelo apoio e carinho de vocês.

*A todos, o meu mais sincero agradecimento!*

*“Educar verdadeiramente não é ensinar fatos novos ou enumerar fórmulas prontas, mas sim preparar a mente para pensar.”*

*(Albert Einstein).*

## Resumo

Produtos de pescado são economicamente importantes em muitos países, e estão entre os itens alimentícios mais comercializados globalmente, mas não se sabe muito sobre o conhecimento de consumidores sobre o que estão comprando, deixando a perguntar se estão seguindo preferências pessoais, tradições culturais ou simplesmente os menores preços entre produtos disponíveis. Produtos de pescado variam bastante na sua forma de comercialização, tanto em termos de distribuição (nacional e internacional), quanto na forma que são processados e vendidos. Nas últimas décadas o aumento da demanda tem coincidido com maior conscientização sobre a segurança alimentar, rastreabilidade e sustentabilidade da pesca. Um dos problemas mais comuns são as substituições não intencionais, onde devido à similaridade entre espécies diferentes e ausência de conhecimento entre os revendedores, duas espécies podem ser confundidas, o que muitas vezes é reforçado quando se tratam apenas os nomes comuns das espécies, o que muda entre diferentes regiões e países, ou a fraude, onde um produto de maior valor comercial é substituído por outro de menor valor. Este tipo de fraude é potencializada devido aos inúmeros tipos de processamentos que as espécies comerciais podem sofrer, como o *finning* e o processo de moagem para enlatamento. Isso pode ser intencional ou acidental, eventualmente causando prejuízo econômico ou riscos para conservação de espécies ou na saúde dos consumidores. Processos onde o peixe perde suas principais características morfológicas, como no caso dos filés e conservados, dificulta a identificação tradicional, sendo que técnicas moleculares têm sido adotadas para a investigação de fraudes nesses itens. Entretanto, produtos altamente processados requerem técnicas específicas, capazes de identificar a presença de múltiplas espécies em uma única amostra (*bulk sample*). Porém, o conhecimento de como fatores diversos (incluindo por exemplo, a degradação de DNA durante o processamento) podem influenciar a interpretação dos resultados moleculares na investigação da composição de espécies na produção de produtos de pescado ainda é pouco investigado. Com o intuito de melhor entender as cadeias no conceito de suprimento e demanda no mercado internacional, investigamos: 1) o conhecimento de consumidores Europeus sobre a aparência dos peixes que consomem; 2) a influência do tipo de mercado e rotas de distribuição na ocorrência de substituição e/ou fraude em três produtos com características comerciais distintas (cação, merluza e linguado); e, 3) a sensibilidade da técnica de *metabarcoding* na identificação de espécies em amostras mistas considerando amostras artificialmente preparadas (*mock community*) e amostras de produtos enlatados processadas de formas distintas para análise molecular. Como resultado, identificamos que: 1) há uma falta de conhecimento entre consumidores Europeus até sobre a identidade das espécies que eles consomem, mesmo sem descaracterização do produto; 2) o tipo de estabelecimento influencia a probabilidade de encontrar produtos substituídos e/ou fraude considerando o grau de fiscalização, as variações de legislação e as oportunidades; e, 3) existem vieses na amplificação de DNA de espécies altamente processadas considerando o tipo de processamento do produto nas fábricas e o processamento de amostra no laboratório, mas que isso não impede entender riscos de contaminantes raros e até permite rastrear tendências entre conjuntos de amostras. Estes resultados devem influenciar o conhecimento global do uso de ferramentas moleculares para detecção de substituição e fraude em produtos da pesca, contribuindo para a melhoria e



modificações de legislação, campanhas de conscientização e técnicas laboratoriais que visam combater atividades ilegais, diminuindo seus efeitos negativos.

Palavras-chave: fraude em pescados, comércio ilegal, metabarcoding, barcoding, conhecimento do consumidor

### **Abstract**

Fish products are economically important in many countries, and are among the most traded food items globally, but not much is known about consumers' knowledge of what they are buying, leaving one to wonder if they are following personal preferences, culture traditions, or simply the smallest prices between available products. Fish products vary greatly in how they are marketed, both in terms of distribution (national and international) and in the way they are processed and sold. In recent decades, increased demand has coincided with increased awareness of food safety, traceability and fisheries sustainability. One of the most common problems is fraud, where the product is not compatible with the given identity. This can be intentional or accidental, eventually causing economic damage or risks to the conservation of species or the health of consumers. Processes in which the fish loses its main morphological characteristics, as in the case of fillets and preserved fish, make traditional identification difficult, and molecular techniques have been adopted to investigate fraud in these items. However, highly processed products require specific techniques capable of identifying the presence of multiple species in a single sample (bulk sample). However, the knowledge of how different factors (including, for example, DNA degradation during processing) can influence the interpretation of molecular results in the investigation of species composition in the production of fish products is still poorly investigated. In order to better understand the supply and demand chains in the international market, we investigated: 1) the knowledge of European consumers about the appearance of the fish they consume; 2) the influence of the type of market and distribution routes in the occurrence of substitution and/or fraud in three products with different commercial characteristics (shark, hake and flatfish); and, 3) the sensitivity of the metabarcoding technique in the identification of species in mixed samples considering samples artificially prepared (mock community) and samples from processed canned products prepared in different ways for the molecular analysis. As a result, we identified that: 1) there is a lack of knowledge among European consumers even about the identity of the species they consume, even without mischaracterization of the product; 2) the type of market influences the probability of finding substituted products and/or fraud considering the degree of inspection, variations in legislation and opportunities; and, 3) there are biases in DNA amplification of highly processed species considering the type of product processing in factories and sample processing in the laboratory, but this does not prevent understanding risks of rare contaminants and even allows tracking trends between sets of samples. These results should influence the global knowledge of the use of molecular tools to detect substitution and fraud in fishery products, contributing to the improvement and changes of legislation, awareness campaigns and laboratory techniques that aim to combat illegal activities, reducing their negative effects.

Key words: fish fraud, illegal trade, metabarcoding, barcoding, consumer knowledge

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

**Figura 1 - a)** Identificação bem-sucedida relativa de cada uma das seis espécies de peixes para cada um dos seis países. O gráfico de barras empilhado mostra apenas identificações corretas e a porcentagem total de precisão é mostrada acima das barras empilhadas para cada país e para ambas as regiões. O gráfico de segmentos representa quanta porcentagem pode ser atribuída a cada espécie do número total de peixes corretamente identificados. Por exemplo, de 31,81% de sucesso de identificação na Grécia, cerca de metade é devido à sola. As respostas corretas dos consumidores foram comparadas entre regiões para cada espécie independentemente, e o asterisco (\*) indica que a precisão de identificação para essa espécie foi significativamente diferente entre as regiões da Europa Ocidental e do Sul, conforme testado via categóricas testes qui-quadrado. As fotos apresentadas aos participantes são descritas na legenda junto com o nome comum da espécie. **b)** Probabilidade dos consumidores de se enquadrarem nas categorias de 0 a 6 (0 = zero peixe corretamente identificados e 6 = seis peixes corretamente identificados) para o norte países (Reino Unido, Irlanda e Bélgica) e sul países (Espanha, Itália e Grécia), conforme previsto a partir de valores ajustados do modelo de link (clm). As barras de erro correspondem a  $\pm 1,96$  de erro padrão para a previsão média ..... 30

**Figura 2 - a)** Taxa de consumo de frutos do mar em porcentagem para um total de 720 participantes de seis países europeus. **b)** Um exemplo de uma barraca de frutos do mar (Livorno, Itália); **c)** Um exemplo do norte (Hereford, Reino Unido), essas fotos não foram tiradas nas cidades escolhidas para este estudo e servem apenas a título ilustrativo .....32

**Figura 3** - Gráficos de linhas que ilustram os valores médios e erros padrão para riqueza de espécies (em vermelho) e índice de diversidade de Shannon (em azul) das respostas erradas dos participantes para cada peixe (total = 6 fotos) ..... 34

**Figura 4** - Diversidade de respostas fornecidas pelos consumidores ligadas às seis espécies apresentadas aos consumidores na forma de imagens (à esquerda do diagrama = linguado, cavala, robalo, anchova, salmão e bacalhau). A espessura das bandas dos diagramas circulares

indica as proporções de respostas vinculadas a um dado palpite. As respostas foram acumuladas para (a) países da Europa Ocidental (Irlanda, Estados Unidos Reino Unido e Bélgica) e (b) Países do sul da Europa (Espanha, Itália e Grécia). O diagrama de cordas foi criado usando o software *Circos* online (Krzywinski et al. 2009)..... 35

## CAPÍTULO 2

### MATERIAL SUPLEMENTAR - B

**Figura S1-** Árvore *Neighbor-Joining* para as amostras de cação..... 95

**Figura S2 –** Árvore *Neighbor-Joining* para amostras de merluza..... 96

**Figura S3 –** Árvore *Neighbor-Joining* para amostras de linguado..... 97

## CAPÍTULO 3

**Figura 1 –** *Relative Read Abundance* (RRA) de *Mock Community* com os resultados obtidos (Mock 1 – 4) e esperados (Expected Mock 1 – 4), baseados nas proporções de produtos utilizados (ver Tabela 1). Onde *Tuna*, *Mackerel* e *Sardine* referem-se ao atum, cavala e sardinha, respectivamente..... 104

**Figura 2 –** Árvore *Neighbour-Joining* para amostras de *Mock Community* ..... 105

**Figura 3 -** *Relative Read Abundance* (RRA) de táxons nos patês de atum em sanduíches (S1 e S2) comprados em diferentes lojas *fastfood* em Liverpool, Reino Unido..... 106

**Figura 4-** Melhores identificações via BLAST ao nível de espécie. O nome de cada amostra identifica em ordem, o: local de compra (Brasil - BR / Reino Unido - UK / Noruega - NW), a origem de produção/captura (Não especificado - NS / Ásia - AS / Atlântico, Índico e/ou Pacífico - AIP), o código da marca (B1 a B10, total de 10 marcas), o código individual de cada lata/amostra (64 a 152) e o método de preparo da amostra (amostra inteira ou “*whole*” - W e liquidificada - L). Amostras identificadas como “IMPORTED” são produtos importados para Europa..... 107

**Figura 5 –** Número de *reads* (*Abundance*) associadas aos táxons identificados por método de preparo (amostras inteiras = *whole* e liquidificados = *liquefied*) ..... 108

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

#### Material Suplementar – A

**Tabela S1** – Teste *Post-hoc de Dunn* exibindo a estatística do teste Z e valores-p ajustados para comparações pareadas de precisão percentual de respostas corretas de consumidores entre seis países europeus..... 44

**Tabela S2** - Coeficientes de limite do modelo de link cumulativo calculados pelo pacote *clm* no R para dados ordenados dos participantes (número total de fotografias de espécies identificadas corretamente por participante: 1,2,3,4,5 ou 6) e comparados entre as regiões [estimativa de teste = -0,7055, erro padrão: 0,1354, valor z = -5,21,  $\Pr(>|z|) = 0,000000189$ ].....45

**Tabela S3** - Teste *HSD post-hoc de Tukey* exibindo diferença média, intervalos de confiança de 95% e valores *p* ajustados para comparações pareadas de riqueza de respostas erradas de consumidores entre seis países europeus. O asterisco (\*) indica uma comparação par a par significativa..... 45

**Tabela S4** - Teste *HSD de Tukey post-hoc* exibindo diferença média, 95% de confiança intervalos e valores de *p* ajustados para comparações pareadas de diversidade de respostas erradas (calculado com um índice de diversidade de Shannon) de consumidores entre seis países. O asterisco (\*) indica uma comparação par a par significativa..... 46

### CAPÍTULO 2

**Tabela 1** - Resumo de amostras de produtos da pesca vendidos como tubarões, merluza ou peixes chatos no sudeste do Brasil com identificação testada usando código de barras de DNA. Número de amostras rotuladas incorretamente indicadas entre parênteses ..... 55

**Tabela 2** – Coeficientes indicando valores significativos. Onde “*NameLP*” e “*NameME*” são as categorias referentes aos nomes utilizados no comércio de linguado e merluza, respectivamente. “*Certified*” é a categoria de produtos certificados, “*Mislabeledno*” refere-se aos produtos corretamente identificados e “*Milasbeledopp*” são os produtos fraudados de forma ..... 57

**Tabela 3** – ANOVA com valores significativos para as três variáveis..... 57

**Tabela 4** - Valor, peso e principal origem das importações brasileiras de produtos de tubarão, merluza e linguado entre 2008 e 2017..... 59

**Tabela 5** - Valor, peso e principal destino das exportações brasileiras de produtos de tubarão, merluza e linguado entre 2008 e 2017..... 60

**Tabela 6** - Valor, peso e preço médio dos produtos de tubarão (carne e barbatanas) exportados do Brasil entre 2008 e 2017..... 61

**Tabela 7** - Análise da permanência da carne de tubarão no mercado consumidor brasileiro entre 2008 e 2017 com base nos pesos comerciais registrados de barbatanas e carnes exportadas e usando fatores de conversão mínimo e máximo entre o peso da barbatana e do indivíduo (ver métodos)..... 63

### **Material suplementar B**

**Tabela S1** - Todas as amostras utilizadas neste estudo, sua origem, preço, identificação molecular e status de rotulagem incorreta..... 80

## **CAPÍTULO 3**

**Tabela 1** - Proporções de espécies utilizadas na produção de cada amostra de *Mock Community*.....102

### **MATERIAL SUPLEMENTAR – C**

**Tabela S1** – Informações das amostras utilizadas para as análises Liquidificação x Amostras Inteiras e *Mock Community* (destacadas em negrito) ..... 119

## SUMÁRIO

<b>1.INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>17</b>
1.1 INFORMAÇÕES DA TESE .....	20
1.2 OBJETIVO GERAL .....	20
1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
<b>2.REFERÊNCIAS .....</b>	<b>21</b>
<b>CAPÍTULO 1: Peixe fora d'água: consumidores não são familiarizados com a aparência das espécies de peixes comerciais .....</b>	<b>24</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>25</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>5. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>40</b>
<b>6. MATERIAL SUPLEMENTAR - A .....</b>	<b>44</b>
<b>CAPÍTULO 2: Padrões comerciais diferenciados e taxas de inspeção combinam-se com o uso de termos guarda-chuva, resultando em probabilidades variáveis de substituição em tubarão, merluza e linguado vendidos no Brasil.....</b>	<b>48</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>51</b>
2.1 COLETA DE AMOSTRAS.....	51
2.2 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE FRAGMENTOS DE GENES COL.....	52

2.3 ANÁLISE DE DADOS MOLECULARES.....	52
2.4 IMPORTAÇÃO/EXPORTAÇÃO DADOS.....	53
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>54</b>
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>65</b>
<b>5. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>69</b>
<b>6. MATERIAL SUPLEMENTAR - B .....</b>	<b>80</b>
<b>CAPÍTULO 3: O viés de amplificação em produtos de pesca processados pode afetar a interpretação de substituições.....</b>	<b>98</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>100</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>101</b>
2.1 <i>MOCK COMMUNITY</i> .....	101
2.2 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS: LIQUIDIFICAÇÃO VS. AMOSTRAS INTEIRAS.....	102
2.3 AMOSTRAS CONTIDAS EM SANDUICHES DE ATUM.....	103
2.4 EXTRAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA.....	103
2.5 ANÁLISE DE DADOS DE SEQUÊNCIAS.....	104
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>105</b>
3.1 <i>MOCK COMMUNITY</i> .....	105
3.2 SANDUÍCHE DE <i>FASFOOD</i> .....	108
3.3 LIQUIDIFICAÇÃO VS. AMOSTRAS INTEIRAS.....	109
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>110</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>114</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>115</b>

<b>7. MATERIAL SUPLEMENTAR – C .....</b>	<b>119</b>
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PRODUÇÕES FUTURAS .....</b>	<b>121</b>
8.1 CONCLUSÃO GERAL.....	120
8.2 PRÓXIMOS PASSOS.....	123
8.3 PUBLICAÇÃO FUTURA.....	123



## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Desde a década de 80a produção, utilização e comércio dos produtos de pesca e aquicultura vem crescendo globalmente e a exportação de peixes e seus derivados possuem um papel importante na economia de muitos países, sendo esses um dos itens alimentícios mais comercializados no mundo (FAO 2020, FAO 2018). Dentre os produtos de pescado de maior interesse comercial, as sete espécies de atum *Katsuwonus pelamis* (Linnaeus, 1758), *Thunnus alalunga* (Bonnaterre, 1788), *Thunnus obesus* (Lowe, 1839), *Thunnus albacares* (Bonnaterre, 1788), *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758), *Thunnus orientalis* (Temminck e Schlegel, 1844) e *Thunnus maccoyii* (Castelnau, 1872) se destacam como os peixes mais valiosos do mundo, cuja pesca comercial atingiu a marca de 5,2 milhões de toneladas, equivalente a US\$ 40,8 bilhões em 2018 (McKinney et al., 2020). No Brasil, além dos atuns, outros produtos de pescado como filés de cação (tubarões e raias), merluza e linguado também são amplamente consumidos, sendo cação e merluza mais fortemente envolvidos no comércio de importação e exportação de pescados quando comparado com o linguado (Comex Stat,2019).

Economicamente, o crescimento do comércio/demanda de pescado soa como uma ótima notícia, de fato. Entretanto, assim como cresce a produção e a economia, também crescem a preocupação e as iniciativas relacionadas à pesca sustentável (Melnychuk et al., 2021; Honarmand Ebrahimi, Ossewaarde & Need, 2021), selos de sustentabilidade (*blue labels*) (Jonell et al.,2016), e segurança alimentar (Marques et al., 2010; Ong et al., 2021). Pesquisadores, governos, Organizações Não Governamentais (ONGs) como a OCEANA e empresas alimentícias de diferentes países demonstram cada vez mais interesse nestes tópicos, realizando pesquisas e produzindo dados na área de fraude em alimentos (Carvalho et al., 2015; Mariani et al., 2015; Carvalho et al., 2017b; Dolan e Luque, 2019; But, Wu e Shaw, 2019; Calosso et al., 2020), estabelecendo regras que vão desde cotas de pesca à controle do comércio internacional (Caputi et al., 2021) e disponibilizando dados (*Ecolabelling*) para que o consumidor possa ter acesso a rastreabilidade do produto, assegurando a sua origem (Gopal e Boopendranath 2013).

Apesar de todas essas iniciativas, um dos problemas mais comuns que afeta a economia, o direito e a saúde dos consumidores de pescados é a fraude (Naaum et al., 2016). Segundo o Art. 879 no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Ela pode A fraudeção pode acontecer tanto na forma de adulteração (adicionar produto químico nas brânquias dos peixes quando estes já não estão mais aptos para o consumo humano) como na forma de substituição de espécie (Brasil, 1952), globalmente conhecida como

*mislabeled*. O termo *mislabeled* é aplicado quando um produto é rotulado ou identificado com um nome de espécie/animal diferente (Bailey, 2017), seja pela troca do nome no rótulo, pela troca do nome pelo vendedor no ato da compra, ou até mesmo em produtos composto por um mix de espécies, porém nem todas as espécies presentes estão declaradas no rótulo (Giusti, Armani & Sotelo 2017, Souza et al., 2021).

Após o escândalo da carne de cavalo em 2013 na Irlanda (Premanandh, 2013), cresceu a atenção à possibilidade de substituição ilegal em uma variedade de produtos, incluindo os produtos de pescado (Quinto, Tinoco e Hellberg 2016). Muitos estudos mostram a ocorrência de *mislabeled* em diferentes tipos de produtos de pescado (Carvalho et al., 2015; But, Wu e Shaw, 2019; Calosso et al., 2020; Pappalardo et al., 2021), comparando taxas de fraude em diferentes lugares (Mariani et al., 2015; Carvalho et al., 2017b; Dolan e Luque, 2019), além da identificação sobre quais metodologias são apropriadas para a identificação de espécies voltada a inspeção alimentar (Chapela et al., 2007; Članjak-Kudra et al., 2021). Em 2016, uma análise foi feita em centenas de estudos publicados sobre fraude em pescados, cobrindo um total de 55 países e 25 mil amostras. Os resultados da análise mostraram que de cada cinco amostras uma não estava corretamente rotulada (*mislabeled*) (Warner et al., 2016).

A prática do *mislabeled* não é preocupante apenas do ponto de vista de direito do consumidor. Muitos estudos mostram que essa problemática engloba perdas econômicas, saúde humana e a conservação de espécies (Naaum et al., 2016). Globalmente, foi estimada uma perda anual de US\$10 bilhões a US\$23,5 bilhões devido a pesca ilegal, não-declarada e não-regulamentada, chamada de *IUU fishery* (Agnew et al., 2009). Quanto a saúde humana, espécies não declaradas na embalagem podem ser um risco em potencial para pessoas alérgicas, como no caso do surimi (kani-kama) feitos com cefalópodes (Giusti, Armani & Sotelo 2017), bem como a ocorrência de *mislabeled* envolvendo espécies que produzem toxinas, como o peixe baiacu (Cohen et al., 2009). Muitos estudos revelam também a presença de espécie ameaçadas ou protegidas sendo vendidas como espécies permitidas (Palmeira et al., 2013; Almoerón-Souza et al., 2018; Alvarenga, Solé-Cava & Henning 2021), além do uso de espécies ameaçadas e não declaradas em rótulos de produtos como alimento animal (*pet food*) e cosméticos (Cardeñosa 2019).

No Brasil, a situação não é muito diferente. Estudos foram conduzidos em diferentes estados do país. No sudeste, produtos como bolinho de bacalhau congelado na verdade continham diferentes espécies (Carvalho et al., 2017a) e 80% das amostras de peixes vendidos como surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) foram identificadas como sendo de outras espécies

(Carvalho et al., 2011). Na região Norte, 55% das amostras de produtos vendidos como tubarão eram na verdade a raia peixe-serra, um dos elasmobrânquios mais ameaçados do mundo (Palmeira et al., 2013). Finalmente, um terceiro estudo com amostras de 14 estados e 29 diferentes tipos de peixe comerciais concluiu que 17,3% dos produtos analisados foram vendidos com o nome diferente (Carvalho et al., 2017b). É importante mencionar que a inspeção dos produtos de pescado comercializados em supermercados no Brasil é realizada anualmente pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, e as taxas de fraude ou *mislabeled* em produtos certificados vem diminuindo desde a primeira inspeção (DIPOA, 2016).

Identificar e registrar casos de fraude em produtos de pescado ao redor do mundo é importante para que se tenha um conhecimento e entendimento da frequência de ocorrências de fraude, dos produtos alvos dessa prática e para intensificar as regras de fiscalização. Normalmente, a substituição intencional ou não-intencional de espécies é facilitada pela falta de caracteres morfológicos dos produtos de pescado que passaram pelo processamento, como nos casos dos filés de peixes e pescados processados (Naaum et al., 2016). E muitas vezes, somente uma análise molecular pode garantir a correta identificação da espécie desses produtos (Frézal e Leblois, 2008).

Diferentes técnicas moleculares podem ser utilizadas para a identificação das espécies (Gopi et al., 2019) e a escolha da técnica varia de acordo com o tipo de produto (processado ou não-processado) e o objetivo (contaminação por microrganismos ou substituição de espécies) (Franco et al., 2021; Parlapani, 2021) Entretanto, quando se trata de identificação molecular de espécies utilizadas na produção de produtos processados, como no caso dos produtos enlatados, a forma do preparo da amostra pode talvez influenciar na qualidade do DNA obtido, uma vez que se trata de um produto composto por molhos, temperos e que foi cozido em altas temperaturas (Chapela et al., 2007). Além disso, existe a possibilidade de conter mais de uma espécie dentro da embalagem, dessa forma, é importante utilizar uma forma de amostragem que garanta a “captura” do DNA de todas as espécies que possam estar ali presentes, especialmente em produtos do tipo ralado ou em pedaços.

Além do preparo amostral de produtos processados, outros aspectos como a capacidade ou o conhecimento do consumidor para identificar os tipos de peixes para consumo próprio, os padrões de comércio internacional e a influência do tipo de comércio (supermercados, feiras e comércio online) na ocorrência de fraude em produtos de pescado também não são muito explorados.

Conhecer e entender todos esses aspectos pode contribuir para melhor aproveitamento das amostras de produtos processados, elaboração de campanhas informativas para o consumidor, estratégias de fiscalização mais abrangentes e elaboração ou modificação de regulamentações e leis de rotulagem e comércio de pescados para consumo humano.

## 1.1 INFORMAÇÕES DA TESE

A presente tese está composta por uma introdução geral, três capítulos que exploram as problemáticas citadas anteriormente, e uma conclusão geral com futuras publicações. Sendo estes: 1) Conhecimento do consumidor na identificação de pescados consumidos (Europa); 2) Padrões de fraude em pescados nos diferentes tipos de comércio (Brasil); 3) Preparo amostral e viés na análise de *metabarcode* de produtos processados e 4) Considerações finais e futuras publicações. Importante ressaltar que um artigo foi publicado (capítulo 1), outro foi submetido, devolvido para inserir sugestões dos revisores e será submetido muito em breve (capítulo 2), e outros dois capítulos estão em fase de análise de dados e escrita para submissão.

## 1.2 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve o objetivo de investigar e sugerir soluções para diferentes problemáticas dentro do universo de fraude em produtos de pescados comercializados no Brasil e na Europa.

### 1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar o nível de conhecimento dos consumidores quanto a identificação de peixes inteiros amplamente consumidos na Europa.
- Determinar se a taxa de fraude varia com o tipo de estabelecimento comercial, e se o uso de nomenclaturas genéricas pode mascarar a ocorrência de fraudes em produtos vendidos no estado de Minas gerais na região sudeste do Brasil como merluza, linguado e cação.
- Comparar, de forma qualitativa, dois métodos de preparo de amostras para análise *metabarcode* e avaliar a sensibilidade desta técnica molecular em amostras com múltiplas espécies artificialmente preparadas em diferentes proporções, utilizando produtos altamente processados (enlatados) em ambos os casos.

## 2. REFERÊNCIAS

- Agnew, D. J., Pearce, J., Pramod, G., Peatman, T., Watson, R., Beddington, J. R., & Pitcher, T. J. (2009). Estimating the worldwide extent of illegal fishing. *PloS one*, 4(2), e4570.
- Almerón-Souza, F., Sperb, C., Castilho, C. L., Figueiredo, P. I., Gonçalves, L. T., Machado, R., ... & Fagundes, N. J. (2018). Molecular identification of shark meat from local markets in Southern Brazil based on DNA barcoding: evidence for mislabeling and trade of endangered species. *Frontiers in genetics*, 9, 138.
- Alvarenga, M., Solé-Cava, A. M., & Henning, F. (2021). What's in a name? Phylogenetic species identification reveals extensive trade of endangered guitarfishes and sharks. *Biological Conservation*, 257, 109119.
- But, G. W. C., Wu, H. Y., & Shaw, P. C. (2019). Identification of fish species of sushi products in Hong Kong. *Food control*, 98, 164-173.
- Brasil. (1952). Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial [da] União*.
- Calosso, M. C., Claydon, J. A., Mariani, S., & Cawthorn, D. M. (2020). Global footprint of mislabelled seafood on a small island nation. *Biological*
- Cardeñosa, D. (2019). Genetic identification of threatened shark species in pet food and beauty care products. *Conservation Genetics*, 20(6), 1383-1387.
- Carvalho, D. C., Guedes, D., da Gloria Trindade, M., Coelho, R. M. S., & de Lima Araujo, P. H. (2017b). Nationwide Brazilian governmental forensic programme reveals seafood mislabelling trends and rates using DNA barcoding. *Fisheries Research*, 191, 30-35.
- Carvalho, D. C., Neto, D. A., Brasil, B. S., & Oliveira, D. A. (2011). DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil. *Mitochondrial DNA*, 22(sup1), 97-105.
- Carvalho, D. C., Palhares, R. M., Drummond, M. G., & Frigo, T. B. (2015). DNA Barcoding identification of commercialized seafood in South Brazil: A governmental regulatory forensic program. *Food control*, 50, 784-788.
- Carvalho, D. C., Palhares, R. M., Drummond, M. G., & Gadanho, M. (2017a). Food metagenomics: Next generation sequencing identifies species mixtures and mislabeling within highly processed cod products. *Food Control*, 80, 183-186.
- Chapela, M. J., Sotelo, C. G., Pérez-Martín, R. I., Pardo, M. Á., Pérez-Villareal, B., Gilardi, P., & Riese, J. (2007). Comparison of DNA extraction methods from muscle of canned tuna for species identification. *Food Control*, 18(10), 1211-1215.

- Članjak–Kudra, E., Fazlović, N., Alagić, D., Smajlović, M., Čaklović, K., & Smajlović, A. (2021). An overview of most commonly used methods for detection of fish mislabeling. *Veterinaria*, 70(2), 169-184.
- Cohen, N. J., Deeds, J. R., Wong, E. S., Hanner, R. H., Yancy, H. F., White, K. D., ... & Gerber, S. I. (2009). Public health response to puffer fish (tetrodotoxin) poisoning from mislabeled product. *Journal of Food Protection*, 72(4), 810-817.
- COMEX, S. (2019). Ministério da Indústria. Comércio Exterior e Serviços–MDIC. Exportação e importação geral. Disponível em:< <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>>. Acesso em: Fevereiro de 2019.
- DIPOA. 2016. Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal do DIPOA. Volume 2, Ano Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Programas Especiais. Editores: Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ISSN 2447-8482
- Donlan, C. J., & Luque, G. M. (2019). Exploring the causes of seafood fraud: A meta-analysis on mislabeling and price. *Marine Policy*, 100, 258-264.
- FAO. 2018. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals*. Rome.
- FAO. 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Franco, C. M., Ambrosio, R. L., Cepeda, A., & Anastasio, A. (2021). Fish intended for human consumption: From DNA barcoding to a next-generation sequencing (NGS)-based approach. *Current Opinion in Food Science*, 42, 86-92.
- Frézal, L., & Leblois, R. (2008). Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(5), 727-736.
- Giusti, A., Armani, A., & Sotelo, C. G. (2017). Advances in the analysis of complex food matrices: Species identification in surimi-based products using Next Generation Sequencing technologies. *PloS one*, 12(10), e0185586.
- Gopal, T. S., & Boopendranath, M. R. (2013). Seafood ecolabelling. *Fishery Technology*, 50(2013), 1-10.
- Gopi, K., Mazumder, D., Sammut, J., & Saintilan, N. (2019). Determining the provenance and authenticity of seafood: A review of current methodologies. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 294-304.
- Honarmand Ebrahimi, S., Ossewaarde, M., & Need, A. (2021). Smart fishery: a systematic review and research agenda for sustainable fisheries in the age of AI. *Sustainability*, 13(11), 6037.

- Jonell, M., Crona, B., Brown, K., Rönnbäck, P., & Troell, M. (2016). Eco-labeled seafood: Determinants for (blue) green consumption. *Sustainability*, 8(9), 884.
- Mariani, S., Griffiths, A. M., Velasco, A., Kappel, K., Jérôme, M., Perez-Martin, R. I., ... & Sotelo, C. G. (2015). Low mislabeling rates indicate marked improvements in European seafood market operations. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 13(10), 536-540.
- Marques, A., Nunes, M. L., Moore, S. K., & Strom, M. S. (2010). Climate change and seafood safety: Human health implications. *Food Research International*, 43(7), 1766-1779.
- McKinney, R., Gibbon, J., Wozniak, E., & Galland, G. (2020). Netting billions 2020: A global tuna valuation.
- Melnychuk, M. C., Kurota, H., Mace, P. M., Pons, M., Minto, C., Osio, G. C., ... & Hilborn, R. (2021). Identifying management actions that promote sustainable fisheries. *Nature Sustainability*, 4(5), 440-449.
- Naaum, A. M., Warner, K., Mariani, S., Hanner, R. H., & Carolin, C. D. (2016). Seafood mislabeling incidence and impacts. In *Seafood Authenticity and Traceability* (pp. 3-26). Academic Press.
- Ong, K. J., Johnston, J., Datar, I., Sewalt, V., Holmes, D., & Shatkin, J. A. (2021). Food safety considerations and research priorities for the cultured meat and seafood industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(6), 5421-5448.
- Palmeira, C. A. M., da Silva Rodrigues-Filho, L. F., de Luna Sales, J. B., Vallinoto, M., Schneider, H., & Sampaio, I. (2013). Commercialization of a critically endangered species (largetooth sawfish, *Pristis perotteti*) in fish markets of northern Brazil: authenticity by DNA analysis. *Food Control*, 34(1), 249-252.
- Pappalardo, A. M., Raffa, A., Calogero, G. S., & Ferrito, V. (2021). Geographic pattern of sushi product misdescription in Italy—A crosstalk between citizen science and DNA barcoding. *Foods*, 10(4), 756. *Conservation*, 245, 108557.
- Parlapani, F. F. (2021). Microbial diversity of seafood. *Current Opinion in Food Science*, 37, 45-51.
- Premanandh, J. (2013). Horse meat scandal—A wake-up call for regulatory authorities. *Food control*, 34(2), 568-569.
- Quinto, C. A., Tinoco, R., & Hellberg, R. S. (2016). DNA barcoding reveals mislabeling of game meat species on the US commercial market. *Food Control*, 59, 386-392.
- Warner, K., Mustain, P., Lowell, B., Geren, S., & Talmage, S. (2016). Deceptive dishes: seafood swaps found worldwide. *Oceana*, 1-21.

## CAPÍTULO 1

Publicado na revista Sustainability Science 2021 DOI: <https://doi.org/10.1007/s11625-021-00932-z>

### **Peixe fora d'água: consumidores não são familiarizados com a aparência das espécies de peixes comerciais.**

Cusa, M; Falcão, L.H.O; Jesus, J; Biolatti, C; Blondeel, L; Bracken, F.S.A; Devriese, L; Garcés-Pastor, S; Minoudi, S; Gubili, C; Acutis, P.L; Mariani, S.

#### RESUMO

Os rótulos de produtos de pescados desempenham um papel cada vez mais importante na assistência aos consumidores na compra de produtos processados descaracterizados e no incentivo a práticas sustentáveis de pesca e aquicultura. Embora as escolhas de compra informadas sejam tipicamente influenciadas por rastreabilidade e consciência de rotulagem, elas também dependem da capacidade dos consumidores de identificar e discriminar as espécies de peixes disponíveis no mercado, que até então permanecem notavelmente inexploradas. Pedimos a 720 pessoas em seis países europeus para identificar imagens de seis espécies de peixes comumente vendidas na Europa. Revelamos que os consumidores europeus têm uma má compreensão da aparência do peixe que consomem (no geral aproximadamente 30% de identificação correta), com os consumidores britânicos tendo o pior desempenho e os espanhóis o melhor. Notamos associação cultural com algumas espécies, sendo os peixes mais consumidos regionalmente mais facilmente reconhecidos. Argumentamos que, apesar das recentes melhorias em soluções tecnológicas, diálogo com as partes interessadas e políticas de implementação, a transparência do mercado de produtos de pescado permanecerá aberta a más práticas até que os consumidores restaurem a conexão com seus alimentos.

**Palavras-chave:** Pesca sustentável · Rastreabilidade do pescado · Rotulagem incorreta · Conscientização ambiental · Alfabetização alimentar · Conservação marinha



## 1. INTRODUÇÃO

A substituição de produtos de pescado e a falta de transparência na cadeia de abastecimento abre as portas para o comércio de espécies, para práticas insustentáveis de aquicultura e pesca e para o esgotamento dos estoques, ao mesmo tempo em que expõe os consumidores aos riscos de saúde e segurança, permitindo negócios fraudulentos (Cohen 1997; Jacquet e Pauly 2007; Fields et al. 2020). Enquanto a negligência ou erros genuínos são às vezes a raiz da causa de rotulagem incorreta (*mislabeled*) de frutos do mar, o comportamento fraudulento movido pelo apelo do ganho econômico ou pelo comércio de produtos derivados de produtos de pescarias ilegais, não-declaradas e não-regulamentadas (IUU *fishing*) também resultará em casos de *mislabeled* (Cawthorn e Mariani 2017; Donlan e Luque 2019; Calosso et al. 2020). O advento de ferramentas baseadas em DNA lançou luz sobre a escala mundial e a difusão de rotulagem incorreta (*mislabeled*) de pescados, em alguns casos causando mudanças tangíveis por meio de uma melhor governança e atenção da mídia (Mariani et al. 2014). Isto é particularmente verdadeiro para a Europa, onde foi demonstrada que a rotulagem errada de certas espécies diminuiu substancialmente em resposta à conscientização pública e melhoria da legislação (Mariani et al. 2015). No entanto, ainda não está claro se essas rápidas melhorias podem ser sustentadas a longo prazo. O conhecimento dos consumidores sobre recursos pesqueiros foi creditado com um papel na promoção da sustentabilidade de produtos pesqueiros (Olson et al. 2014), mas virtualmente nada se sabe sobre a familiaridade dos consumidores com o peixe que comem, um conceito que na língua inglesa é conhecido como “*seafood literacy*” e que aqui chamaremos de “alfabetização do pescado”.

Embora não haja uma definição para o conceito de alfabetização do pescado ou conhecimento alimentar, a maioria dos especialistas a vê como o conhecimento necessário para que os consumidores façam compras informadas e escolhas alimentares no que diz respeito à saúde pessoal, impacto e padrões éticos (Bellotti 2010; Vidgen e Gallegos 2014; Perry et al. 2017). Alfabetização de espécies, um conceito recente criado por Hooykaas et al. (2019), abrange conhecimento sobre espécies específicas, incluindo a capacidade de reconhecer as espécies visualmente. Na verdade, a única habilidade para identificar e nomear espécies foi anteriormente associada com maiores níveis de afinidade, respeito e apreço (Schlegel e Rupf 2010; Mohneke et al. 2016). Considerando a grande diversidade de espécies no mercado de frutos do mar e suas histórias de vida divergentes, papéis ecológicos e status de conservação, a capacidade do consumidor de reconhecer espécies é um aspecto relevante e empoderador da alfabetização de pescados (Gaviglio et al. 2014). Os produtos da pesca são muitas vezes

considerados como uma mercadoria homogênea, agrupada sob o termo 'Peixe' (Gaviglio et al. 2014), ou frequentemente agregados em categorias ou 'termos guarda-chuva' (Griffiths et al. 2013; Cawthorn et al. 2018). O uso de hiperônimos na indústria de frutos do mar ou práticas deliberadas de rotulagem incorreta podem ocultar a comércio de espécies vulneráveis, ou de espécies propensas à IUU *fishing* (Cawthorn e Mariani 2017; Calosso et al. 2020) e pode levar ao consumo alheio de peixes de estoques mal administrados (Kroetz et al. 2020). A capacidade limitada de reconhecer e distinguir entre espécies pode potencialmente resultar em uma falta geral de preocupação com a biodiversidade marinha (Balmford et al. 2002; Schlegel e Rupf 2010) encorajando assim o comportamento fraudulento e permitindo que práticas danosas, como a substituição de peixes, persistam.

A globalização e os avanços tecnológicos, bem como melhorias nas habilidades de congelamento, também mudaram nossa relação com a comida e levaram ao aumento da comoditização de frutos do mar (Anderson et al. 2018). Um aumento de 350% na demanda por frutos do mar desde meados da década de 70 (FAO 2017) e o resultante aumento na comoditização de frutos do mar é responsável pela diminuição da demanda em produtos de espécie específicos e pela crescente tolerância na substituição de espécies dentro de grupos-chave (Anderson et al. 2018), como peixe branco, atum, salmão etc. Esses fatores têm um impacto tremendo sobre os hábitos de consumo e têm separado emocionalmente e fisicamente os consumidores urbanos da fonte dos alimentos que compra (Vileisis 2008; Bellotti 2010).

Dada a importância do conhecimento do consumidor em um crescente mercado de produtos de pescados cada vez mais complexo, estudos têm buscado identificar como os consumidores reagem às ferramentas de rotulagem e rastreabilidade (Altintzoglou e Nøstvold 2014; Rodriguez e Dopico 2020; Vitale et al. 2020), mas até onde sabemos, nenhum estudo avaliou quantitativamente a familiaridade dos compradores com a aparência do peixe que compram. Neste estudo, primeiro avaliamos a precisão da resposta dos consumidores em relação à identificação de espécies de peixes comumente consumidos e exploramos como isso pode diferir entre países e/ou regiões. Em seguida, exploramos padrões regionais de imprecisão com foco na riqueza e diversidade de respostas erradas. Realizamos esta avaliação da capacidade dos consumidores de identificar espécies de frutos do mar amplamente disponíveis em centros urbanos de seis países europeus. Isso nos permitiu abranger uma gama cultural abrangente e hábitos de consumo de frutos do mar urbanos, em países do Sul da Europa e Europa Ocidental, conforme definido pelo mapa da Comissão da UE (EUMOFA 2017), sendo que os primeiros normalmente têm maior taxa de consumo de frutos do mar e uma relação mais

próxima com peixarias, sendo que este último consumindo menos frutos do mar e apresentando maior dependência de frutos do mar processados disponíveis em supermercados (EUMOFA 2017; EUMOFA 2019).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta de dados

Foi registrada a capacidade dos consumidores de identificar visualmente espécies de peixes em seis países: Bélgica, Irlanda, Reino Unido (Europa Ocidental - EUO), Grécia, Itália e Espanha (Sul da Europa - SEU). Um total de 720 consumidores (120 por país) foram entrevistados em áreas de varejo geral nos centros da cidade de Ostende, Dublin, Manchester, Salonica, Turim e Barcelona, entre outubro e dezembro de 2016. Os centros da cidade foram escolhidos para este estudo para evitar vieses socioeconômicos ligados a certos bairros. Os consumidores eram escolhidos aleatoriamente na multidão e não estavam comprando frutos do mar no momento da entrevista. Um conjunto de seis espécies de peixes foram apresentados na forma de fotos para os participantes e eles foram solicitados a identificar cada espécie da melhor maneira possível. Conforme ilustrado na Figura 1a, as fotos ilustram a vista lateral de um espécime inteiro e as espécies incluíam quatro grandes recursos haliêuticos das águas europeias: Bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*), cavala do Atlântico (*Scomber scombrus*), anchova europeia (*Engraulis encrasicolus*) e linguado (*Solea solea*), e as duas principais espécies de maricultura produzidas na Europa: salmão do Atlântico (*Salmo salar*) e robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*). Respostas corretas, incorretas e nulas foram registradas e padronizadas em todos os países usando denominações oficiais da língua inglesa. Versões vernaculares de nomes de peixes e suas variantes regionais em países (ou seja, 'cavala' para a cavala do Atlântico, ou o italiano «branzino» para robalo europeu) foram todos aceitos como respostas corretas.

### Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas no R (R Core Team 2019; <https://www.r-project.org/>). A precisão da identificação regional para cada espécie de peixe individual (ou seja, bacalhau do Atlântico, cavala do Atlântico, anchova europeia, linguado, salmão do Atlântico e robalo europeu) apresentada aos consumidores foi testada usando testes de qui-quadrado. Para cada espécie, esperávamos que a precisão da identificação diferisse significativamente entre as regiões EUO e SEU. O *Cumulative Link*

*Model* (clm, também conhecido como Regressão Logística Ordinal) foi usado para testar se o número de respostas corretas dos participantes (0–6) diferia significativamente entre as regiões. Trata-se de um teste não paramétrico poderoso, adequado para dados com variáveis dependentes ordinais como essas. Foi usado o pacote “ordinal” para gerar o modelo (Christensen 2019). Para testar se a precisão percentual das respostas diferia significativamente entre os países, usamos um teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido por um teste post hoc de Dunn, pois os dados violavam as suposições do teste paramétrico. Para tanto, foi utilizado o pacote “FSA” (Ogle et al. 2020). Dada a semelhança de resposta entre os países de uma determinada região e as diferenças observadas na precisão entre as regiões, extrapolou-se aqui os resultados de cada cidade para o país a que pertencem. Para regiões, as suposições do teste paramétrico foram atendidas, permitindo avaliar o efeito da região na precisão percentual da resposta usando um teste t de Student.

Para avaliar como as respostas erradas para cada uma das seis espécies diferiram entre regiões e países, foram usados dois índices de diversidade: riqueza de espécies  $R$  e a diversidade de Shannon índice,  $H'$ . A riqueza de respostas erradas permitiu quantificar o número total de participantes de espécies erradas sugerido para cada país e região, enquanto o índice de diversidade Shannon permitiu contabilizar não só o número de espécies erradas, mas também a frequência de cada resposta errada. A riqueza de espécies foi calculada como o total número de espécies erroneamente adivinhado e o índice de diversidade de Shannon foi calculado usando a seguinte fórmula:

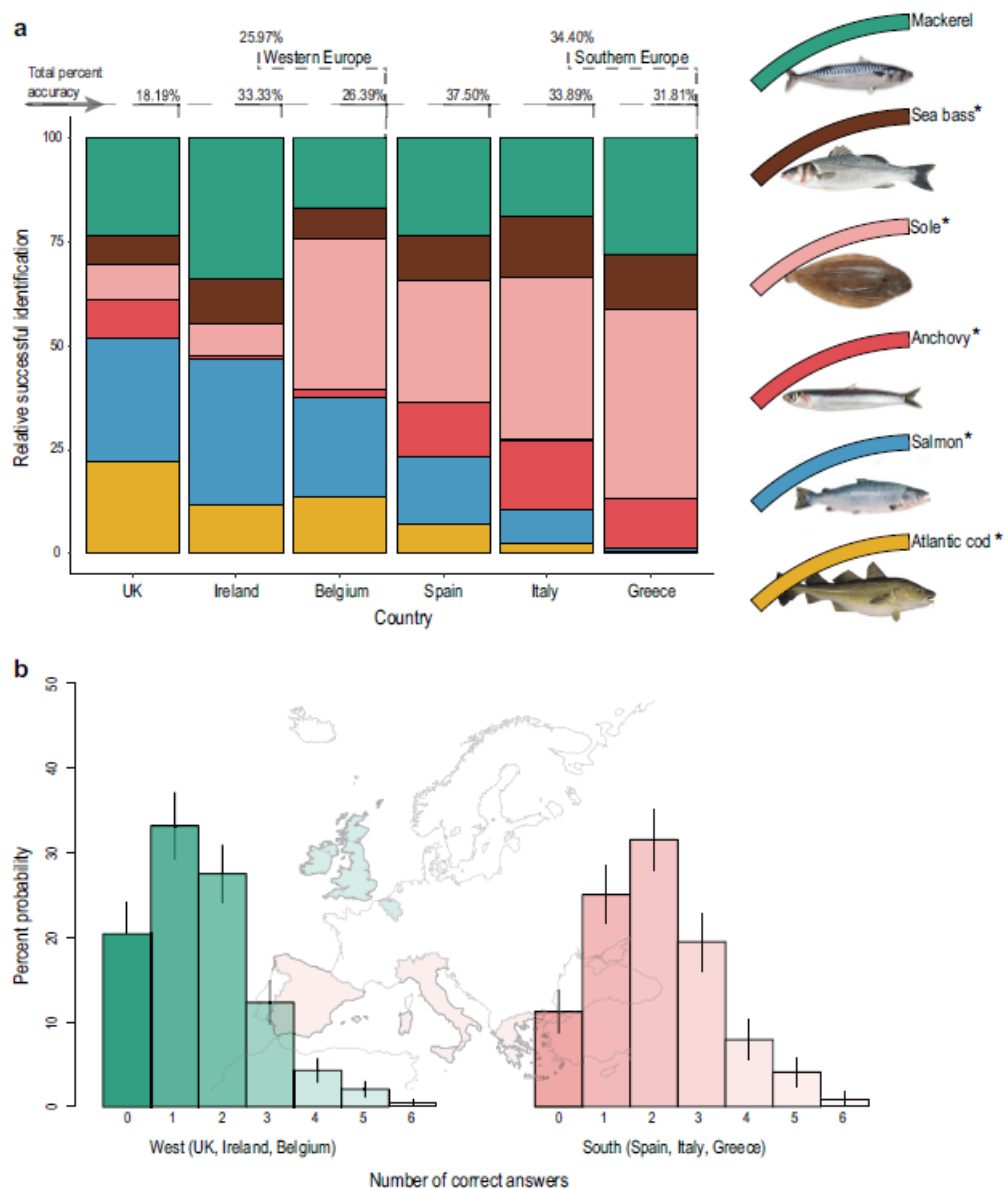
$$H' = - \sum_{i=1}^R p_i \ln p_i$$

onde  $p_i$  é a proporção de respostas erradas pertencentes a  $i$ th espécies. Uma *one-way* ANOVA foi usada para determinar se as médias de riqueza e diversidade de Shannon diferiram significativamente entre regiões e países, e um teste de Tukey HSD foi realizado para comparação pareada entre os países testados. Para a maioria das representações gráficas, foi usado o pacote R “ggpubr” (Kassambara 2020) e as figuras foram processadas e montadas no Adobe Illustrator (Adobe Inc. 2019). Os diagramas de acordes da diversidade de respostas erradas foram gerados usando o software Circos (Krzywinski et al. 2009).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

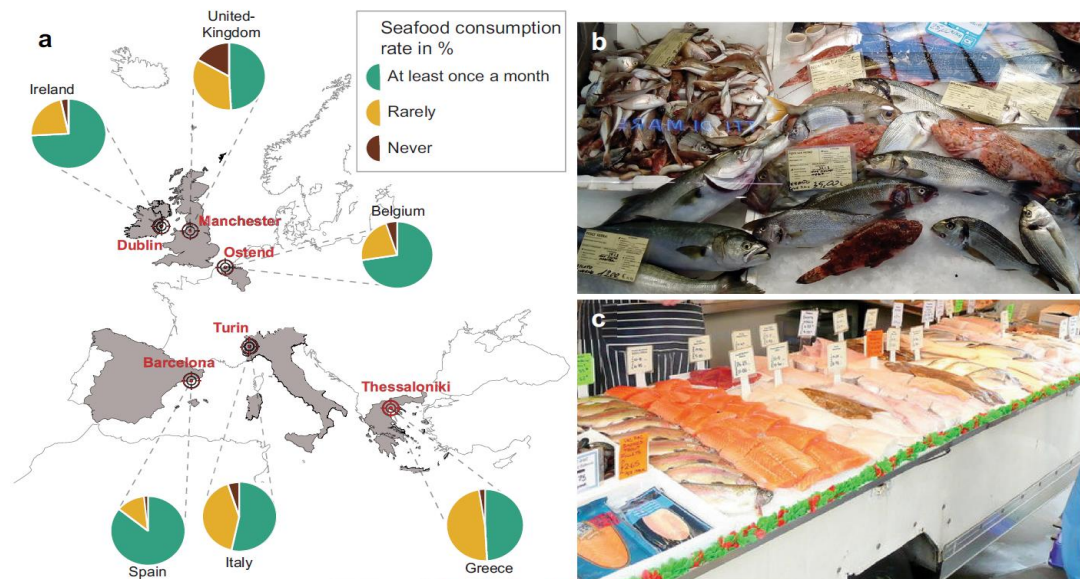
#### **Consumo de frutos do mar e falta de familiaridade com a aparência dos peixes**

A falta de familiaridade dos consumidores com a aparência de espécie de peixe foi flagrante, com média de 30,19% de identificação precisa em todos os países. Teste de Kruskal-Wallis indicou que a precisão percentual da resposta foi significativamente diferente (Qui quadrado = 61,47,  $p < 0,001$ ,  $df = 5$ ) entre os seis países (veja Material Suplementar – A, Tabela S1, para o teste KW post hoc de Dunn), e um teste t indicou que a região de procedência dos consumidores afeta a precisão percentual de sua resposta [ $t(718) = 5,26$ ,  $p < 0,001$ ]. Os países da Europa Ocidental (EUO) fizeram relativamente pior, com o Reino Unido registrando a menor precisão de identificação de 18,19%, seguido pela Bélgica com 26,39%, enquanto os países do Sul da Europa desempenharam um pouco melhor em média, com valores variando entre 31,81% (Grécia) e 37,50% (Espanha) (Figura 1a). Diferenças regionais significativas no acerto de identificação de espécie específica também foram aparentes para cinco das seis espécies que foram apresentadas aos consumidores. Sem surpresa, bacalhau e salmão, pilares tradicionais de águas temperadas frias, tiveram a maioria das identificações bem sucedidas no Reino Unido e na Irlanda (onde também são mais consumidos, EUMOFA 2017), enquanto espécies de águas mais quentes, como anchovas, robalos e linguado foi responsável pela maioria das identificações bem sucedidas na Itália e Grécia (Figura 1a), sugerindo que a capacidade de identificação está intrinsecamente ligada aos hábitos culinários tradicionais e à disponibilidade histórica de espécies nas águas dos países e mercados.



**Figura 1 - a)** Identificação bem-sucedida relativa de cada uma das seis espécies de peixes para cada um dos seis países. O gráfico de barras empilhado mostra apenas identificações corretas e a porcentagem total de precisão é mostrada acima das barras empilhadas para cada país e para ambas as regiões. O gráfico de segmentos representa quanta porcentagem pode ser atribuída a cada espécie do número total de peixes corretamente identificados. Por exemplo, de 31,81% de sucesso de identificação na Grécia, cerca de metade é devido à sola. As respostas corretas dos consumidores foram comparadas entre regiões para cada espécie independentemente, e o asterisco (\*) indica que a precisão de identificação para essa espécie foi significativamente diferente entre as regiões da Europa Ocidental e do Sul, conforme testado via categóricas testes qui-quadrado. As fotos apresentadas aos participantes são descritas na legenda junto com o nome comum da espécie. **b)** Probabilidade dos consumidores de se enquadrarem nas categorias de 0 a 6 (0 = zero peixe corretamente identificados e 6 = seis peixes corretamente identificados) para o norte países (Reino Unido, Irlanda e Bélgica) e sul países (Espanha, Itália e Grécia), conforme previsto a partir de valores ajustados do modelo de link (clm). As barras de erro correspondem a  $\pm 1,96$  de erro padrão para a previsão média.

Quando os países foram separados em grupos Ocidental e Sul, com base no mapa da Comissão da UE (EUMOFA 2017), os consumidores dos países do Sul da Europa revelaram mais habilidades de identificação do que os consumidores dos países Europa Ocidental. A análise de regressão ordinal indicou que as regiões diferem significativamente entre si quanto ao número de respostas corretas ( $z = -5,21$ ,  $p < 0,001$  ver Tabela S2 em Material Suplementar – A, para coeficientes de limiar) e, em geral, maior precisão na identificação também pode ser vista nas distribuições de probabilidades na Figura 1b. Embora as discrepâncias regionais já tivessem destaque em termos de taxa de rotulagem incorreta e conscientização (Miller et al. 2012a; Bréchon et al. 2016), que provavelmente surgem da interação de vários fatores culturais, demográficos, e diferenças regulatórias, a extensão e as implicações de alfabetização de pescados na população teve até este ponto foi largamente negligenciado. Hábitos de consumo de frutos do mar diferem muito entre os países investigados (Brunsø et al. 2003; EUMOFA 2017; EUMOFA 2019), que também pode afetar o desempenho de reconhecimento de espécies de peixes. Espanhóis entrevistados demonstraram o mais alto nível de identificação sucesso, e mais de 85% indicaram consumir frutos do mar pelo menos uma vez por mês, uma taxa mais alta do que em qualquer outro país pesquisado (Figura 2a) e consistente com dados reportados (EUMOFA 2017). O Reino Unido e a Grécia, por outro lado, têm atualmente o menor consumo per capita de frutos do mar entre os seis países, o que se refletiu nas respostas desta pesquisa (Figura 2a); ainda, a identificação precisa na Grécia é significativamente maior do que no Reino Unido (Teste de *Kruskal-Wallis post hoc Dunn*  $p < 0,001$ , Tabela S1 em Material Suplementar - A), provavelmente devido à intersecção de outro fator: a forma como os peixes são tradicionalmente apresentados ao consumidor no varejo. Cidadãos do SEU estão normalmente expostos a uma maior diversidade de espécies, onde estes são exibidos inteiros na maioria das barracas de comida / feiras (Figura 2b), o que provavelmente levou a uma maior familiaridade com a aparência de pescados nos países do sul, enquanto os mercados de pesca da EUO geralmente oferecem uma gama relativamente menor de espécies, muitas vezes já filetado (Figura 2c).



**Figura 2 - a)** Taxa de consumo de frutos do mar em porcentagem para um total de 720 participantes de seis países europeus. **b)** Um exemplo de uma barraca de frutos do mar (Livorno, Itália); **c)** Um exemplo do norte (Hereford, Reino Unido), essas fotos não foram tiradas nas cidades escolhidas para este estudo e servem apenas a título ilustrativo.

As tendências ilustradas acima provavelmente representam aspectos culturais e legados baseados no mercado de um passado recente, onde o fornecimento das cadeias de pescada eram menos globalizadas (ver Miller et al. 2012b para um estudo de caso). Mais recentemente, o apetite por rapidez e facilidade de preparar refeições (EUMOFA 2019), especialmente entre gerações mais jovens (Brunsø et al. 2009), é parcialmente responsável por motivar o setor varejista a priorizar produtos processados em detrimento dos frescos, privilegiando os supermercados em detrimento das peixarias. Entre 1988 e 1995, as maiores cadeias de varejo do Reino Unido, por exemplo, passaram de vender 31,5% para 60,9% de todo o peixe fresco (Murray and Fofana 2002). Peixarias e supermercados adotam diferentes estratégias de apresentação do produto, e considerando que os peixes são mais propensos a serem colocados frescos e inteiros em uma barraca nas peixarias e feiras, eles tendem a ser apresentados como produtos processados nas prateleiras ou freezers dos supermercados (Murray e Fofana 2002). Os produtos do mar embalados e rotulados frequentemente contêm peixe processado sem características morfológicas, forçando o consumidor a confiar nos rótulos para informações sobre o produto, incluindo a identificação das espécies (De Almeida et al. 1997). O aumento explosivo da maricultura, que saltou de 5 milhões de toneladas em 1988 para 31 milhões de toneladas em 2018 (FAO 2020) também provavelmente contribuiu para a diluição gradual das associações regionais entre pessoas e peixes na Europa. Isto é simbolizado pelo salmão do Atlântico que saltou de uma produção global de 38 mil toneladas em 1985 para 2 milhões

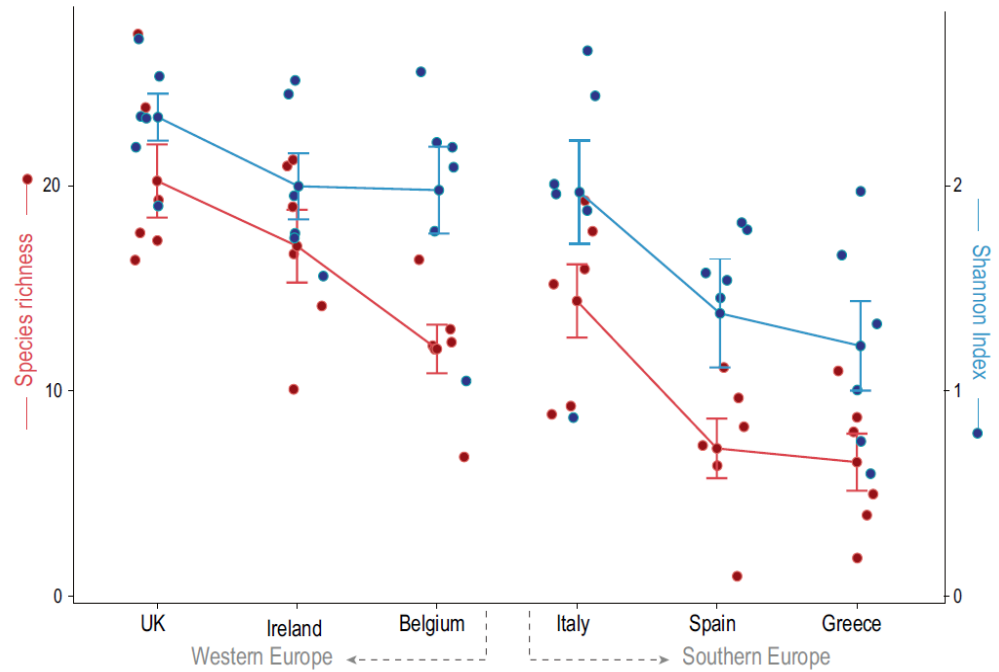


toneladas em 2016 (Programa de Informação de Espécies Aquáticas Cultivadas 2004) no qual foi o segundo peixe mais consumido depois do atum e a espécie cultivada mais consumida no Europa em 2018 (EUMOFA 2020).

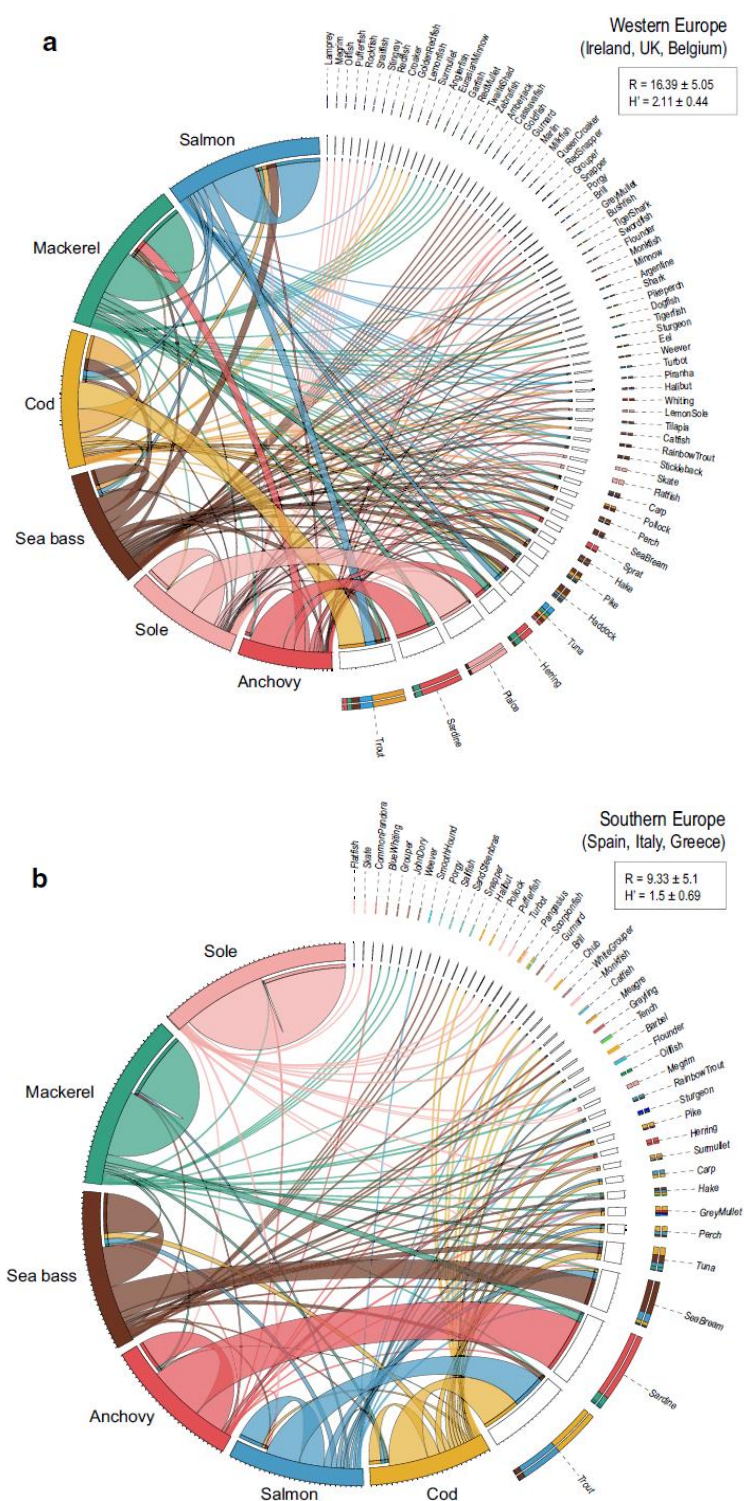
### **Percepção dos consumidores sobre pescado**

Quando solicitados a identificar imagens de peixes, os participantes dos países da EUO e SEU não só diferiam em termos da precisão de sua resposta, mas também em termos de riqueza e diversidade de respostas que eles forneceram. Nós aproveitamos as informações contidas nas respostas para obter informações sobre a percepção dos consumidores sobre a natureza e diversidade de frutos do mar. A ANOVA indicou que as médias eram significativamente diferentes entre os países para ambas a riqueza de espécies [ $F(5,30) = 11,8$ ,  $p < 0,001$ ] e Índice de Shannon-Wiener [ $F(5,30) = 4,08$ ,  $p < 0,001$ ]. A riqueza média de espécies e a diversidade média de Shannon-Wiener também foram calculadas para cada região, e a ANOVA indicou que as médias foram significativamente diferentes entre as regiões para a riqueza de espécies [ $F(1,34) = 17,38$ ,  $p < 0,001$ ] e índice de Shannon-Wiener [ $F(1,34) = 10,05$ ,  $p < 0,001$ ]. Testes *HSD post hoc de Tukey* fornecidos no Material Suplementar - A (Tabela S3 e S4) indicaram, talvez surpreendentemente, que os participantes da Europa Ocidental, da região com a menor precisão na identificação, deram respostas mais ricas e diversificadas (Figura 3). Um olhar mais atento à diversidade de respostas em cada uma das duas regiões estudadas oferece uma perspectiva interessante sobre o conhecimento dos consumidores e percepção da diversidade de peixes (Figura 4a, b). Os participantes dos países da EUO eram mais propensos a tomar palpites inusitados, com algumas respostas ilustrando claramente a falta de conhecimento sobre forma e morfologia, como 'peixe dourado', 'peixinho', 'piranha', '*stickleback*' e 'tubarão-tigre' (Figura 4a). As respostas dos participantes do SEU mostraram-se mais realistas, com a maioria das suposições erradas atribuídas a outras espécies consumidas (Figura 4b). Uma abordagem espécie por espécie ilustrou como essas regiões estão acostumadas a diferentes espécies de peixes. Por exemplo, enquanto o linguado era quase sistematicamente corretamente identificado nos países do sul, com apenas poucos participantes rotulando-o como uma espécie diferente, mais do que metade dos participantes dos países da EUO identificou erroneamente linguado como solha (*Pleuronectes platessa*), que é o peixe chato mais popular tradicionalmente capturado e servido nas águas do Norte da EUO (Figura 4a). Em contrapartida, os participantes dos países da EUO identificaram com precisão o salmão com mais frequência do que os participantes dos países do SEU, que desproporcionalmente adivinharam que o salmão e o bacalhau eram uma espécie de truta (Figura 4b), provavelmente devido ao seu hábito

de consumir bacalhau e salmão importados em filetes e/ou salgado e produtos defumados. O *Seabass*, que só recentemente se tornou uma importação agrícola regular no noroeste da Europa, foi confundido por uma maior variedade de espécies improváveis na EMO países (Figura 4a).



**Figura 3** - Gráficos de linhas que ilustram os valores médios e erros padrão para riqueza de espécies (em vermelho) e índice de diversidade de Shannon (em azul) das respostas erradas dos participantes para cada peixe (total = 6 fotos)



**Figura 4** - Diversidade de respostas fornecidas pelos consumidores ligadas às seis espécies apresentadas aos consumidores na forma de imagens (à esquerda do diagrama = linguado, cavala, robalo, anchova, salmão e bacalhau). A espessura das bandas dos diagramas circulares indica as proporções de respostas vinculadas a um dado palpite. As respostas foram acumuladas para **(a)** países da Europa Ocidental (Irlanda, Estados Unidos Reino Unido e Bélgica) e **(b)** Países do sul da Europa (Espanha, Itália e Grécia). O diagrama de cordas foi criado usando o software Circos online (Krzywinski et al. 2009).

Cadeias de suprimentos mais eficientes e a urbanização têm modificado dramaticamente as culturas culinárias de frutos do mar em todo o mundo (Carroll 2009; Bellotti 2010; Levin e Dufault 2010). Em 2018, mais de 70% da população europeia vivia nos centros urbanos (ou seja, cidades ou vilas e subúrbios) (Eurostat 2020). O fenômeno da “fuga rural” foi, em parte, possibilitado por cadeias de suprimentos modernas e eficientes, desconectando os consumidores da fonte dos alimentos que eles compram (Bellotti 2010). Hoje, os produtos alimentícios não precisam para ser consumido fresco e pode ser enviado a milhares de quilômetros de seu ponto de origem, às vezes viajando em caminhos complicados antes de chegar ao seu destino final (por exemplo, uma grande proporção de bacalhau do Atlântico é capturada na Escandinávia águas e no mar de Barents, processado na China, apenas para encontrar o caminho de volta ao mercado europeu) (Anderson et al. 2018). Dito isto, a homogeneização de hábitos de consumo não é totalmente impermeável às forças culturais (Miller et al. 2012a). Alimentos básicos tradicionais que muitas vezes costumavam ser determinados pelas disponibilidades locais carregam um forte impulso para orientar as escolhas do consumidor contemporâneo (Nestle et al. 1998; Asp 1999). De fato, tanto os países da EUO quanto da SEU tiveram no passado e continuam a ter um significativo fornecimento de pesca com desembarque local e produtos de aquicultura (EUMOFA 2017) que se destaca neste estudo por habilidades regionais específicas para identificação de peixes.

Os hábitos culturais também levaram a uma demanda sustentada por produtos de pesca específicos, mas com o declínio da pesca, estas exigências tornaram-se mais difíceis de satisfazer, levando à mercantilização dos frutos do mar, um fenômeno que provavelmente está afetando a capacidade dos consumidores de discriminar entre espécies. O mercado do peixe branco, por exemplo, que foi dominado pelo bacalhau durante décadas, incluiu também outras espécies capturadas e cultivadas (Asche et al. 2009), sempre diluindo uma já ampla categoria de espécies, e tornando o termo 'peixe branco' sem sentido para muitos. De fato, como indicado por Asche et al. (2009), o mercado de pescado branco também compreendia outras espécies capturadas na natureza, como o escamudo (*Pollachius virens*) cantarilho (*Sebastes* sp.), arinca (*Melanogrammus aeglefinus*), bacalhau do Pacífico (*Gadus macrocephalus*) e escamudo do Alasca (*Gadus chalcogrammus*), a maioria dos quais foram considerados menos valiosos. A partir da década de 1990 o mercado de peixe branco começou ser substancialmente inflado por espécies cultivadas amplamente comercializadas, como bagre (Siluriformes), hoki (*Macruronus novaezelandiae*), perca do Nilo (*Lates niloticus*), e mais recentemente a tilápia

(*Oreochromis* sp.) e pangasius (*Pangasianodon hypofthalmo*) (Asche et al. 2009). Em um mundo onde os desembarques capturados na natureza se estabilizaram e onde a aquicultura suporta o crescimento do comércio de frutos do mar, as espécies básicas são cada vez mais substituíveis.

Com a urbanização vem o desapareço do mundo natural, o que provavelmente determina os resultados que observamos. Fornecer aos consumidores ferramentas educacionais adequadas, como guias de pesca e esquemas de certificação são úteis para consumidores preocupados e ambientalmente conscientes; mas na hora de comprar frutos do mar, muitos consumidores muitas vezes permanecerão mais focados em preços e prazos de validade, e não na biodiversidade (Pieniak et al. 2007). O conhecimento, o que é um fator decisivo quando falamos sobre os tipos de informações que os consumidores irão considerar ao realizar suas compras (Pieniak et al. 2013), é altamente heterogêneo e vai depender de fatores como nível de educação, idade, status social, cultura e taxa de consumo de frutos do mar. Para muitos consumidores menos informados “o peixe é simplesmente peixe” (Pieniak et al. 2007) e as escolhas de compra centram-se na qualidade e na segurança e não no tipo de espécie (Dey et al. 2008). A capacidade de identificar espécies de animais selvagens está ligada a um maior cuidado, interesse e conscientização para a biodiversidade (Schlegel e Rupf 2010; Mohnke et al. 2016), devendo, portanto, vir como preocupação que os consumidores deste estudo tiveram um desempenho tão ruim, com uma precisão de identificação média de aproximadamente 30%. Isso mostra um nítido contraste com o desempenho na identificação de espécies terrestres nativas comuns, com uma média de precisão de identificação de 68% entre o público em geral no Holanda (Hookaas et al. 2019). Ver os produtos da pesca como uma mercadoria homogeneizada é ignorar quaisquer preocupações ecológicas e ambientais de espécies específicas que à diversa e complexa indústria pesqueira. Até os consumidores entenderem isso, os produtos de pescados provavelmente continuarão a mercê de práticas fraudulentas, como rotulagem incorreta de espécies, substituição de espécies, e pescaria ilegal, não declarada e não regulamentada. No entanto, é necessário um trabalho adicional para avaliar se práticas de rotulagem incorreta e casos de fraude de pescados tendem a ser maiores em países com menor alfabetização de pescados.

#### **4. CONCLUSÃO**

Esta é a primeira caracterização quantitativa de alfabetização de pescado no maior mercado de frutos do mar do mundo, a União Europeia. Embora os consumidores dos centros

urbanos dos países do sul da Europa tenham sido mais bem sucedidos na identificação de peixes, a tendência geral deste estudo ilustra a relativa falta de familiaridade dos consumidores com a aparência de espécies de peixes comerciais nos países no Ocidente e no Sul da Europa. Tradições culinárias influenciam fortemente a diversidade de respostas dos entrevistados, e a correta identificação das espécies. No entanto, apesar da inércia cultural, os estilos de vida modernos estão cada vez mais separando os consumidores da fonte de seus alimentos.

A crescente demanda por frutos do mar e a natureza dinâmica da indústria das pescas são responsáveis pelo agrupamento de espécies de peixes em categorias amplas, mascarando espécies sazonais e variações anuais na colheita, produção e comércio de espécies, e oferecendo uma mercadoria constante e estável ao consumidor. As cadeias de suprimentos globalizadas e a urbanização são provavelmente o centro da baixa alfabetização de pescados que observamos, e de uma homogeneização gradual das culturas alimentares entre os países. Nesse contexto, a baixa precisão de identificação que observamos entre os países parece previsível, se alguma coisa, é bem surpreendente que os consumidores sejam capazes de identificar alguma espécie de peixes, e isso revela algum nível de contato com espécimes inteiros, apesar das tendências do mercado que pressionam por produtos processados.

Cada vez mais, as Organizações Não Governamentais e as partes interessadas forneceram aos consumidores apoio educacional de frutos do mar como uma tentativa de orientar suas compras para hábitos de consumo sustentáveis. Apesar de incentivos bem-intencionados fornecidos por padrões de rotulagem e esquemas de certificação, nossos resultados demonstram claramente uma falta de conhecimento sobre a aparência do peixe comumente consumidos. Estudos demonstraram que a capacidade de identificar determinadas espécies está ligado a uma maior apreciação e respeito e pode ter consequências de longo alcance em termos de conservação. Embora este estudo não examine a causalidade entre alfabetização de pescados e sustentabilidade de frutos do mar, não obstante, é possível supor que a incapacidade dos consumidores de identificar espécies de peixes comuns pode resultar em um desinteresse pelo consumo sustentável de frutos do mar. Nós, portanto, sugerimos que há uma necessidade premente de continuar a educar os consumidores sobre os frutos do mar e reconhecemos que esta responsabilidade não deve recair apenas sobre os ombros de ONGs. Deve ser abordada através de ações concertadas envolvendo cientistas praticantes, governos e sociedade civil em geral, com o objetivo de transformar a forma moderna em que os cidadãos percebem os alimentos selvagens. Não é de estranhar que no contexto atual, os consumidores

podem demonstrar falta de interesse e habilidade em discriminar entre as espécies. Quando se trata de identificar espécies de peixes, os consumidores são como peixes fora da água.

## 5. REFERÊNCIAS

- Altintzoglou T, Nøstvold BH (2014). Labelling fish products to fulfil Norwegian consumers' needs for information. *Br. Food J.*
- Anderson JL, Asche F, Garlock T (2018) Globalization and commoditization: the transformation of the seafood market. *J Commod Markets* 12:2–8
- Asche FK, Roll H, Trollvik T (2009) New aquaculture species—the whitefish market. *Aquacult Econ Manag* 13:76–93
- Asp EH (1999) Factors affecting food decisions made by individual consumers. *Food Policy* 24:287–294
- Balmford A, Clegg L, Coulson T, Taylor J (2002). Why conservationists should heed
- Bellotti B (2010) Food literacy: reconnecting the city with the country. *J Agric Sci* 22:29
- Bréchon AL, Hanner R, Mariani S (2016) A systematic analysis across north Atlantic countries unveils subtleties in cod product labelling. *Mar Policy* 69:124–133
- Brunsvold K (2003). Consumer research on fish in Europe. In *Quality of fish from catch to consumer: labelling, monitoring and traceability* (pp. 335–344). Wageningen Academic Publishers.
- Brunsvold K, Verbeke W, Ottar Olsen S, Fruensgaard Jeppesen L (2009) Motives, barriers and quality evaluation in fish consumption situations. *Brit Food J* 111:699–716
- Calosso MC, Claydon JA, Mariani S, Cawthorn DM (2020) Global footprint of mislabelled seafood on a small island nation. *Biol Conserv* 245:108557
- Carroll WF (2009) Sushi: globalization through food culture: towards a study of global food networks. *J East Asian Cult Inter Stud* 2:451–456
- Cawthorn DM, Mariani S (2017) Global trade statistics lack granularity to inform traceability and management of diverse and high-value fishes. *Sci rep* 7:1–11
- Cawthorn DM, Baillie C, Mariani S (2018) Generic names and mislabeling conceal high species diversity in global fisheries markets. *Conserv Lett* 11:e12573
- Christensen RHB (2019). Ordinal—regression models for ordinal data. R package version 2019.12–10. <https://CRAN.R-project.org/package=ordinal>
- Cohen A (1997) Sturgeon poaching and black market caviar: a case study. *Environ Biol Fishes* 48:423–426



- De Almeida MDV, Graca P, Lappalainen RETAL, Giachetti I, Kafatos A, Remaut de Winter AM, Kearney JM (1997) Sources used and trusted by nationally-representative adults in the European Union for information on healthy eating. *Eur J Clin Nutr* 51:16–22
- Dey MM, Garcia YT, Praduman K, Piumsombun S, Haque MS, Li L, Koeshendrajana S (2008) Demand for fish in Asia: a cross-country analysis. *Aust J Agr Resour Ec* 52:321–338
- Donlan CJ, Luque GM (2019) Exploring the causes of seafood fraud: a meta-analysis on mislabeling and price. *Marine Policy* 100:258–264. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2018.11.022>
- EUMOFA (2017). EU consumer habits regarding fishery and aquaculture products. [Accessed June 2020 on [https://www.eumofa.eu/documents/20178/84590/EU+consumer+habits\\_final+report+.pdf/5c61348d-a69c-449e-a606-f5615a3a7e4c](https://www.eumofa.eu/documents/20178/84590/EU+consumer+habits_final+report+.pdf/5c61348d-a69c-449e-a606-f5615a3a7e4c)]
- EUMOFA. (2019). The EU fish market. [Accessed June 2020 on [https://www.eumofa.eu/documents/20178/314856/EN\\_The+EU+fish+market\\_2019.pdf/](https://www.eumofa.eu/documents/20178/314856/EN_The+EU+fish+market_2019.pdf/)]
- EUMOFA (2020). The EU fish market. [Accessed February 2021 on Eurostat. (2020). [Accessed 23 June 2020 on <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/EDN-20200207-1#:~:text=In%202018%2C%2039.3%25%20of%20the,29.1%25%20lived%20in%20rural%20areas.>]
- FAO. (2017). Fisheries and aquaculture software. FishStat Plus - Universal software for fishery statistical time series. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 14 September 2017. [Accessed 28 April 2020 on <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en>].
- FAO. (2020). The state of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. [Accessed June 2020 on <https://doi.org/10.4060/ca9229en>]
- Fields AT, Fischer GA, Shea SKH, Zhang H, Feldheim KA, Chapman DD (2020) DNA Zip-coding: identifying the source populations supplying the international trade of a critically endangered coastal shark. *Conserv Anim*. <https://doi.org/10.1111/acv.12585>
- Gaviglio A, Demartini E, Mauracher C, Pirani A (2014) Consumer perception of different species and presentation forms of fish: an empirical analysis in Italy. *Food Qual Prefer* 36:33–49
- Griffiths AM, Miller DD, Egan A, Fox J, Greenfield A, Mariani S (2013) DNA barcoding unveils skate (Chondrichthyes: Rajidae) species diversity in ‘ray’ products sold across Ireland and the UK. *PeerJ* 1:e129
- Hooykaas MJ, Schilthuizen M, Aten C, Hemelaar EM, Albers CJ, Smeets I (2019) Identification skills in biodiversity professionals and laypeople: a gap in species literacy. *Biol Conserv* 238:108202 <https://www.eumofa.eu/documents/20178/41563>

5/EN\_The+EU+fish+market\_2020.pdf/fe6285bb-5446-ac1a-e213-6fd6f64d0d85?t=1604671147068]

- Adobe Inc. 2019. Adobe Illustrator Available at: <https://adobe.com/products/illustrator>
- Jacquet JL, Pauly D (2007) The rise of seafood awareness campaigns in an era of collapsing fisheries. *Mar Policy* 31:308–313
- Kassambara A (2020). ggpubr: 'ggplot2' based publication ready plots. R package version 0.2.5. <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>
- Kroetz K, Luque GM, Gephart JA, Jardine SL, Lee P, Moore KC, Donlan CJ (2020) Consequences of seafood mislabeling for marine populations and fisheries management. *PNAS* 117:30318–30323
- Krzywinski M et al (2009) Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res* 19:1639–1645
- Levin PS, Dufault A (2010) Eating up the food web. *Fish Fish* 11:307–312
- Mariani S, Ellis J, O'Reilly A, Bréchon AL, Sacchi C, Miller DD (2014) Mass media influence and the regulation of illegal practices in the seafood market. *Conserv Lett* 7:478–483
- Mariani S, Griffiths AM, Velasco A, Kappel K, Jérôme M, Perez-Martin RI, Boufana B (2015) Low mislabeling rates indicate marked improvements in European seafood market operations. *Front Ecol Environ* 13:536–540
- Miller DD, Clarke M, Mariani S (2012) Mismatch between fish landings and market trends: a Western European case study. *Fish Res* 121:104–114
- Miller D, Jessel A, Mariani S (2012) Seafood mislabelling: comparisons of two western European case studies assist in defining influencing factors, mechanisms and motives. *Fish Fish* 13:345–358
- Mohneke M, Erguvan F, Schlüter K (2016) Explorative study about knowledge of species in the field of early years education. *J Emergent Sci* 11:1–234
- Murray AD, Fofana A (2002) The changing nature of UK fish retailing. *Mar Resour Econ* 17:335–339
- AdersonAscheGarlock JLFT (2018) Globalization and commoditization: the transformation of the seafood market. *J Commod Mark* 12:2–8
- Nestle M, Wing R, Birch L, DiSogra L, Drewnowski A, Middleton S, Economos C (1998) Behavioral and social influences on food choice. *Nutr Rev* 56:S50–S74
- Ogle DH, Wheeler P, Dinno A (2020). FSA: fisheries stock analysis. R package version 0.8.30, <https://github.com/droglenc/FSA>

- Olson J, Clay PM, da Silva PP (2014) Putting the seafood in sustainable food systems. *Mar Policy* 43:104–111
- Perry EA, Thomas H, Samra HR, Edmonstone S, Davidson L, Faulkner A, Kirkpatrick SI (2017) Identifying attributes of food literacy: a scoping review. *Public Health Nutr* 20:2406–2415
- Pieniak Z, Verbeke W, Vermeir I, Brunsø K, Olsen SO (2007) Consumer interest in fish information and labelling. *J Int Food Agribusiness Mark* 19:117–141
- Pieniak Z, Vanhonacker F, Verbeke W (2013) Consumer knowledge and use of information about fish and aquaculture. *Food Policy* 40:25–30
- Cultured aquatic species information Programme. *Salmo salar*. Cultured aquatic species information programme. Text by Jones M In: FAO fisheries division [online]. Rome. Updated 1 January 2004. [Cited 10 December 2020]
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Rodriguez-Salvador B, Dopico DC (2020) Understanding the value of traceability of fishery products from a consumer perspective. *Food Control* 112:107142
- Schlegel J, Rupf R (2010) Attitudes towards potential animal flagship species in nature conservation: a survey among students of different educational institutions. *J Nat Conserv* 18:278–290
- Vidgen HA, Gallegos D (2014) Defining food literacy and its components. *Appetite* 76:50–59
- Vileisis A (2008) *Kitchen literacy: how we lost knowledge of where food comes from and why we need to get it back*. Island Press, Washington, DC
- Vitale S, Biondo F, Giosuè C, Bono G, Okpala COR, Piazza I, Pipitone V (2020) Consumers' perception and willingness to pay for ecolabeled seafood in Italian hypermarkets. *Sustainability* 12:1434

## 6. MATERIAL SUPLEMENTAR - A

**Tabela S1** – Teste *Post-hoc de Dunn* exibindo a estatística do teste Z e valores-p ajustados para comparações pareadas de precisão percentual de respostas corretas de consumidores entre seis países europeus.

Comparações	Z	Valores-p ajustados
<b>Bélgica - Grécia</b>	<b>-2.4373</b>	<b>0.0074*</b>
<b>Bélgica – Irlanda</b>	<b>-2.9805</b>	<b>0.0014*</b>
Grécia - Irlanda	-0.5432	0.2935
<b>Bélgica - Itália</b>	<b>-3.169</b>	<b>0.0008*</b>
Grécia - Itália	-0.7317	0.2322
Irlanda – Itália	-0.1885	0.4252
<b>Bélgica – Espanha</b>	<b>-3.6658</b>	<b>0.0001*</b>
Grécia – Espanha	-1.2285	0.1096
Irlanda - Espanha	-0.6853	0.2466
Itália – Espanha	-0.4968	0.3097
Bélgica – Reino Unido	2.7403	0.0031
Grécia – Reino Unido	5.1776	0.0000*
Irlanda – Reino Unido	5.7208	0.0000*
Itália – Reino Unido	5.9093	0.0000*
Espanha – Reino Unido	6.4061	0.0000*

**Tabela S2** - Coeficientes de limite do modelo de link cumulativo calculados pelo pacote *clm* no R para dados ordenados dos participantes (número total de fotografias de espécies identificadas corretamente por participante: 1,2,3,4,5 ou 6) e comparados entre as regiões [estimativa de teste = -0,7055, erro padrão: 0,1354, valor  $z = -5,21$ ,  $\Pr(>|z|) = 0,000000189$ ].

Coeficiente de limite	Estimativa	Erro padrão	Valor Z
0 1	-2.0706	0.1292	-16.03
1 2	-0.5674	0.1015	7.102
2 3	0.7376	0.1039	7.102
3 4	1.9084	0.1369	13.94
4 5	2.9458	0.2036	14.47
5 6	4.6687	0.4519	10.331

**Tabela S3** - Teste *HSD post-hoc de Tukey* exibindo diferença média, intervalos de confiança de 95% e valores  $p$  ajustados para comparações pareadas de riqueza de respostas erradas de consumidores entre seis países europeus. O asterisco (\*) indica uma comparação par a par significativa.

Comparação par a par	Diferença entre as médias	Intervalo de confiança inferior	Intervalo de confiança superior	Valor-p ajustado
Grécia – Bélgica	-5.500	-12.275	1.275	0.16556660
Irlanda – Bélgica	5.000	-1.775	11.775	0.24798450
Itália - Bélgica	2.333	-4.441	9.108	0.89772450
Espanha - Bélgica	-4.833	-11.608	1.941	0.28097880
<b>Reino Unido - Bélgica</b>	<b>8.167</b>	<b>1.392</b>	<b>14.941</b>	<b>0.01107001 *</b>

<b>Irlanda – Grécia</b>	<b>10.500</b>	<b>3.725</b>	<b>17.275</b>	<b>0.00068234 *</b>
<b>Itália – Grécia</b>	<b>7.833</b>	<b>1.059</b>	<b>14.608</b>	<b>0.01611558 *</b>
Espanha – Grécia	0.667	-6.108	7.441	0.99964210
<b>Reino Unido - Grécia</b>	<b>13.667</b>	<b>6.892</b>	<b>20.441</b>	<b>0.00001330 *</b>
Itália – Irlanda	-2.667	-9.441	4.108	0.83466790
<b>Espanha - Irlanda</b>	<b>-9.833</b>	<b>-16.608</b>	<b>-3.059</b>	<b>0.00154388 *</b>
Reino Unido – Irlanda	3.167	-3.608	9.941	0.71396190
<b>Espanha - Itália</b>	<b>-7.167</b>	<b>-13.941</b>	<b>-0.392</b>	<b>0.03327665 *</b>
Reino Unido - Itália	5.833	-0.941	12.608	0.12367760
<b>Reino Unido - Espanha</b>	<b>13.000</b>	<b>6.225</b>	<b>19.775</b>	<b>0.00003040 *</b>

**Tabela S4** - Teste *HSD de Tukey post-hoc* exibindo diferença média, 95% de confiança intervalos e valores de *p* ajustados para comparações pareadas de diversidade de respostas erradas (calculado com um índice de diversidade de Shannon) de consumidores entre seis países. O asterisco (\*) indica uma comparação par a par significativa.

Comparação par a par	Diferença entre as médias	Intervalo de confiança inferior	Intervalo de confiança superior	Valor-p ajustado
Grécia – Bélgica	-0.797	-1.746	0.151	0.14010026
Irlanda – Bélgica	0.020	-0.929	0.969	0.99999984
Itália - Bélgica	-0.010	-0.959	0.939	0.99999999
Espanha - Bélgica	-0.631	-1.580	0.318	0.35398819
Reino Unido - Bélgica	0.373	-0.575	1.322	0.83457765

Irlanda – Grécia	0.817	-0.132	1.766	0.12352586
Itália – Grécia	0.787	-0.162	1.736	0.14931113
Espanha – Grécia	0.166	-0.782	1.115	0.99430032
<b>Reino Unido - Grécia</b>	<b>1.171</b>	<b>0.222</b>	<b>2.119</b>	<b>0.00887008 *</b>
Itália – Irlanda	-0.030	-0.979	0.919	0.99999870
Espanha - Irlanda	-0.651	-1.599	0.298	0.32132617
Reino Unido – Irlanda	0.354	-0.595	1.302	0.86332097
Espanha - Itália	-0.621	-1.569	0.328	0.37150037
Reino Unido - Itália	0.384	-0.565	1.332	0.81872116
<b>Reino Unido - Espanha</b>	<b>1.004</b>	<b>0.056</b>	<b>1.953</b>	<b>0.03310421 *</b>

---

## CAPÍTULO 2

### Submetida a revista “*Fisheries Research*”

#### **Padrões comerciais diferenciados e taxas de inspeção combinam-se com o uso de termos guarda-chuva, resultando em probabilidades variáveis de substituição em tubarão, merluza e linguado vendidos no Brasil.**

Falcão, LH\*; Ready JS\*; Araujo, C; Pardinho, B; Guimarães, N; Freitas, L; Mendes, I; Sales, JBL; Carvalho, DC

<sup>1</sup> Universidade Federal do Pará (UFPA), Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Grupo de Investigação Biológica Integrada, CEABIO/ICB, Universidade Federal do Pará, Belém, CEP 66075-750, PA, Brasil.

<sup>2</sup> Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Programa de Pós-graduação em Zoologia de Vertebrados, Laboratório de Genética da Conservação, Rua Dom José Gaspar, 500, 30535-901 Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>3</sup> Programa de Pós-graduação em Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

\*1ºs autores iguais

### RESUMO

A substituição e a rotulagem incorreta dos produtos da pesca são problemas comuns em todo o mundo. Estas normalmente estão associadas a fatores econômicos combinados com a falta de legislação e fiscalização, mas o papel do comércio diferencial entre produtos não tem sido amplamente abordado. Investigamos as taxas de rotulagem incorreta e substituição em três produtos pesqueiros no Brasil (tubarão, merluza e linguado) para os quais os padrões de comercialização variam. Substituições em produtos comercializados internacionalmente (tubarão e merluza) só foram encontradas em produtos não certificados adquiridos em peixarias, indicando vendas oportunistas de produtos perecíveis. Uma taxa mais alta de rotulagem incorreta foi encontrada em linguados comercializados nacionalmente, inclusive em produtos certificados, mas isso foi considerado não-intencional. A semelhança morfológica e a taxonomia relacionada a nomenclatura e aos substitutos dos linguados nestes casos destacam a dificuldade de aplicar legislação específica de táxons que não reflete o uso de termos genéricos em produtos comercializados. Diferença comercial resultante de demandas culturais e aceitação de alimentos em todo o mundo combina com taxas de inspeção variáveis em uma variedade de pontos de venda para criar um ambiente de risco variável para substituição fraudulenta. Produtos congelados dos principais fornecedores certificados no Brasil são geralmente



submetidos a sistemas de alta inspeção com baixa probabilidade de substituição, mas alguns erros de rotulagem são aparentemente não-intencionais. Em contraste, produtos frescos de peixarias locais no Brasil tem um sistema de baixa fiscalização que pode levar a um maior risco de substituição oportunista.

Palavras-chave: Rotas comerciais, Elasmobrânquios, Fraude em Alimentos, Motivação, Oportunismo

## 1. INTRODUÇÃO

O colapso de muitos estoques de peixes comercialmente importantes levou a um foco intenso na identificação de frutos do mar para apoiar o consumidor orientado ao consumo sustentável (Logan et al., 2008; Cawthorn et al., 2013, 2018; Brechón et al., 2016; Mariani et al. al., 2015; Carvalho et al., 2011, 2015, 2017a, 2017b; Hobbs et al., 2019; Guardone et al., 2017; Bernardo et al., 2020; Delpiani, et al., 2020). Muitos países já estabeleceram legislação para prevenir, deter e eliminar a pesca ilegal, não regulamentada e não declarada (internacionalmente conhecida como IUU fishing). No Brasil, a inspeção oficial de pescados é realizada pelo Ministério da Agricultura (MAPA), o qual realiza a identificação tradicional e molecular em produtos pesqueiros comercializados em 14 estados brasileiros (Carvalho et al., 2017a). A legislação nacional brasileira usa um sistema híbrido de termos guarda-chuva, nomes comuns e identificação taxonômica que visa fornecer cobertura de inspeção para as espécies comerciais mais lucrativas que teoricamente estão em maior risco de sobrepesca (Brasil, 2004, 2015, 2020). Devido aos desafios logísticos associados à escala geográfica do país e ao grande número de pescadores artesanais e mercados locais, a inspeção não abrange as vendas da maioria dos mercados locais e vendedores ambulantes. Isso facilita práticas de fraude e rotulagem incorreta em rotas comerciais não industriais e informais (Palmeira et al., 2013, Ferrette et al., 2019, Rodrigues Filho et al., 2020). Adicionalmente a esta problemática, o uso de nomes comum ou vernaculares, torna difícil o controle do que é pescado ou comercializado em regiões com culturas diferentes, o que pode acarretar que uma mesma espécie esteja sendo vendida com nomes distintos em diferentes regiões do país (Rodrigues Filho et al 2009; Brito et al 2015).

O consumo global de produtos da pesca aumentou acima do crescimento da população humana e agora representa mais de 11% do valor total das exportações agrícolas (FAO, 2020). Grande parte desse comércio resulta de questões de oferta e demanda associadas aos poderes comerciais diferenciados, bem como demandas culturais por determinados produtos em

diferentes países (Can et al., 2015). Uma combinação de escassez de recursos, potencial para lucros maiores e legislação fraca também encorajam a rotulagem incorreta (Jacquet e Pauly 2008), mas em alguns casos a substituição de espécies nem sempre é intencional. Isso pode ocorrer pela dificuldade de distinguir as espécies pela semelhança morfológica (Schröder, 2007; Lo e Shaw, 2018; Donlan e Luque, 2019) ou pelo uso de nomes comuns iguais ou semelhantes em várias espécies (Brito et. al., 2015). Este último é mais provável de ocorrer em produtos processados que já não retêm características claras para identificação morfológica (por exemplo, filés). No entanto, mesmo em produtos de alto valor, como o atum, os nomes comuns também podem ser usados para rotular incorretamente os produtos (Vandamme et al., 2016).

Os dados de captura de pesca e os dados de comércio comercial são essenciais para melhorar as ações/leis de gestão e prever os fatores econômicos que podem influenciar a oferta e a demanda por produtos pesqueiros (Fox et al., 2018; Cawthorn et al., 2018, Ehmke et al., 2019). Algumas espécies de peixes são direcionadas para interesses econômicos que resultam de demandas por consistência muscular, sabor ou status social/questões culturais (Can et al., 2015). Por exemplo, a demanda por barbatanas de tubarão usadas para fazer sopa em algumas culturas asiáticas impulsiona muitas pescarias de tubarões em todo o mundo, incluindo exportações significativas de águas brasileiras (Dent e Clarke, 2015; Ferrette et al., 2019), sendo o Brasil o maior exportador de carne de tubarão do mundo (Dent & Clark, 2015), além de curiosamente, ser o maior importador do mesmo produto (Barreto et al 2017; Dulvy et al 2017). A alta demanda internacional pode combinar com baixas taxas de inspeção para favorecer a rotulagem incorreta que ameaça as espécies protegidas (Bornatowski et al., 2013), além de ameaçadas de extinção, incluindo uma variedade de elasmobrânquios e teleosteos os quais foram identificadas em produtos de tubarão em muitos países (Carvalho et al., 2015; Feitosa et al 2018; Almerón-Souza et al., 2018; Ferrito et al. , 2019; Pazartzi et al., 2019; Calegari et al., 2019; Hobbs et al., 2019; Delpiani et al., 2020; Bernardo et al. 2020; Marchetti et al., 2020).

No Brasil, a pesca de tubarão representa um recurso importante, com barbatanas vendidas no exterior e carne vendida localmente. Embora a carne de tubarão seja considerada de baixa qualidade, é uma fonte de proteína barata para muitas pessoas (Gemaque et al., 2017; Feitosa et al. 2018). Por outro lado, produtos como pescada e bacalhau são vendidos como produtos de alto valor no Brasil, pelo menos em parte devido à herança cultural da culinária portuguesa (Maciel et al., 2016). Apenas uma espécie de merluza (*Merluccius hubbsi*, Marini, 1933) ocorre na costa brasileira, não havendo indícios de abundância no litoral (Vaz-dos-Santos e Schwingel, 2015). Grande parte da demanda de

merluza deve, portanto, ser suprida por importações (Vaz-dos-Santos e Schwingel, 2015). Em comparação, os peixes chatos são representados por muitas espécies, mas apenas dois gêneros da família Paralichthyidae (*Syacium* spp. e *Paralichthys* spp.) podem ser comercializados como “linguado” (Brasil, 2015, 2020). O comércio de alguns produtos pesqueiros, como o linguado, também pode ser reduzido devido a alterações na qualidade dos tecidos durante o congelamento para transporte de longa distância (Massa et al., 2005), ou mesmo porque a filetagem automatizada dessas espécies morfológicamente distintas requer tecnologias diferentes (Hjorth, 1996) que muitas vezes não compensa o alto investimento financeiro quando se considera a relação de preços de venda em mercados locais e distantes.

Tubarões, merluzas e linguados são importantes produtos pesqueiros e facilmente encontrados no comércio online, supermercados e peixarias no Brasil. Portanto, o objetivo do presente estudo foi, através da utilização de um fragmento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI) do DNA barcode, realizar a identificação molecular de produtos pescado comercializados como “cação” (tubarão), “merluza” e “linguado” de supermercados, peixarias e comércio online no sudeste do Brasil. Esses resultados foram então avaliados juntamente com dados de comércio e pesca com o objetivo de determinar (1) se os nomes comuns genéricos mascaram erros de rotulagem e (2) se a taxa de rotulagem varia com base nos três diferentes tipos de comércio representados por essas espécies e como a substituição também podem ser afetadas por taxas de inspeção e forças de mercado de oferta e demanda.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Coleta de amostras**

Um total de 191 amostras de produtos comercializados como “cação” (N=66), “merluza” (N= 49) e “linguado” (N=76) foram adquiridos em supermercados, peixarias/vendedores ambulantes e comércio online em Minas Gerais, sudeste do Brasil entre 2014 e 2019 (Anexo – Tabela suplementar). De cada um dos produtos, pequenos pedaços de tecido foram coletados e preservados em etanol absoluto (100%). Algumas informações sobre cada amostra foram registradas para posterior análise como: preço total (R\$), peso (kg), marca, nome do fornecedor (nome da loja ou peixaria), formato do produto (filé, fatias, inteiro etc.) e se havia ou não o carimbo do Serviço de Inspeção Federal (SIF).

## 2.2. Extração de DNA, amplificação e sequenciamento de fragmentos de genes COI

O DNA foi extraído usando um protocolo modificado de *salting-out* (Aljanabi & Martinez, 1997). Sequências parciais do gene COI (Citocromo Oxidase subunidade 1) de aproximadamente 650 pares de bases foram obtidas por amplificação de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) usando os primers FishF1 e FishR1 (Ward et al., 2005). As misturas de reação de PCR consistiram em 1,0 µl de tampão de reação de polimerase de DNA GoTaq 5x (Promega, Madison EUA), 0,2 µl de dNTP misto (40 mM, Promega, Madison EUA), 0,3 µl de MgCl<sub>2</sub> (Promega, Madison EUA), 0,2 µl de cada primer (10 µM, Integrated DNA Technologies - IDT), 0,1 µl de GoTaq polimerase (Promega, Madison USA), 7,0 µl de água ultrapura e 1,0 µl de DNA genômico. As condições de PCR compreenderam uma etapa inicial de 2 min a 95°C seguido por 35 ciclos de 30s a 95°C, 30s a 54°C e 60s a 72°C, e uma etapa final de 10min a 72°C. Os produtos de PCR foram visualizados usando um gel de agarose a 1% para verificar a amplificação. O sequenciamento de DNA foi então conduzido em ambas as direções usando primers FishF1 ou FishR1 e BigDye Kit v3.1 (Life Technologies). As sequências foram obtidas usando um sequenciador de DNA automatizado (ABI3130, Life Technologies).

## 2.3 Análise de Dados Moleculares

As sequências de DNA foram editadas usando SeqScape® v2.7 (Applied Biosystems, Foster City, CA) e MEGA X (Kumar et al., 2018). As sequências de consenso foram comparadas com dados existentes no BOLD (<http://www.boldsystems.org/>) e GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) como método de identificação de amostras usando a ferramenta de identificação BOLD e a ferramenta BLAST disponível online no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), respectivamente (Tabela suplementar B). As principais correspondências de espécies obtidas foram registradas usando um limite de 99%. Os nomes científicos foram associados aos nomes de mercado correspondentes seguindo a lista oficial de regulamentação governamental de espécies no Brasil (Brasil, 2015). Outros nomes vernaculares derivados de FishBase (Froese & Pauly, 2020) foram usados quando os nomes científicos das espécies não foram encontrados na lista oficial do governo. Como as sequências de DNA não foram recuperadas de amostras vinculadas a vouchers e foram usadas apenas para atribuir identidade, elas não foram depositadas no GenBank ou BOLD. Dendrogramas de Neighbor-Joining baseados em distâncias genéticas TN93 foram gerados no MEGA X (Material Suplementar – B, Figuras S1, S2 e S3).

## 2.4 Importação/Exportação dados

Os dados brasileiros de exportação e importação (quantidade e valor) para todos os três grupos taxonômicos (incluindo barbatanas de tubarão) foram obtidos do Comex Stat do Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços (MDIC) para os anos de 2008 a 2017 usando os seguintes parâmetros para cada ano: Capítulo - SH 2 dígitos: 03 - Peixes e crustáceos, moluscos e outros invertebrados aquáticos, com as informações divididas por país e 8 dígitos da Nomenclatura Comum do Mercosul como código da mercadoria. Essa busca gerou um arquivo Excel para cada ano com centenas de tipos de produtos de pescado, incluindo animais vivos. A partir desses dados brutos, o código da mercadoria, valor anual, quantidade e destino ou origem dos produtos de tubarão, merluza e linguado foram filtrados usando toda a gama de nomes comuns (conforme descrito acima) aplicados a esses produtos. Os dados filtrados foram exportados para análises exploratórias subsequentes comparando valores e quantidades de exportação e importação dentro de cada produto e ao longo dos anos.

## 2.5 Análise estatística

Foram utilizadas as variáveis “Rótulo” (nome do produto), “Certificado” (selo de certificação) e “Mislabeled” (espécie substituída) e os valores foram padronizados para que comparações poderiam ser feitos com base no componente de "variação". Após isso uma regressão múltipla foi utilizada usando as variáveis “Name” (Nome da espécie), “Certified” e “Mislabeled”. Inserindo nessa ordem a partir da predição inicial de maior para menor fonte de variação. Com este modelo os resíduos foram checados tanto numericamente quanto visualmente, demonstrando se estiveram de acordo com o esperado para uma distribuição normal. Confirmado uma distribuição normal foi possível analisar a variância usando uma ANOVA para verificar o sumário e tirar conclusões sobre as contribuições dos fatores em relação a probabilidade de fraude. Isso é feito avaliando os coeficientes para saber se os valores amostrados em cada categoria são confiáveis. Verificamos se o valor da variável preço varia de forma diferente em cada categoria de variável (por exemplo, se “certificado” e “não certificado” variam de forma distinta).

## ***2.6 Disponibilidade de carne de tubarão a partir de razões de peso de barbatanas/indivíduos de dados de exportação e estatísticas de pesca***

Como os tubarões são exportados como carne e barbatanas, calculamos as estimativas de massa máxima e mínima de carne de tubarão restante no mercado nacional com base na proporção de peso de barbatana em relação ao peso do indivíduo inteiro. Considera-se que o

peso da barbatana (úmida) representa 14,72% (Mejuto e García-Cortés 2004), ou entre 15,97% (com pele) e 19,2% (sem pele) do peso corporal total (Espino et al., 2010). A razão entre o peso da nadadeira seca e o peso da nadadeira úmida em tubarões varia entre 39,5%  $\pm$ 0,7 e 54% dependendo da espécie (Tabela 4 em Rose et al., 2003). Portanto, derivamos uma razão de peso mínimo de barbatanas seca para peso do indivíduo de 5,81% ( $14,72 \times 0,395$ ). O fator de conversão para estimar o peso máximo de carne de tubarão restante para um determinado peso de barbatanas exportadas é calculado com base no peso da barbatana seca e, portanto, foi 17,21 ( $100/5,81$ ). Da mesma forma, o fator de conversão para estimar o peso mínimo de carne de tubarão restante para um determinado valor de barbatanas exportadas é calculado com base na relação peso máximo de barbatana úmida em relação ao peso corporal total e, portanto, foi de 5,21 ( $100/19,2$ ). O peso das exportações de carne de tubarão foi então deduzido dessas estimativas para fornecer os valores teóricos mínimos e máximos para a carne de tubarão que permanece no mercado brasileiro para consumo a cada ano com base nas barbatanas exportadas naquele ano. Para comparar o peso da carne importada e exportada com a biomassa obtida da pesca, foram obtidas estatísticas de relatórios nacionais abrangendo todos os anos com dados disponíveis (Relatórios Anuais de Pesca - Brasil, 2010, 2012).

### **3. RESULTADOS**

Apesar das taxas gerais de substituição serem baixas (17/191 ou 8,9%), a identificação molecular detectou casos claros de fraude por substituição em produtos não certificados pelo SIF vendidos por peixarias (Tabela 1). Estes incluíram 41,6% (5/12) de amostras de merluza e 2,56% (1/39) de amostras de tubarões (Tabela 1), e ambos foram substituídos por bagres de água doce. A rotulagem incorreta foi encontrada apenas em amostras de linguado (de todas as fontes), mas foi considerada como resultado de erro de identificação e não de substituição intencional devido à semelhança morfológica das espécies identificadas (outros peixes chatos).

**Tabela 1** - Resumo de amostras de produtos da pesca vendidos como tubarões, merluza ou peixes chatos no sudeste do Brasil com identificação testada usando código de barras de DNA. Número de amostras rotuladas incorretamente indicadas entre parênteses.

<b>Rótulo</b>	<b>Amostra</b>	<b>Supermercado</b>	<b>Peixaria</b>	<b>Comércio online</b>	<b>Espécies identificadas</b>
Cação	66 (1)	27	39 (1)	0	4
Merluza	49 (5)	37	12 (5)	0	4
Linguado	76 (11)	46 (6)	8 (3)	22 (2)	3
<b>Total</b>	<b>191 (17)</b>	<b>110 (6)</b>	<b>59 (9)</b>	<b>22 (2)</b>	<b>11</b>

Das 66 amostras de tubarões analisadas, 63 foram identificadas como *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) (tubarão-azul), uma identificada como *Carcharhinus leucas* (Muller e Henle, 1839) (tubarão-touro), uma como *Carcharhinus acronotus* (Poey, 1860) (cação-lombo-preto em português) e uma como *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) (piramutaba) (Anexo – Tabela suplementar). Quase todos os produtos foram rotulados apenas com o nome “cação”, mas seis das marcas indicaram o nome específico *P. glauca* em suas embalagens, e todas as 16 amostras dessas marcas foram identificadas por DNA *barcode* como pertencentes a esta espécie. O preço por quilo dos produtos de tubarão analisados variou de R\$ 11,27 a R\$ 53,89 (Material Suplementar – B, Tabela S1) com custo maior para alguns produtos de supermercado e para a amostra de uma peixaria que era um tubarão-touro e não um tubarão-azul. A amostra CA\_AM63 (identificada como *Brachyplatystoma vaillantii*) vendida a R\$ 17,00 o quilo como “cação”, se compara razoavelmente em valor ao produto real vendido (piramutaba) que variou entre R\$ 10 e R\$ 25 o quilo em 2014 (preços mínimos e máximos de buscas online de dados do atacadista para o período de amostragem relevante, com preços mais baixos no norte do Brasil e preços mais altos no sul do Brasil).

Das 49 amostras de merluzas analisadas, 27 foram identificadas como a merluza argentina *Merluccius hubbsi* Marini, 1933, 12 como a merluza do Pacífico Norte *Merluccius productus*, cinco como a merluza do Pacífico Sul *Merluccius gayi* e cinco como o bagre de água doce *Hypophthalmus marginatus* Valenciennes, 1840 (mapará) (Material Suplementar – B, Tabela S1). Merluzas de diferentes regiões foram encontradas misturadas em uma embalagem de supermercado (ambas da Argentina e do Pacífico Norte na embalagem 5). Todos os cinco produtos com rótulos errados foram obtidos de uma peixaria (sem embalagem, rótulo ou certificação SIF), e equivalem a 41,6% (5/12) das amostras da peixaria e pouco mais de 10%

(5/49) de todas as amostras de merluza. O preço por quilo dos produtos de merluza analisados variou de R\$8,90 a R\$25,50, sendo os produtos substituídos vendidos a R\$14,90 o quilo (Material Suplementar – B, Tabela S1). O peixe vendido como “mapará” na época custava entre R\$10 e R\$20 o quilo (preços pagos pelas amostras na mesma época, mas não utilizados neste estudo).

Das 76 amostras de linguado analisadas, 34 foram identificadas como o linguado da Patagônia *Paralichthys patagonicus* (Jordan 1889), 31 como *Paralichthys isosceles* e 11 como *Xystreureys rasile* (Jordan, 1891). Todas as embalagens foram identificadas apenas com o termo guarda-chuva “linguado”. *Xystreureys rasile* não está na lista oficial de espécies autorizadas a serem vendidas como “linguado” no Brasil (Brasil, 2015, 2020). Estas Instruções Normativas apenas permitem que espécies dos gêneros *Paralichthys* (Girard, 1858) e *Syacium* (Ranzani, 1842) sejam comercializadas sob o rótulo “linguado”. No entanto, *X. rasile* também é um membro da família da Paralichthyidae, Ordem Pleuronectiformes e consideramos que essa rotulagem incorreta representa tanto uma incapacidade de distinguir esses táxons quanto uma falta de consciência das limitações do termo guarda-chuva “linguado” em termos legislativos, em vez de um exemplo de substituição intencional. Essa rotulagem incorreta também foi encontrada em todas as fontes de amostras, embora a taxa de rotulagem incorreta tenha sido mais alta em amostras de peixarias (3/8 ou 37,5%, comparado a 6/45 ou 13,3% em amostras de supermercado e 2/21 ou 9,5% em amostras de comércio online). Várias espécies diferentes estavam agrupadas em embalagens únicas. As embalagens 1, 15 e 16 dos supermercados continham misturas de *P. isósceles* e *X. rasile*, enquanto as embalagens 7 e 10 continham filés das três espécies (Material Suplementar – B, Tabela S1). Produtos com rótulos errados (ou embalagens que os contenham) foram geralmente vendidos na mesma faixa de preço por quilo das outras amostras vendidas como “linguado”.

Na análise estatística, as variáveis “Name”, “Certified” e “Mislabelled” tiveram um valor significativo ou muito próximo do significativo e apresentaram distribuição de resíduos normais no modelo, indicando que uma interpretação confiável da ANOVA estava possível (Tabela 2). As três variáveis geraram valores significativos no ANOVA indicando que todos influenciam a probabilidade de fraude (Tabela 3). Portanto, a “Mislabelled” gerou um valor mais significativo do que a “Certificado”, indicando que a variação no valor do produto é mais forte se ele está sendo mal rotulado comparado com o bem rotulado do que entre produtos certificados ou não não-certificados.



**Tabela 2** – Coeficientes indicando valores significativos. Onde “*NameLP*” e “*NameME*” são as categorias referentes aos nomes utilizados no comércio de linguado e merluza, respectivamente. “*Certified*” é a categoria de produtos certificados, “*Mislabeledno*” refere-se aos produtos corretamente identificados e “*Milasbeledopp*” são os produtos fraudados de forma oportunista.

	Estimated	Std. Error	t value	Pr (> t )
<b>(Intercept)</b>	12,110	2,969	4,079	6,71e-05
<b>NameLI</b>	13,348	1,493	8,937	4,03e-16
<b>NameME</b>	-3,507	1,707	-2,054	0,041342
<b>Certified1</b>	2,237	1,331	1,681	0,094467
<b>Mislabeledno</b>	9,353	2,744	3,409	0,000801
<b>Mislabeledopp</b>	6,063	4,615	1,314	0,190565

**Tabela 3** – ANOVA com valores significativos para as três variáveis.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
<b>Name</b>	2	8931,7	4465,8	63,1229	<2,2e-16
<b>Certified</b>	1	314,5	314,5	4,4452	0,036346
<b>Mislabeled</b>	2	873,1	436,6	6,1707	0,002545
<b>Residuals</b>	185	13088,4	70,7		

Os dados de exportação e importação de produtos de tubarão, merluza e linguado entre 2008 e 2017 fornecem uma visão geral da oferta e demanda (Tabela 4 e 5). Todos os produtos estão agrupados em códigos generalizados de produtos da pesca (por exemplo, “carne de tubarão” ou “peixe chato”) que não permitem análises ao nível das espécies. Geralmente, as importações excedem em muito as exportações, mas para produtos específicos há alguma variação. Isso fica claro para os tubarões onde há um excesso líquido de exportação de barbatanas de tubarão e um excesso líquido de importação de carne de tubarão (Tabelas 4, 5 e 6). Há uma clara mudança nos parceiros comerciais de países que falam espanhol e português para Taiwan para importações de tubarões (predominantemente carne) de 2012 a 2013, mas as exportações de tubarões (predominantemente barbatanas) sempre foram para o Extremo Oriente.

Os produtos da merluza são importados em grandes quantidades, mas há pouca exportação, e os linguados não são importados nem exportados em grandes quantidades. Em muitos casos, as exportações de linguado e merluzas mostraram o envio posterior de espécies de peixes não nativas que devem ter vindo de importações anteriores, por exemplo, dados de

2011 indicavam a exportação de alabote de águas frias do norte (*Reinhardtius hippoglossoides* (Walbaum, 1792), *Hippoglossus hippoglossus* (Linnaeus, 1758), *Hippoglossus stenolepis* (Schmidt, 1904) para Cingapura.

**Tabela 4** - Valor, peso e principal origem das importações brasileiras de produtos de tubarão, merluza e linguado entre 2008 e 2017.

Ano	Tubarão			Merluza			Linguado		
	1000s de US\$	Toneladas	Origem	1000s de US\$	Toneladas	Origem	1000s de US\$	Toneladas	Origem
<b>2008</b>	33.495,5	17.856,6	Portugal	698,7	459,3	Chile	238,9	110,5	Portugal
<b>2009</b>	37.938,0	21.230,5	Chile	1.328,8	1.123,3	Singapura	240,1	103,3	Noruega
<b>2010</b>	40.594,0	18.605,3	Uruguai	3.055,9	2.170,5	Argentina	126,2	83,4	Uruguai
<b>2011</b>	44.151,4	19.373,9	Uruguai	3.735,5	2.086,3	Argentina	13,0	6,6	Uruguai
<b>2012</b>	36.818,5	21.315,4	Uruguai	186.128,5	76.449,9	China	83,8	30,0	China
<b>2013</b>	41.085,0	19.384,1	Taiwan	209.596,8	92.728,9	China	250,9	116,5	China
<b>2014</b>	45.254,0	17.412,6	Taiwan	177.037,4	69.919,4	China	211,2	104,0	China
<b>2015</b>	26.801,8	12.813,0	Taiwan	154.986,7	60.427,0	China	6.191,5	2.915,8	China
<b>2016</b>	24.836,3	15.939,9	Taiwan	107.804,7	45.530,4	China	2.391,7	1.268,9	China
<b>2017</b>	28.938,3	17.221,0	Taiwan	150.998,9	55.854,8	Argentina	1.082,6	354,3	China

**Tabela 5** - Valor, peso e principal destino das exportações brasileiras de produtos de tubarão, merluza e linguado entre 2008 e 2017

Ano	Tubarão				Merluza			Linguado		
	1000s de US\$	Tonelada	Produtos	Destino principal	1000s de US\$	Tonelada	Destino principal	1000s de US\$	Tonelada	Destino Principal
2008	2.825,5	112,5	Barbatanas	Hong Kong	420,2	137,4	Bélgica	2,7	1,5	Portugal
2009	2.338,1	85,4	Barbatanas	Hong Kong	34,5	10,9	Reino Unido	-	-	-
2010	1.431,4	51,0	Barbatanas	Hong Kong	-	-	-	-	-	-
2011	2.108,7	58,7	Barbatanas	Hong Kong	0,5	0,1	Paraguai	1,6	26,0	Singapura
2012	1.789,2	43,9	Barbatanas e carne	Hong Kong	1,3	0,2	Paraguai	-	-	-
2013	1.293,5	31,2	Barbatanas	Hong Kong	12,4	1,3	Guiné Equat.	-	-	-
2014	978,3	27,7	Barbatanas	China	7,1	1,5	Angola	-	-	-
2015	812,6	27,5	Barbatanas	Hong Kong	-	-	-	-	-	-
2016	810,7	34,5	Barbatanas e carne	Hong Kong	68,6	29,7	China	-	-	-
2017	1.063,4	44,1	Barbatanas e carne	Hong Kong	50,2	21,1	China	4,8	1,9	Coreia do sul

**Tabela 6** - Valor, peso e preço médio dos produtos de tubarão (carne e barbatanas) exportados do Brasil entre 2008 e 2017

Ano	Carne de tubarão			Barbatana de tubarão		
	U\$\$	Kg	Média preço/kg	U\$\$	Kg	Média preço/kg
2008	-	-	-	2.825.451,00	112.505,00	25,11
2009	-	-	-	2.338.059,00	85.382,00	27,38
2010	-	-	-	1.431.446,00	50.957,00	28,09
2011	-	-	-	2.108.735,00	58.740,00	35,90
2012	12.678,00	4.580,00	2,77	1.776.538,00	39.355,00	45,14
2013	-	-	-	1.293.518,00	31.191,00	41,47
2014	-	-	-	978.308,00	27.741,00	35,27
2015	-	-	-	812.554,00	27.542,00	29,50
2016	18.114,00	10.426,00	1,74	792.584,00	24.105,00	32,88
2017	26.100,00	12.617,00	2,07	1.037.341,00	31.474,00	32,96
<b>Total/Média</b>	56.892,00	27.623,00	2,06	15.394.534,00	488.992,00	31,48

A análise de discrepâncias em massa para os dados de exportação de barbatanas de tubarão e corpo (carne) de 2008 a 2017 estima um excesso mínimo de ~115 toneladas de carne de tubarão em 2016. Além disso, uma vez que os volumes de exportação de barbatanas de tubarão estabilizaram em 2012 entre 155 e 520 toneladas de excesso de carne de tubarão está disponível anualmente no mercado interno (Tabela 7). As estatísticas da pesca brasileira indicam capturas anuais que variam de 9.147,5 toneladas para um “número de espécies de tubarões” em 2000 a 11.750 toneladas para “tubarões e tubarões azuis” em 2011 (Brasil 2010, 2012), e infelizmente os dados não estão disponíveis após 2011. Em combinação, esses valores indicam que um grande volume de carne de tubarão está potencialmente disponível para o mercado consumidor durante este estudo, cuja disponibilidade pode influenciar as decisões tomadas pelos varejistas na rotulagem de seus produtos.

**Tabela 7** - Análise da permanência da carne de tubarão no mercado consumidor brasileiro entre 2008 e 2017 com base nos pesos comerciais registrados de barbatanas e carnes exportadas e usando fatores de conversão mínimo e máximo entre o peso da barbatana e do indivíduo (ver métodos)

<b>Ano</b>	<b>Exportação Brasileira de Barbatanas (kg)</b>	<b>Sobra mínima de carne de tubarão (kg) baseado no fator de conversão de 5.21</b>	<b>Sobra máxima de carne de tubarão (kg) baseado no fator de conversão de 17.21</b>	<b>Exportação Brasileira de carne de tubarão (kg)</b>	<b>Excesso mínimo de carne de tubarão (kg) no mercado interno.</b>	<b>Excesso máximo de carne de tubarão (kg) no mercado interno.</b>
2008	112.505,00	586.151,05	1.936.211,05	0,00	586.151,05	1.936.211,05
2009	85.382,00	444.840,22	1.469.424,22	0,00	444.840,22	1.469.424,22
2010	50.957,00	265.485,97	876.969,97	0,00	265.485,97	876.969,97
2011	58.740,00	306.035,40	1.010.915,40	0,00	306.035,40	1.010.915,40
2012	39.355,00	205.039,55	677.299,55	4.580,00	200.459,55	672.719,55
2013	31.191,00	162.505,11	536.797,11	0,00	162.505,11	536.797,11
2014	27.741,00	144.530,61	477.422,61	0,00	144.530,61	477.422,61
2015	27.542,00	143.493,82	473.997,82	0,00	143.493,82	473.997,82
2016	24.105,00	125.587,05	414.847,05	10.426,00	115.161,05	404.421,05
2017	31.474,00	163.979,54	541.667,54	0,00	163.979,54	541.667,54

<b>Mean</b>	<b>30.234,67</b>	<b>157.522,61</b>	<b>520.338,61</b>	<b>2.501,00</b>	<b>155.021,61</b>	<b>517.837,61</b>
<b>2012-2017</b>						
<b>*</b>						
<b>S.D. 2012-</b>	<b>5.228,24</b>	<b>27.239,15</b>	<b>89.978,07</b>	<b>4.292,97</b>	<b>28.399,54</b>	<b>90.922,34</b>
<b>2017 *</b>						

---

\* valores de 2012-2017 foram utilizados por estarem mais estáveis que os valores altos dos anos anteriores.



#### 4. DISCUSSÃO

Este estudo teve como alvo três grupos principais de produtos da pesca para investigar como a substituição pode ser afetada pelas taxas de inspeção e pelas forças do mercado. A taxa de substituição encontrada no presente estudo (8,9% geral e 0% em produtos certificados SIF ao descontar rotulagem acidental em peixes chatos) é menor do que a encontrada na maioria dos trabalhos anteriores (Carvalho et al., 2011; Staffen et al., 2017; Souza et al., 2021), mas segue a tendência encontrada pelo governo brasileiro no monitoramento de produtos certificados com selo SIF nos últimos anos. O Ministério da Agricultura Agropecuária e Abastecimento (MAPA) passou a verificar a rotulagem incorreta de produtos certificados pelo SIF comprados em 2014, quando foi constatada rotulagem incorreta em 23% dos produtos (DIPOA, 2015). Em 2016, isso havia reduzido para aproximadamente 16% (DIPOA, 2016) e depois 3% em 2017 (DIPOA, 2018), mas depois aumentou novamente em 2018 para 13% (DIPOA, 2019). A maioria de nossas amostras foram obtida em 2016, após o período de intensificação da fiscalização na região sudeste (Carvalho et al., 2015). Isso mostra que a inspeção tem um efeito na redução da rotulagem incorreta em fontes certificadas. No entanto, a inspeção nos mercados locais continua sendo um problema devido à natureza distribuída desses mercados e à predominância de produtos frescos não certificados para venda. Esses são os principais locais onde a substituição foi identificada, tanto no presente estudo (41,6% em produtos de merluza e 37,5% em produtos de linguado) quanto em estudos anteriores no Brasil (Almerón-Souza et al., 2018; Carvalho et al., 2017a) e de forma global (Cawthorn et al., 2012; Marchetti et al., 2020).

Estrella et al (2016), identificaram que 62% de pescado comercializado como garoupas na verdade correspondiam a espécies de tubarões sendo a frequência dessas substituições encontradas foi maior em peixarias e mercados informais do que em supermercados e restaurantes em São Paulo, sendo estes estabelecimentos também mais propícios a comercialização de espécies protegidas por lei (Palmeira et al., 2013; Bernardo et al., 2020). Estes resultados demonstram o porquê nos modelos estatísticos todos os fatores “Name”, “Certified” e “Mislabelled” influenciam no preço do produto, pois cada fator age de forma distinta dependendo do mercado onde os produtos estão sendo vendidos (diferença entre pontos de venda mais ou menos fiscalizadas e com regras distintas entre produtos de grupos taxonômicos distintos).

Estima-se que a substituição seja regida pelo oportunismo no contexto do ambiente de venda (Estrella et al., 2016) e não apenas pelas diferenças de preços (Donlan e Luque, 2019).

O ambiente de venda inclui tanto fatores de risco para quem tenta a substituição quanto fatores econômicos que controlam o mercado. Tanto a legislação (uso de termos guarda-chuva vs. rotulagem específica da espécie) quanto a frequência e abrangência da fiscalização determinam o risco de realizar a substituição no ambiente de venda. Economicamente, a oferta, a demanda e a transportabilidade regulam as espécies disponíveis a preços determinados, sendo a gestão temporal do estoque de produtos mais manejável para produtos processados congelados do que para produtos frescos. Essa análise de probabilidade de substituição depende do contexto, o que justificaria os resultados obtidos em nossas análises.

A substituição do tubarão e da merluza pelos bagres de água doce (*B. vaillantii* e *H. marginatus* respectivamente) parece ser resultado de oportunismo, uma vez que as espécies substituídas têm preços semelhantes ou superiores, pelo que nenhum lucro direto é obtido ou limitado no item. A substituição de produtos por produtos com preços semelhantes ou mais caros pode ser uma prática oportunista comum para os comerciantes de pescado em feiras. Seus produtos são principalmente perecíveis (peixe fresco) que, ao contrário dos filés congelados, devem ser vendidos o mais rápido possível para minimizar as perdas econômicas. Em comparação, os produtos certificados pelo SIF são normalmente congelados e podem ser vendidos por mais tempo, de modo que a porcentagem de perda em mercadorias não vendidas é minimizada por práticas de gerenciamento de loja que equilibram oferta e demanda. Isso também pode explicar por que o bagre foi utilizado como substituto em vez de peixes marinhos com carne e/ou sabor de qualidade semelhante. Para um consumidor, o tamanho, a forma e a cor desses produtos podem ser mais semelhantes às suas expectativas para o produto do que qualquer uma das espécies marinhas disponíveis no estoque da peixaria.

A legislação brasileira não exige o uso de nomes de espécies nas embalagens. Termos guarda-chuva como “cação”, “merluza” e “linguado” são usados (Brasil, 2020), e várias espécies foram comercializadas sob cada um desses três termos guarda-chuva. No entanto, algumas marcas dos produtos adquiridos nomearam as espécies de tubarão em suas embalagens e a análise molecular dessas amostras confirmou que os rótulos estavam corretos. A falta de identificação adequada nas embalagens impede que os consumidores façam escolhas importantes para a sustentabilidade e a saúde humana (Jacquet e Pauly, 2008; Vitale et al., 2020), especialmente para os principais predadores, como tubarões, que podem acumular metais pesados e outras substâncias tóxicas. Lopes et al., 2019; Pancaldi et al., 2019). O mercúrio foi encontrado em concentrações acima do permitido na carne de tubarão azul do

Atlântico Sul (Carvalho et al., 2014), sendo esta espécie a predominante identificada em nossas amostras de cação.

Embora estudos anteriores já tenham apontados taxas de substituições em espécies de linguados no Brasil (Carvalho et al., 2015; Carvalho et al., 2017a; Staffen et al., 2017), as substituições indicadas nos resultados do presente estudo podem ser interpretadas como não intencionais. A adoção de termos abrangentes para fins legislativos deve considerar o uso comum do próprio termo e a probabilidade de sua aplicação errônea. É claro que muitos peixes chatos de várias famílias da Ordem Pleuronectiformes são comumente identificados sob o termo “linguado” nas regiões sudeste e sul do Brasil, havendo para outras regiões como nordeste e principalmente o norte nomes vernaculares diferentes (solha). Desta forma, idealmente deve haver restrição do uso do termo apenas a dois gêneros de uma determinada família como na Instrução Normativa nº 53 (Brasil, 2020) resulte na falta de aplicação consistente por parte dos pescadores, bem como dos centros de processamento e distribuição de pescado, e resultará na rotulagem errada de alguns produtos para fins de consumo.

O comércio internacional é atualmente um dos principais impulsionadores que determinam o valor dos produtos (Garcia e Rosenberg, 2010; Purcell et al., 2017) e é uma consideração importante no desenvolvimento da pesca sustentável (Potts e Haward, 2007; Stephenson et al., 2019). O preço, por sua vez, é um fator determinante da probabilidade de substituição (EFSA, 2012; USP, 2016, pp. 1586–1621). Existem claras diferenças no comércio dos três grupos taxonômicos aqui estudados com variação no saldo de importações e exportações e diferenças distintas para o comércio dos diferentes produtos de tubarão (barbatanas vs. carne). As demandas culturais são conhecidas como a causa de algumas dessas diferenças (Can et al., 2015; Maciel et al., 2016) e a capacidade de processamento e transportabilidade dos produtos também podem impactar seu comércio (Hjorth, 1996; Massa et al., 2005). Mas a forma como esses fatores atuam como motores de substituição também varia de acordo com os produtos pesqueiros colhidos por um determinado país e o papel desse país dentro da rede comercial. Aqui mostramos que para os tubarões o excesso de carne gerado pela pesca e a exportação de barbatanas para o oriente (Tabela 7) ainda não é suficiente para satisfazer a demanda por proteína barata e que a carne de tubarão ainda é importada em grandes quantidades (Tabela 4).

A merluza também é importada para o Brasil para consumo (Tabela 4). Tanto para os produtos de merluza como de tubarão, a cadeia retalhista de produtos certificados pode assim adaptar-se facilmente para vender apenas produtos legais, com substituições a ocorrer nos

pontos de venda onde a inspeção é menos arriscada. Em comparação, o comércio internacional de linguado é mínimo (Tabela 4 e 5) e os fatores de oferta e demanda locais tornam-se dominantes na determinação dos preços de venda. Quando os problemas associados ao uso de termos guarda-chuva e a semelhança morfológica dos peixes chatos também são considerados, espera-se uma maior probabilidade de substituição e rotulagem incorreta desses produtos.

Embora não tenham sido detectadas substituições nos produtos de tubarão certificados vendidos em supermercados por espécies protegidas no presente estudo, as espécies de tubarões aqui identificadas estão classificadas como “Ameaçada” (*C. acronotus*), “Vulnerável” (*C. leucas*), e “Quase Ameaçada” (*P. glauca*) (Rigby et al., 2019; Rigby et al., 2021; Carlson et al., 2021). O papel dos mercados informais na venda de carne de tubarão significa que existem muitos pontos de venda distribuídos para produtos ilegais. Assim, as estratégias de conservação devem considerar que a fiscalização dificilmente será viável em tal situação.

Os elasmobrânquios representam menos de 1% de todas as pescarias marinhas em todo o mundo (FAO, 2014, 2016), mas essas espécies têm características biológicas, incluindo crescimento lento, maturação sexual tardia e produção reprodutiva limitada, que as tornam particularmente propensas à pesca excessiva (Bornatowski et al., 2014) e muitas espécies sofreram declínios populacionais severos nos últimos 20 anos (Stevens et al., 2000). Nossos resultados mostram a comercialização predominante do tubarão azul no Brasil, conforme documentado anteriormente (Staffen et al., 2017; Bernardo et al., 2020). Essa espécie, apesar de estar classificada como “Quase Ameaçada” (NT) pela IUCN (International Union for Conservation of Nature) (Rigby et al., 2019), é o tubarão mais comum capturado pela pesca com espinhel em todo o mundo (Compagno et al., 2005), representando aproximadamente 56% dos tubarões pelágicos capturados comercialmente (Camhi et al., 2009). Por serem espécies oceânicas pelágicas, não são capturadas com frequência por pescadores artesanais e muitas vezes são desembarcadas no Brasil por empresas multinacionais que pescam em águas internacionais que exportam produtos de alto valor e vendem a carne restante (Bornatowski et al., 2015; Barreto et al., 2017; Bernardo et al., 2020). Espécies protegidas podem acabar tendo suas barbatanas exportadas (Hobbs et al., 2019; Fields et al., 2020) e sua carne pode eventualmente ser vendida em estabelecimentos menos fiscalizados. A fiscalização das barbatanas de tubarão exportadas é um ponto de controle viável e importante para a conservação dos elasmobrânquios, principalmente considerando o volume de exportações desses produtos do Brasil (Barbosa-Filho, Costa-Neto e Siciliano 2017).

No geral, essa análise da probabilidade de substituição dependente de contexto mostra que os produtos congelados dos principais fornecedores certificados no Brasil que geralmente são sistemas de alta inspeção têm uma baixa probabilidade de substituição, mas alguns erros de rotulagem aparentemente não intencionais. Em contraste, produtos frescos de peixarias locais no Brasil são sistemas de baixa fiscalização e maior risco de substituição oportunista.

### **Financiamento**

Este trabalho foi apoiado por projetos concedidos ao DCC pelo FIP-PUC Minas e FAPEMIG, e em parte pelo CNPq por meio do Edital MCTI/MPA/CNPq N° 22/2015 – Ordenamento da Pesca Marinha Brasileira (445809/2015-9), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) tanto por meio do Edital N° 23/2017 CAPES-SIU/CAPES-UTFORSK 88887.153852/2017-00) quanto pelo – Código de Finanças 001, por meio de bolsa para LHOFF por orientação do JSR como parte do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca (PPGEAP) e por meio de bolsas para CA, BP, NG e LF por orientação do DCC como parte do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados (PPGBV).

## **5. REFERÊNCIAS**

- Aljanabi, S.M.M., Martinez, I., 1997. Universal and rapid salt-extraction of high-quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res.* 25(22), 4692-4693. doi:10.1093/nar/25.22.4692
- Almerón-Souza, F., Sperb, C., Castilho, C.L., Figueiredo, P.I.C.C., Gonçalves, L.T., Machado R., Oliveira, L.R., Valiati, V.H., Fagundes, N.J.R., 2018. Molecular Identification of Shark Meat from Local Markets in Southern Brazil Based on DNA Barcoding: Evidence for Mislabeling and Trade of Endangered Species. *Frontiers in Genetics*, 9 (138). doi: 10.3389/fgene.2018.00138
- Anderson, R.C., Ahmed, H., 1993. The shark fisheries in the Maldives. Ministry of Fisheries and Agriculture, Republic of Maldives and Food and Agriculture Organization of the United Nations.

- Barbosa-Filho, M. L. V., Costa-Neto, E. M., & Siciliano, S. (2017). Knowledge and practices of expert fishermen of South Bahia, Brazil, regarding the international shark fin market. *Human Ecology*, 45(1), 67-75.
- Barreto, R.P., Bornatowski, H., Motta, F.S., Santander-Neto, J., Vianna, G.M.S., Lessa, R., 2017. Rethinking use and trade of pelagic sharks from Brazil. *Marine Policy*, 85, 114-122.
- Bernardo, C., de Lima Adachi, A.M.C., da Cruz, V.P.; Foresti, F., Loose, R.H., Bornatowski, H., 2020. The label “Cação” is a shark or a ray and can be a threatened species! Elasmobranch trade in Southern Brazil unveiled by DNA barcoding. *Marine Policy*, 116, 103920.
- Brasil. 2004. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 5, de 21 de Maio de 2020. Reconhecer como espécies ameaçadas de extinção e espécies sobreexploradas ou ameaçadas de sobre exploração, os invertebrados aquáticos e peixes, constantes dos Anexos a esta Instrução Normativa. *Diário Oficial da União*. Published: 28/05/2004. Seção: 1. Página: 136.
- Brasil. 2010. Boletim estatístico da pesca e aquicultura Brasil 2008-2009. Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA, Brasília, Distrito Federal, 100 pp.
- Brasil. 2012. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. Brasil 2010. Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA, Brasília, Distrito Federal, 129 pp.
- Brasil. 2015. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 29, de 23 de Setembro de 2015. Estabelecer, para as principais espécies de peixes de interesse comercial, a correlação entre os seus nomes comuns e respectivos nomes científicos a ser adotada em produtos inspecionados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e destinados ao comércio nacional. *Diário Oficial da União*. Published: 24/09/2015 Seção: 1. Página: 3
- Brasil. 2020. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 53, de 01 de Setembro de 2020. Define o nome comum e respectivos nomes científicos para as

principais espécies de peixes de interesse comercial destinados ao comércio nacional. Diário Oficial da União. Published: 04/09/2020 Seção: 1. Página: 2.

- Bréchon, A.L., Hanner, R., Mariani, S., 2016. A systematic analysis across North Atlantic countries unveils subtleties in cod product labelling. *Marine Policy*, 69, 124-133
- Brito, M.A., Schneider, H., Sampaio, I., Santos, S., 2015. DNA barcoding reveals high substitution rate and mislabeling in croaker fillets (Sciaenidae) marketed in Brazil: The case of “pescada branca” (*Cynoscion leiarchus* and *Plagioscion squamosissimus*). *Food Research International*, 70, 40-46.
- Bornatowski, H., Braga, R.R., Vitule, J.R.S., 2013. Shark mislabeling threatens biodiversity. *Science (Washington)*, 340(6135), 923.
- Bornatowski, H., Navia, A.F., Braga, R.R., Abilhoa, V., Corrêa, M.F.M., 2014. Ecological importance of sharks and rays in a structural food web analysis in southern Brazil. *ICES Journal of Marine Science*, 71, 1586–1592. doi: 10.1093/icesjms/fsu025
- Bornatowski, H., Braga, R.R., Kalinowski, C., Vitule, R.S., 2015. “Buying a Pig in a Poke”: The Problem of Elasmobranch Meat Consumption in Southern Brazil. *Ethnobiology Letters*, 6(1), 196-202. doi: 10.14237/eb1.6.1.2015.451
- Calegari, B.B., Reis, R.E., Alho, C.S. 2019. DNA barcode identification of shark fillet reveals fraudulent commerce in Brazil. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, 52(2), 95-100, doi: 10.1080/00085030.2019.1581692.
- Camhi, M.D., Valenti, S.V., Fordham, S.V., Fowler, S.L., Gibson, C. 2009. The conservation status of pelagic sharks and rays: report of the IUCN shark specialist group pelagic shark red list workshop. IUCN Species Survival Commission Shark Specialist Group. Newbury, UK. x+ 78p.
- Can, M.F., Günlü, A. Can, H.Y., 2015. Fish consumption preferences and factors influencing it. *Food Science and Technology*, 35(2), 339-346. doi:10.1590/1678-457X.6624.

- Carlson, J., Charvet, P., Avalos, C., Blanco-Parra, MP, Briones Bell-lloch, A., Cardenosa, D., Espinoza, E., Morales-Saldaña, J.M., Naranjo-Elizondo, B., Pérez Jiménez, J.C., Schneider, E.V.C., Simpson, N.J., Talwar, B.S., Crysler, Z., Derrick, D., Kyne, P.M. & Pacoureau, N. 2021. *Carcharhinus acronotus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T161378A887542. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T161378A887542.en>. Accessed on 26 September 2022.
- Carvalho, D.C., Neto, D.A.P., Brasil, B.S.A.F., Oliveira, D.A.A., 2011. DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil. *Mitochondrial DNA*, 22(1), 97-105. doi: 10.3109/19401736.2011.588219
- Carvalho, D.C., Palhares, R.M., Drummond, M.G., Frigo, T.B., 2015. DNA Barcoding identification of commercialized seafood in South Brazil: A governmental regulatory forensic program. *Food Control*, 50, 784 - 788. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.10.025
- Carvalho, D.C., Guedes, D., Trindade, M.G., Coelho, R.M.S., Araujo, P.H.L., 2017a. Nationwide Brazilian governmental forensic programme reveals seafood mislabelling trends and rates using DNA barcoding. *Fisheries Research*, 191, 30–35. doi: 10.1016/j.fishres.2017.02.021
- Carvalho, D.C., Palhares, R.M., Drummond, M.G., Gadanho, M, 2017b. Food metagenomics: Next generation sequencing identifies species mixtures and mislabeling within highly processed cod products. *Food Control*, 80, 183-186. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.04.049
- Carvalho, G.G.A., Degaspari, I. A. M., Branco, V., Canário, J., de Amorim, A. F., Kennedy, V. H., Ferreira, J. R., 2014. Assessment of Total and Organic Mercury Levels in Blue Sharks (*Prionace glauca*) from the South and Southeastern Brazilian Coast. *Biological Trace Element Research*, 159,128–134 doi: 10.1007/s12011-014-9995-6
- Cawthorn, D.M., Steinman, H.A., Witthuhn, R.C., 2012. DNA barcoding reveals a high incidence of fish species misrepresentation and substitution on the South African market. *Food Research International*, 46 (1), 30-40. doi: 10.1016/j.foodres.2011.11.011
- Cawthorn, D.M., Steinman, H.A., Hoffman, L.C., 2013. A high incidence of species substitution and mislabelling detected in meat products sold in South Africa. *Food Control*, 32 (2), 440 – 449. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.01.008



- Cawthorn, D.M., Baillie, C., Mariani, S., 2018. Generic names and mislabeling conceal high species diversity in global fisheries markets. *Conservation Letters*, 11(5), e12573. <https://doi.org/10.1111/conl.12573>
- Compagno, L., Dando, M., Fowler, S., 2005. *A Field Guide to the sharks of the world*. Princeton University Press, New Jersey, 368 p.
- Davidson, L.N., Dulvy, N.K., 2017. Global marine protected areas to prevent extinctions. *Nature ecology and evolution* 1, 0040. doi:10.1038/s41559-016-0040.
- Dent F., Clarke, S., 2015. *State of the global market for shark products*. FAO, Rome, Italy.
- Delpiani, G., Delpiani, S.M., Antoni, M.D., Ale, M.C., Fischer, L., Lucifora, L.O., de Astarloa, J.D., 2020. Are we sure we eat what we buy? Fish mislabelling in Buenos Aires province, the largest seafood market in Argentina. *Fisheries Research*, 221, 105373. doi: 10.1016/j.fishres.2019.105373
- DIPOA. 2015. *Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal do DIPOA. Volume 1, Ano Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Programas Especiais. Editores: Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ISSN 2447-8482*
- DIPOA. 2016. *Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal do DIPOA. Volume 2, Ano Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Programas Especiais. Editores: Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ISSN 2447-8482*
- DIPOA. 2018. *Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal do DIPOA. Volume 4, Ano Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Programas Especiais. Editores: Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ISSN 2447-8482*
- DIPOA. 2019. *Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal do DIPOA. Volume 5, Ano Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de*

Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Programas Especiais.  
Editores: Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e  
Abastecimento, ISSN 2447-8482

Donlan, C.J., Luque, G.M., 2019. Exploring the causes of seafood fraud: A meta-analysis on  
mislabeling and price. *Marine Policy*, 100, 258-264. doi: 10.1016/j.marpol.2018.11.022

Dulvy, N. K. et al. Challenges and Priorities in Shark and Ray Conservation. *Curr. Biol.* 27(11),  
565–572, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.04.038> (2017)

Ehmke, M.D., Bonanno, A., Boys, K., Smith, T.G., 2019. Food fraud: economic insights into  
the dark side of incentives. *Australian Journal of Agricultural and Resource Economics*,  
63(4), 685-700.

EFSA. 2012. *EFSA (European Food Safety Authority) Overview of food price data sources.*  
EFSA Supporting Publications: EN-278, pp. 1-27

Espino, D., García-Cortés, B., Mejuto, J., 2010. Relationships between size, body weights and  
fin weight of the blue shark (*Prionace glauca*) caught as by-catch in the Spanish surface  
longline fishery in the Indian Ocean. *Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 65(6), 2183-2194.

Estrella, F., Raposo, G., Pascolli, J., Gonzalez, J. G., Motta, F. S., Moura, R. L. (2016).  
Comercialização de pescado nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro.

FAO. 2014. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. Contributing to Food Security  
and Nutrition for All.* Rome: FAO.

FAO. 2016. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to Food Security  
and Nutrition for All.* Rome: FAO.

FAO. 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action.* Rome.  
<https://doi.org/10.4060/ca9229en>

Feitosa, L. M., Martins, A. P. B., Giarrizzo, T., Macedo, W., Monteiro, I. L., Gemaque, et al.  
2018. DNA-based identification reveals illegal trade of threatened shark species in a global  
elasmobranch conservation hotspot. *Scientific reports*, 8(1), 1-11. doi: 10.1038/s41598-  
018-21683-5

- Ferrette, B.L.S., Domingues, R.R., Rotundo, M.M., Miranda, M.P., Bunholi, I.V., De Biasi, et al. 2019. DNA barcode reveals the bycatch of endangered batoids species in the southwest Atlantic: implications for sustainable fisheries management and conservation efforts. *Genes*, 10(4), 304. doi:10.3390/genes10040304
- Ferrito, V., Raffa, A., Rossitto, L., Federico, C., Saccone, S., Pappalardo, A.M., 2019. Swordfish or Shark Slice? A Rapid Response by COIBar-RFLP. *Foods*, 8(11), 537, doi:10.3390/foods8110537
- Fields, A. T., Fischer, G. A., Shea, S. K. H., Zhang, H., Feldheim, K. A., Chapman, D. D., 2020. DNA Zip-coding: identifying the source populations supplying the international trade of a critically endangered coastal shark. *Animal Conservation*. doi:10.1111/acv.12585
- Fox, M., Mitchell, M., Dean, M., Elliott, C., Campbell, K., 2018. The seafood supply chain from a fraudulent perspective. *Food Security*, 10(4), 939-963.
- Froese, R., Pauly, D. Editors. 2020. *FishBase*. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, (Accessed July 2020).
- Garcia, S. M., & Rosenberg, A. A. (2010). Food security and marine capture fisheries: characteristics, trends, drivers, and future perspectives. *Philos. Trans. R. Soc. B: Biological Sciences*, 365, 2869-2880. doi:10.1098/rstb.2010.0171
- Gemaque, R., Monteiro, I.L.P., Gomes, F., Sodr , D., Sampaio, I., Sales, J.D.L., Rodrigues-Filho, L. F. S., 2017. Why implement measures to conserve the diversity of Elasmobranchs? The case of the northern coast of Brazil. *Revista da Biologia*, 17(2), 1-7.
- Grilly E., Reid, K., Lenel, S., Jabour, J., 2015. The price of fish: A global trade analysis of Patagonian (*Dissostichus eleginoides*) and Antarctic toothfish (*Dissostichus mawsoni*). *Marine Policy*, 60, 186–196. doi: 10.1016/j.marpol.2015.06.006
- Guardone, L., Tinacci, L., Costanzo, F., Azzarelli, D., D'Amico, P., Tasselli, G., et al., 2017. DNA barcoding as a tool for detecting mislabeling of fishery products imported from third countries: An official survey conducted at the Border Inspection Post of Livorno-Pisa (Italy). *Food Control*, 80, 204–216. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.03.056
- Hindmarsh, S., 2007. A Review of Fin-weight Ratios for Sharks. IOTC-2007-WPEB-I4:16

- Hjorth, J. 1996. Flat fish filleting machine. U.S. Patent 5,482,502. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Hobbs, C. A. D., Potts, R. W. A., Walsh, M. B., Usher, J., Griffiths, A. M., 2019. Using DNA Barcoding to Investigate Patterns of Species Utilization in UK Shark Products Reveals Threatened Species on Sale. *Scientific Reports - Nature*. 9: 1028. doi: 10.1038/s41598-018-38270-3
- Jacquet, J. L., Pauly, D., 2008. Trade secrets: Renaming and mislabeling of seafood. *Marine Policy*, 32, 309–318. doi: 10.1016/j.marpol.2007.06.007
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K., 2018. *Molecular Biology and Evolution*, 35,1547-1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
- Lo, Y. T., Shaw, P. C., 2018. DNA-based techniques for authentication of processed food and food. *Food Chemistry*, 240, 767–774. doi: [10.1016/j.foodchem.2017.08.022](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.022)
- Logan, C. A., Alter, S. E., Haupt, A. J., Tomalty, K., Palumbi, S. R., 2008. An impediment to consumer choice: Overfished species are sold as Pacific red snapper. *Biological Conservation*, 141, 1591–1599. doi: [10.1016/j.biocon.2008.04.007](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.04.007)
- Lopes, C.A., Araujo, N.L.F., Rocha, L., Monteiro, F., Rocha, R.C.C., Saint’Pierre, T.D., et al. 2019. Toxic and essential metals in *Narcine brasiliensis* (Elasmobranchii: Narcinidae): A baseline ecotoxicological study in the Southeast Atlantic and preliminary maternal transfer implications. *Mar. Pollut. Bull.*, 149, 110606. doi:[10.1016/j.marpolbul.2019.110606](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110606)
- Maciel, E. S., Sonati, J. G., Lima, L. K. F., Savay-da-Silva, L. K., Galvão, J. A., Oetterer, M., 2016. Similarities and distinctions of fish consumption in Brazil and Portugal measured through electronic survey. *Int. Food Res. J.*, 23(1), 395-402.
- Marchetti, P., Mottola, A., Piredda, R., Ciccarese, G., Di Pinto, A. 2020. Determining the Authenticity of Shark Meat Products by DNA Sequencing. *Foods*, 9(9), 1194.
- Mariani, S., Griffiths, A.M., Velasco, A., Kappel, K., Jérôme, M., Perez-Martin, R.I., Schröder, U., Verrez-Bagnis, V., Silva, H., Vandamme, S.G., Boufana, B., 2015. Low mislabeling rates indicate marked improvements in European seafood market operations. *Front. Ecol. Environ*, 13, 536–540, doi:10.1890/150119.

- Massa, A. E., Palacios, D. L., Paredi, M. E., Crupkin, M., 2005. Postmortem changes in quality indices of ice-stored flounder (*Paralichthys patagonicus*). *J. Food Biochem.* 29, 570–590. doi: 10.1890/150119
- Mejuto, J., García-Cortés, B., 2004. Preliminary relationships between the wet fin weight and the body weight of some large pelagic sharks caught by the spanish surface longline fleet. *Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 56, 243-253.
- Mejuto, J., García-Cortés, B., Ortiz de Urbina, J., 2008. Ratios between the wet fin weight and body weights of blue shark (*Prionace glauca*) in the spanish surface longline fleet during the period 1993-2006 and their impact on the ratio of sharks species combined. *Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 64, 1492-1508. SCRS/2008/128.
- Menezes, N. A., Buckup, P. A., Figueiredo, J. L. and Moura, R. L. (Eds.). 2003. Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil (pp. 105-106). São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.
- Palmeira, C.A.M., Da Silva Rodrigues-Filho, L.F., Sales, J.B.L., Vallinoto, M., Schneider, H., Sampaio, I., 2013. Commercialization of a critically endangered species (largetooth sawfish, *Pristis perotteti*) in fish markets of northern Brazil: authenticity by DNA analysis. *Food Control*, 34, 249-252. doi:10.1016/j.foodcont.2013.04.017
- Pancaldi, F., Galván-Magaña, F., González-Armas, R., Soto-Jimenez, M. F., Whitehead, D. A., O'Hara, T., et al. 2019. Mercury and selenium in the filter-feeding whale shark (*Rhincodon typus*) from two areas of the Gulf of California, Mexico. *Mar. Pollut. Bull.*, 146, 955-961. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.07.017
- Pazartzi T., Siaperopoulou S., Gubili C., Maradidou S., Loukovitis D., Chatzisprou A., et al. 2018. High levels of mislabeling in shark meat – Investigating patterns of species utilization with DNA barcoding in Greek retailers. *Food Control*, doi: 10.1016/j.foodcont.2018.11.019.
- Potts, T., Haward, M., 2007. International trade, eco-labelling, and sustainable fisheries—recent issues, concepts, and practices. *Environ., Dev. and Sustain.*, 9, 91-106. doi: 10.1007/s10668-005-9006-3

- Purcell, S. W., Crona, B. I., Lalavanua, W., Eriksson, H., 2017. Distribution of economic returns in small-scale fisheries for international markets: a value-chain analysis. *Marine Policy*, 86, 9-16.
- Rigby, C.L., Barreto, R., Carlson, J., Fernando, D., Fordham, S., Francis, M.P., Herman, K., Jabado, R.W., Liu, K.M., Marshall, A., Pacoureau, N., Romanov, E., Sherley, R.B. & Winker, H. 2019. *Prionace glauca*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T39381A2915850. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T39381A2915850.en>. Accessed on 26 September 2022.
- Rigby, C.L., Espinoza, M., Derrick, D., Pacoureau, N. & Dicken, M. 2021. *Carcharhinus leucas*. The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T39372A2910670. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-2.RLTS.T39372A2910670.en>. Accessed on 26 September 2022.
- Rodrigues Filho, L.F., Feitosa, L.M., Nunes, J.L.S., Palmeira, A.R.O., Martins, A.P.B., Giarrizzo, T., Carvalho-Costa, L.F., Monteiro, I.L.P., Gemaque, R., Gomes, F., Souza, R.F.C., Sampaio, I., Sales J.B.L., 2020. Molecular identification of ray species traded along the Brazilian Amazon coast. *Fisheries Research*, 223, 105407. doi: 10.1016/j.fishres.2019.105407
- Rodrigues-Filho, L. F. D. S., Rocha, T. C. D., Rêgo, P. S. D., Schneider, H., Sampaio, I., & Vallinoto, M. (2009). Identification and phylogenetic inferences on stocks of sharks affected by the fishing industry off the Northern coast of Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 32, 405-413.
- Rose D.A., 1996. An overview of world trade in sharks and other cartilaginous fish. A TRAFFIC network report.
- Rose C., Gribble N., Stapley, J., 2003. *Northern Australian sharks and rays: the sustainability of target and bycatch fisheries, Phase I*. FRDC Project 2001/077 Final Report. The State of Queensland, Department of Primary Industries QI 03007, ISSN 0727–6273.
- Schröder, U., 2007. Challenges in the Traceability of Seafood. *J. Verbrauch. Lebensm.*, 3, 45–48. doi:10.1007/s00003-007-0302-8

- Souza, D. S., Clemente, W. R., Henning, F., & Solé-Cava, A. M. (2021). From fish-markets to restaurants: Substitution prevalence along the flatfish commercialization chain in Brazil. *Fisheries Research*, 243, 106095.
- Staffen, C.F., Staffen, M.D., Becker, M.L., Löfgren, S.E., Muniz, Y.C.N., de Freitas, R.H.A., 2017. DNA barcoding reveals the mislabeling of fish in a popular tourist destination in Brazil. *PeerJ*, 5, e4006, doi: 10.7717/peerj.4006
- Stephenson, R. L., Wiber, M., Paul, S., Angel, E., Benson, A., Charles, A., Chouinard, O., Edwards, D., Foley, P., Lane, D., McIsaac, J., 2019. Integrating diverse objectives for sustainable fisheries in Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 76(3), 480-496.
- Stevens, J.D., Bonfil, R., Dulvy, N.K., Walker, P.A., 2000. The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (Chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES J. Mar. Sci.* 57, 476–494, doi:10.1006/jmsc.2000.0724.
- United States Pharmacopeia. 2016. Food Fraud Mitigation Guidance. Food chemicals codex (10th ed.). Appendix XVII.
- Vandamme, S. G., Griffiths, A.M., Taylor, S.A., Di Muri, C., Hankard, E.A., Towne, J.A., Watson, M., Mariani, S., 2016. Sushi barcoding in the UK: another kettle of fish. *PeerJ*, 4, e1891.
- Vaz-dos-Santos, A.M., Schwingel, P. R., 2015. “Biology and fisheries of hake (*Merluccius hubbsi*) in Brazilian waters, Southwest Atlantic Ocean.” In: *Hakes: Biology and Exploitation, First Edition*. Edited by Hugo Arancibia. John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd.
- Vitale, S., Biondo, F., Giosuè, C., Bono, G., Okpala, C. O. R., Piazza, I., Sprovieri, M., Pipitone, V. 2020. Consumers’ Perception and Willingness to Pay for Eco-Labeled Seafood in Italian Hypermarkets. *Sustainability*, 12(4), 1434.
- Ward, R.D., Zemplak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., Hebert, P.D.N., 2005. DNA Barcoding Australia’s Fish Species. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 360, 1847–1857 doi:10.1098/rstb.2005.1716

## 6. MATERIAL SUPLEMENTAR - B

**Tabela S1** - Todas as amostras utilizadas neste estudo, sua origem, preço, identificação molecular e status de rotulagem incorreta.

Amostra	Identificação no rótulo	Estabelecimento	Preço/kg (R\$)	Identificação da embalagem	Identificação via BOLD	Identificação via GenBank	Erro de rotulagem
CA_AM01	Cação	Supermercado	53.89	1	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (98%) KP192409	Não
CA_AM02	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	27.60	2	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) KP192409.1	Não
CA_AM03	Cação	Peixaria	19.90	3	<i>Prionace glauca</i> (99%)	<i>Prionace glauca</i> (98%) DQ108288.1	Não
CA_AM04	Cação	Peixaria	19.90	4	<i>Prionace glauca</i> (99%)	<i>Prionace glauca</i> (98%) KP719449.1	Não
CA_AM05	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	19.99	5	<i>Prionace glauca</i> (99.82%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) KF597030.1	Não
CA_AM06	Cação	Supermercado	29.39	6	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) KP719867.1	Não
CA_AM07	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	32.70	7	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) KP192409.1	Não
CA_AM08	Cação	Supermercado	20.80	8	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) KF597030.1	Não
CA_AM09	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	17.80	9	<i>Prionace glauca</i> (99.82%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) KP719867.1	Não



CA_AM10	Cação	Peixaria	24.90	10	<i>Prionace glauca (99.82%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM11	Cação	Peixaria	21.90	11	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (98%) KP719430.1</i>	Não
CA_AM12	Cação	Peixaria	25.90	12	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (98%) KP719882.1</i>	Não
CA_AM13	Cação	Peixaria	24.00	13	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM14	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	17.90	14	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM15	Cação	Supermercado	27.60	15	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM16	Cação	Peixaria	19.90	16	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KF597030.1</i>	Não
CA_AM17	Cação	Peixaria	24.90	17	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM20	Cação	Peixaria	15.95	18	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146042.1</i>	Não
CA_AM21	Cação	Peixaria	19.90	19	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM22	Cação	Peixaria	16.90	20	<i>Prionace glauca (99.60%)</i>	<i>Prionace glauca (99,73%) MH719984.1</i>	Não
CA_AM23	Cação	Peixaria	19.99	21	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não

CA_AM24	Cação	Peixaria	15.90	22	<i>Prionace glauca (99.81%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM25	Cação	Peixaria	17.90	23	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM26	Cação	Supermercado	14.98	24	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (98%) KF597030.1</i>	Não
CA_AM27	Cação	Peixaria	15.95	25	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (100%) KP193159.1</i>	Não
CA_AM28	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	39.80	26	<i>Prionace glauca (99.84%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM29	Cação	Supermercado	17.39	27	<i>Prionace glauca (99.84%)</i>	<i>Prionace glauca (100%) KP719867.1</i>	Não
CA_AM30	Cação	Supermercado	19.90	28	<i>Prionace glauca (99.84%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM35	Cação	Peixaria	19.90	29	<i>Carcharhinus leucas (99%)</i>	<i>Carcharhinus leucas (99%) KF646785.1</i>	Não
CA_AM36	Cação	Peixaria	17.90	30	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM37	Cação	Peixaria	19.90	31	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP719881.1</i>	Não
CA_AM38	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Peixaria	17.80	32	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM39	Cação	Peixaria	14.90	33	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (100%) KF597030.1</i>	Não

CA_AM40	Cação	Peixaria	15.90	34	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KF356249.1</i>	Não
CA_AM41	Cação	Peixaria	16.90	35	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM42	Cação	Peixaria	14.70	36	<i>Prionace glauca (99.26%)</i>	<i>Prionace glauca (98%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM43	Cação	Peixaria	19.00	37	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM44	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	33.60	38	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não
CA_AM45	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	33.60	39	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (100%) KP193159.1</i>	Não
CA_AM46	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	17.80	40	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM47	Cação Azul	Supermercado	33.96	41	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM48	Cação	Peixaria	23.20	42	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (98%) KC015830.1</i>	Não
CA_AM49	Cação	Peixaria	16.90	43	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM50	Cação	Peixaria	15.90	44	<i>Prionace glauca (99%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KJ146044.1</i>	Não
CA_AM51	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	25.96	45	<i>Prionace glauca (100%)</i>	<i>Prionace glauca (99%) KP192409.1</i>	Não

CA_AM52	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	32.78	46	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) KF597030.1	Não
CA_AM53	Cação	Supermercado	36.38	47	<i>Prionace glauca</i> (99%)	<i>Prionace glauca</i> (98%) KP193350.1	Não
CA_AM54	Cação	Peixaria	15.00	48	<i>Prionace glauca</i> (99%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) KJ146044.1	Não
CA_AM55	Cação	Peixaria	20.00	49	<i>Prionace glauca</i> (99%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) KJ146044.1	Não
CA_AM56	Cação Azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	25.38	50	<i>Prionace glauca</i> (99.84%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) KP719867.1	Não
CA_AM58	Cação-azul ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	17.80	51	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719984.1	Não
CA_AM59	Cação	Peixaria	19.00	52	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH194484.1	Não
CA_AM60	Cação	Peixaria	26.50	53	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719984.1	Não
CA_AM61	Cação	Peixaria	17.00	54	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719984.1	Não
CA_AM62	Cação	Peixaria	28.00	55	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) MH194484.1	Não
CA_AM63	<b>Cação</b>	Peixaria	17.00	56	<b><i>Brachyplatystoma vaillantii</i></b> (98,90%)	<b><i>Brachyplatystoma vaillantii</i></b> (100%) KT952409.1	<b>Sim</b>
CA_AM64	Cação	Peixaria	18.00	57	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (99%) MH194481.1	Não

CA_AM65	Cação Uruguai	Supermercado	25.10	58	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719950.1	Não
CA_AM66	Cação	Supermercado	18.37	59	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719984.1	Não
CA_AM67	Cação	Supermercado	27.27	60	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719921.1	Não
CA_AM68	Cação	Peixaria	19.90	61	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719984.1	Não
CA_AM69	Cação	Peixaria	24.91	62	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%)	Não
CA_AM70	Cação ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	11.27	63	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719984.1	Não
CA_AM71	Cação	Peixaria	26.90	64	<i>Carcharhinus acronotus</i> (100%)	<i>Carcharhinus acronotus</i> (100%) MH911288.1	No
CA_AM72	Cação	Peixaria	20.00	65	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719984.1	No
CA_AM73	Cação ( <i>Prionace glauca</i> )	Supermercado	25.80	66	<i>Prionace glauca</i> (100%)	<i>Prionace glauca</i> (100%) MH719984.1	No
LI_AM01	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.84%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.84%)	Não
LI_AM02	Linguado	Supermercado	24.29	1	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.34%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.34%)	Não
LI_AM03	Linguado	Supermercado	24.29	1	<i>Xystreurys rasile</i> (99.52%)	<i>Xystreurys rasile</i> (99.52%)	<b>Sim</b>
LI_AM04	Linguado	Supermercado	24.29	1	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	Não

LI_AM05	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Xystreurys rasile (99.52%)</i>	<i>Xystreurys rasile (99.52%)</i>	<b>Sim</b>
LI_AM06	Linguado	Supermercado	24.29	1	<i>Paralichthys isosceles (98.92%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (99.67%)</i>	Não
LI_AM07	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Xystreurys rasile (100%)</i>	<i>Xystreurys rasile (100%)</i>	<b>Sim</b>
LI_AM08	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Paralichthys isosceles (100%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (98.97%)</i>	Não
LI_AM09	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Paralichthys isosceles (99.84%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (99.84%)</i>	Não
LI_AM10	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Paralichthys isosceles (100%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (99.84%)</i>	Não
LI_AM11	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Paralichthys isosceles (99.84%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (99.52%)</i>	Não
LI_AM12	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Paralichthys isosceles (100%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (100%)</i>	Não
LI_AM13	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Paralichthys isosceles (99.68%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (99.68%)</i>	Não
LI_AM14	Linguado	Supermercado	24.29	1	<i>Paralichthys isosceles (99.69%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (99.36%)</i>	Não
LI_AM15	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Paralichthys isosceles (N/A)</i>	<i>Paralichthys isosceles (97.15%)</i>	Não
LI_AM16	Linguado	Supermercado	24.29	1	<i>Paralichthys isosceles (100%)</i>	<i>Paralichthys isosceles (100%)</i>	Não
LI_AM17	Linguado	Supermercado	24.29	15	<i>Xystreurys rasile (97.75%)</i>	<i>Xystreurys rasile (97.61%)</i>	<b>Sim</b>

LI_AM18	Linguado	Supermercado	30.90	2	<i>Paralichthys isosceles</i> (98.84%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (98.85%)	Não
LI_AM19	Linguado	Supermercado	30.90	16	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	Não
LI_AM20	Linguado	Supermercado	30.90	16	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	Não
LI_AM21	Linguado	Supermercado	30.90	2	<i>Paralichthys isosceles</i> (98.84%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.52%)	Não
LI_AM22	Linguado	Supermercado	30.90	2	<i>Paralichthys isosceles</i> (98.28%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (98.95%)	Não
LI_AM23	Linguado	Supermercado	30.90	16	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	Não
LI_AM25	Linguado	Supermercado	30.90	16	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	Não
LI_AM27	Linguado	Supermercado	30.90	2	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.86%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.66%)	Não
LI_AM28	Linguado	Supermercado	30.90	16	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b>Sim</b>
LI_AM29	Linguado	Supermercado	30.90	2	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	Não
LI_AM30	Linguado	Supermercado	30.90	16	<b><i>Xystreurys rasile</i> (97.49%)</b>	<b><i>Xystreurys rasile</i> (98.13%)</b>	<b>Sim</b>
LI_AM31	Linguado	Supermercado	28.80	3	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	Não
LI_AM32	Linguado	Supermercado	28.80	3	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	Não

LI_AM33	Linguado	Supermercado	28.80	3	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM34	Linguado	Supermercado	56.29	17	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM35	Linguado	Supermercado	56.29	4	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	Não
LI_AM36	Linguado	Supermercado	56.29	4	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM37	Linguado	Supermercado	56.29	4	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	Não
LI_AM38	Linguado	Supermercado	56.29	4	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.17%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.39%)	Não
LI_AM39	Linguado	Supermercado	56.29	17	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	Não
LI_AM40	Linguado	Supermercado	56.29	17	<i>Paralichthys patagonicus</i> (N/A)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (96.48%)	Não
LI_AM41	Linguado	Supermercado	56.29	17	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	Não
LI_AM42	Linguado	Supermercado	56.29	17	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	Não
LI_AM43	Linguado	Supermercado	56.29	17	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.83%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	Não
LI_AM44	Linguado	Supermercado	56.29	4	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não



LI_AM45	Linguado	Supermercado	56.29	4	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.35%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.19%)	Não
LI_AM46	Linguado	Supermercado	-	5	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	Não
LI_AM47	Linguado	Supermercado	-	5	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	Não
LI_AM48	Linguado	Supermercado	-	5	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.84%)	Não
LI_AM49	Linguado	Peixaria	24.99	6	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.54%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	Não
LI_AM50	Linguado	Peixaria	24.99	6	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.69%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	Não
LI_AM51	Linguado	Peixaria	24.99	6	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	Não
LI_AM52	Linguado	Peixaria	24.90	7	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM53	Linguado	Peixaria	24.90	7	<b><i>Xystreurys rasile</i> (99.38%)</b>	<b><i>Xystreurys rasile</i> (99.36%)</b>	<b>Sim</b>
LI_AM54	Linguado	Peixaria	24.90	7	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b>Sim</b>
LI_AM55	Linguado	Peixaria	24.90	7	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b>Sim</b>
LI_AM56	Linguado	Peixaria	24.90	7	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.85%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	Não
LI_AM57	Linguado	Comércio online	51.20	8	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não

LI_AM58	Linguado	Comércio online	38.80	8	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM59	Linguado	Comércio online	38.80	8	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM60	Linguado	Comércio online	45.90	9	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM61	Linguado	Comércio online	45.90	9	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM62	Linguado	Comércio online	45.90	9	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM63	Linguado	Comércio online	45.90	9	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.85%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.68%)	Não
LI_AM64	Linguado	Comércio online	29.90	10	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b>Sim</b>
LI_AM65	Linguado	Comércio online	29.90	10	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.53%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.36%)	Não
LI_AM66	Linguado	Comércio online	29.90	10	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.69%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.68%)	Não
LI_AM67	Linguado	Comércio online	29.90	10	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM68	Linguado	Comércio online	29.90	10	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (100%)	Não
LI_AM69	Linguado	Comércio online	29.90	10	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM70	Linguado	Comércio online	29.90	10	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b><i>Xystreurys rasile</i> (100%)</b>	<b>Sim</b>

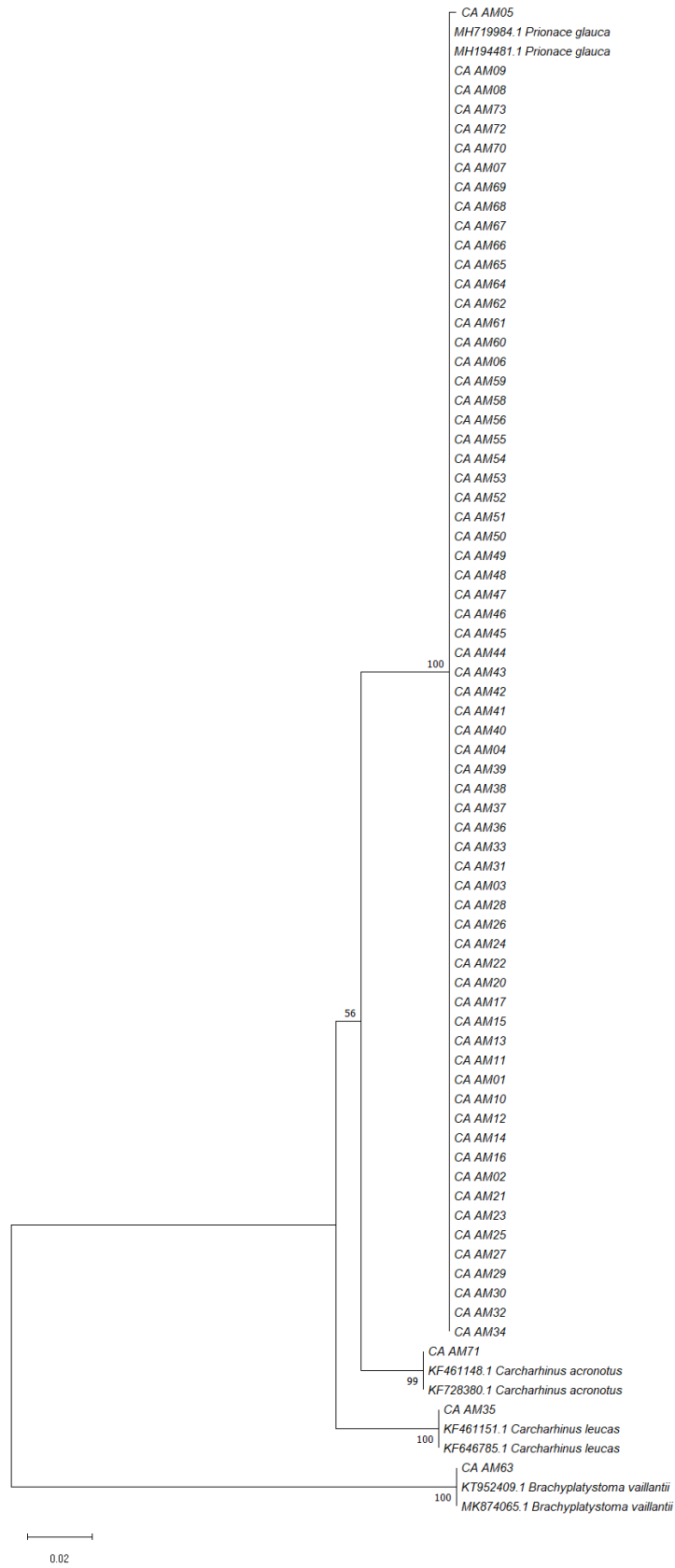
LI_AM71	Linguado	Comércio online	29.90	10	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.23%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.23%)	Não
LI_AM72	Linguado	Comércio online	29.90	10	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.39%)	<i>Paralichthys isosceles</i> (99.38%)	Não
LI_AM75	Linguado	Comércio online	39.90	12	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.85%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (99.85%)	Não
LI_AM76	Linguado	Comércio online	39.90	12	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM77	Linguado	Comércio online	39.90	12	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM78	Linguado	Comércio online	39.90	12	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM79	Linguado	Comércio online	43.00	13	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
LI_AM80	Linguado	Comércio online	43.00	13	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	<i>Paralichthys patagonicus</i> (100%)	Não
ME_M01	Merluza	Supermercado	16.98	1	<i>Merluccius gayi</i> (100%)	<i>Merluccius gayi</i> (100%)	Não
ME_M02	Merluza	Supermercado	16.98	1	<i>Merluccius gayi</i> (100%)	<i>Merluccius gayi</i> (100%)	Não
ME_M03	Merluza	Supermercado	16.98	1	<i>Merluccius gayi</i> (100%)	<i>Merluccius gayi</i> (100%)	Não
ME_M04	Merluza	Supermercado	16.98	1	<i>Merluccius gayi</i> (100%)	<i>Merluccius gayi</i> (99%)	Não
ME_M05	Merluza	Supermercado	24.90	2	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	Não
ME_M06	Merluza	Supermercado	24.90	2	<i>Merluccius hubbsi</i> (100%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	Não
ME_M07	Merluza	Supermercado	24.90	2	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	Não

ME_M08	Merluza	Supermercado	24.90	2	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (98%)</i>	Não
ME_M10	Merluza	Supermercado	25.00	3	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	Não
ME_M11	Merluza	Supermercado	25.00	3	<i>Merluccius hubbsi (98%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	Não
ME_M13	Merluza	Supermercado	25.00	3	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	Não
ME_M14	Merluza	Supermercado	25.00	3	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	Não
ME_M15	Merluza	Supermercado	25.00	3	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	Não
ME_M16	Merluza	Supermercado	25.00	3	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	Não
ME_M19	Merluza	Supermercado	12.90	4	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	Não
ME_M22	Merluza	Supermercado	14.90	5	<i>Merluccius productus (100%)</i>	<i>Merluccius productus (100%)</i>	Não
ME_M25	Merluza	Supermercado	16.98	5	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	Não
ME_M26	Merluza	Supermercado	16.98	6	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	Não
ME_M27	Merluza	Supermercado	19.90	7	<i>Merluccius productus (100%)</i>	<i>Merluccius productus (100%)</i>	Não
ME_M28	Merluza	Supermercado	19.90	7	<i>Merluccius productus (100%)</i>	<i>Merluccius productus (100%)</i>	Não
ME_M29	Merluza	Supermercado	19.90	7	<i>Merluccius productus (100%)</i>	<i>Merluccius productus (100%)</i>	Não
ME_M30	Merluza	Supermercado	19.90	7	<i>Merluccius productus (100%)</i>	<i>Merluccius productus (100%)</i>	Não

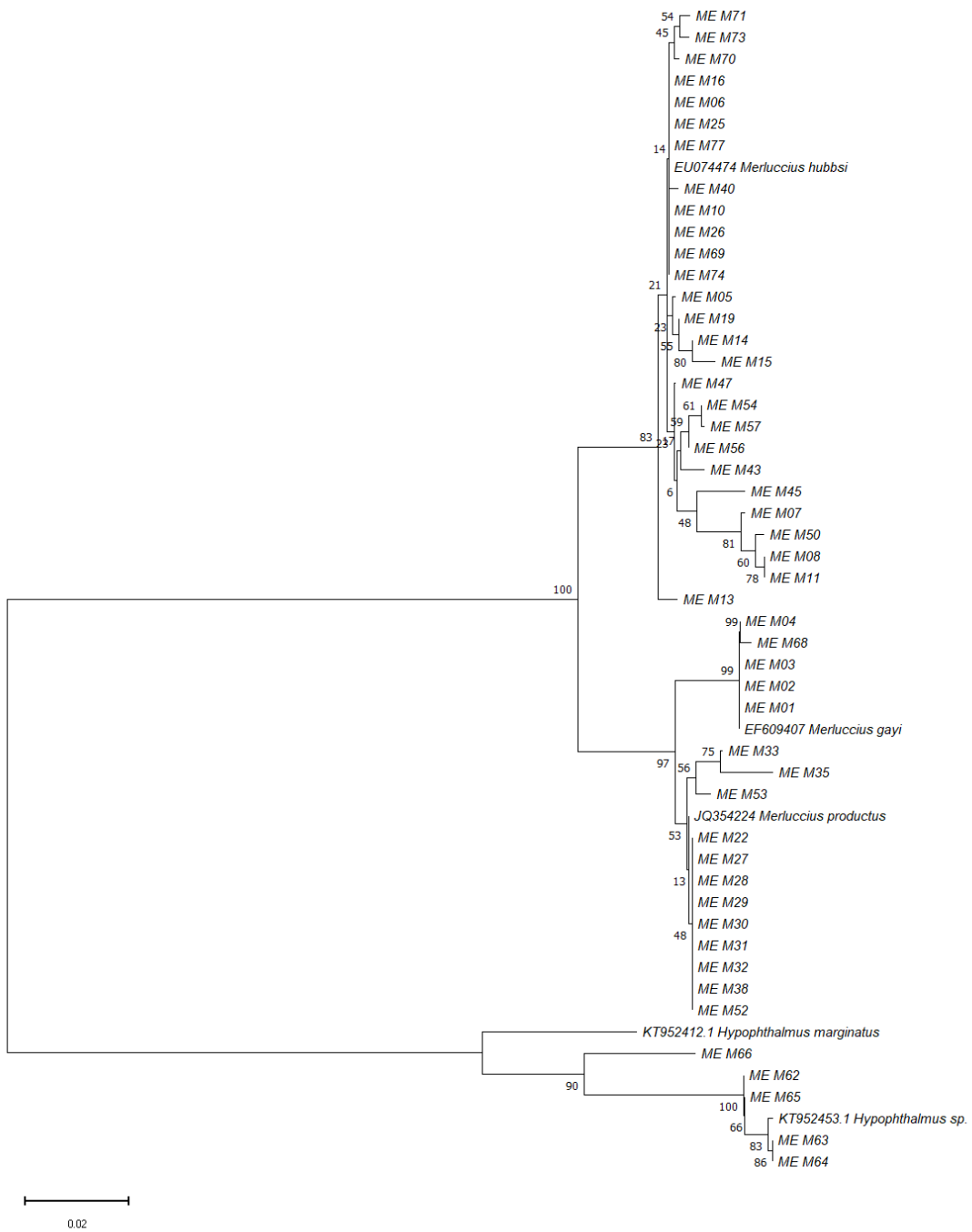
ME_M31	Merluza	Supermercado	19.90	7	<i>Merluccius productus</i> (100%)	<i>Merluccius productus</i> (100%)	Não
ME_M32	Merluza	Supermercado	19.90	7	<i>Merluccius productus</i> (100%)	<i>Merluccius productus</i> (100%)	Não
ME_M33	Merluza	Supermercado	24.90	8	<i>Merluccius productus</i> (99%)	<i>Merluccius productus</i> (99%)	Não
ME_M35	Merluza	Supermercado	24.90	8	<i>Merluccius productus</i> (98%)	<i>Merluccius productus</i> (98%)	Não
ME_M38	Merluza	Supermercado	24.90	8	<i>Merluccius productus</i> (100%)	<i>Merluccius productus</i> (100%)	Não
ME_M40	Merluza	Supermercado	-	9	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	Não
ME_M43	Merluza	Supermercado	-	9	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	Não
ME_M45	Merluza	Supermercado	-	9	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (97%)	Não
ME_M47	Merluza	Supermercado	-	9	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	Não
ME_M50	Merluza	Supermercado	-	10	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (99%)	Não
ME_M52	Merluza	Supermercado	9.90	11	<i>Merluccius productus</i> (100%)	<i>Merluccius productus</i> (99%)	Não
ME_M53	Merluza	Supermercado	9.90	11	<i>Merluccius productus</i> (100%)	<i>Merluccius productus</i> (99%)	Não
ME_M54	Merluza	Supermercado	9.90	11	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	Não
ME_M56	Merluza	Supermercado	8.90	12	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	<i>Merluccius hubbsi</i>	Não
ME_M57	Merluza	Supermercado	8.90	12	<i>Merluccius hubbsi</i> (98%)	<i>Merluccius hubbsi</i>	Não

ME_M62	<b>Merluza</b>	<b>Peixaria</b>	14.90	13	<i>Hypophthalmus marginatus (100%)</i>	<i>Hypophthalmus marginatus (98%)</i>	<b>Sim</b>
ME_M63	<b>Merluza</b>	<b>Peixaria</b>	14.90	13	<i>Hypophthalmus marginatus (99%)</i>	<i>Hypophthalmus marginatus (98%)</i>	<b>Sim</b>
ME_M64	<b>Merluza</b>	<b>Peixaria</b>	14.90	13	<i>Hypophthalmus marginatus (98%)</i>	<i>Hypophthalmus marginatus (98%)</i>	<b>Sim</b>
ME_M65	<b>Merluza</b>	<b>Peixaria</b>	14.90	13	<i>Hypophthalmus marginatus (99%)</i>	<i>Hypophthalmus marginatus (98%)</i>	<b>Sim</b>
ME_M66	<b>Merluza</b>	<b>Peixaria</b>	14.90	13	<i>Hypophthalmus marginatus (98%)</i>	<i>Hypophthalmus marginatus (98%)</i>	<b>Sim</b>
ME_M68	Merluza	Peixaria	19.90	14	<i>Merluccius gayi (100%)</i>	<i>Merluccius gayi (98%)</i>	Não
ME_M69	Merluza	Peixaria	24.90	15	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	Não
ME_M70	Merluza	Peixaria	24.90	16	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	Não
ME_M71	Merluza	Peixaria	24.90	16	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (98%)</i>	Não
ME_M73	Merluza	Peixaria	19.90	17	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	Não
ME_M74	Merluza	Peixaria	19.90	17	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	Não
ME_M77	Merluza	Peixaria	19.90	17	<i>Merluccius hubbsi (100%)</i>	<i>Merluccius hubbsi (99%)</i>	Não

---



**Figura S1-** Árvore *Neighbor-Joining* para as amostras de cação.



**Figura S2** – Árvore *Neighbor-Joining* para amostras de merluza.



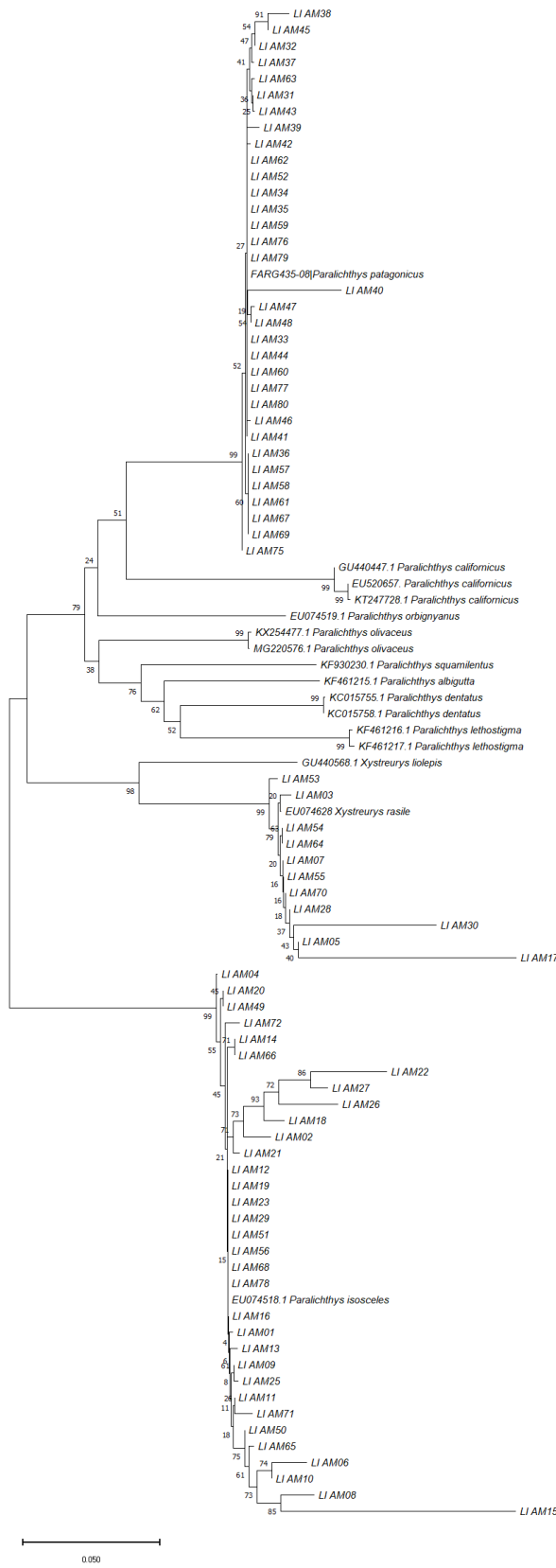


Figura S3 – Árvore *Neighbor-Joining* para amostras de linguado.

## CAPÍTULO 3

### A ser submetido a revista Food Control

#### **O viés de amplificação em produtos de pesca processados pode afetar a interpretação de substituições**

#### RESUMO

O uso de técnicas moleculares vem sendo amplamente utilizado na investigação de substituição de espécies em produtos alimentícios, especialmente quando estes estão descaracterizados pelas etapas do processamento, como no caso dos filés de peixes e peixes enlatados. Entretanto, o processamento sofrido por esse produto, como por exemplo o cozimento, podem degradar o DNA, acarretando dificuldades e/ou limitações quanto a interpretação dos dados moleculares obtidos. Adicionalmente existe a possibilidade da presença de múltiplas espécies em um mesmo produto/amostra, sendo necessário o uso de uma técnica específica, capaz de identificar o DNA de todas as possíveis espécies presentes: o metabarcoding. Essa técnica que vem sendo utilizada com sucesso na identificação de produtos processados e com múltiplas espécies, todavia, o uso de fragmentos curtos e degradados pode contribuir para uma baixa especificidade de espécies (limitando a identificação para níveis de gênero ou família), e a relação de proporção com quantificação do DNA nesse tipo de análise pode ser mal interpretada devido a ocorrência de vieses na amplificação, sendo necessário realizar etapas adicionais para contorná-los. Com o objetivo de verificar o uso dessa técnica na identificação de espécies em produtos processados, sem a adição de etapas adicionais para contornar os vieses, o presente estudo utilizou produtos enlatados (atum, sardinha e cavala) para realizar duas análises: 1) uso da técnica metabarcoding em amostras de múltiplas espécies artificialmente preparadas em laboratório em diferentes proporções de espécies e 2) comparação de métodos de preparo de amostras para identificação de espécies em produtos de pescados processados. Os resultados obtidos sugerem que o uso da técnica metabarcoding (sem as etapas adicionais) pode levar a uma interpretação equivocada quanto a quantificação de espécies em produtos processados, e que o método de preparo de amostra pode contribuir para uma maior ou menor cobertura na captura de DNA das espécies.

**Palavras - chave:** Atum enlatado, Comunidade Simulada, Comparação de Métodos, Preparo de Amostras, *Metabarcoding*.

## ABSTRACT

The use of molecular techniques has been widely used in the investigation of species substitution in food products, especially when they are de-characterized by the processing stages, as in the case of fish fillets and canned fish. However, the processing suffered by this product, such as cooking, can degrade the DNA, causing certain difficulties and/or limitations in terms of the interpretation of the molecular data obtained. Additionally, there is the possibility of the presence of multiple species in the same product/sample, requiring the use of a specific technique capable of identifying the DNA of all possible species present: the metabarcode. This technique, which has been successfully used in the identification of processed products and with multiple species, however, the use of short and degraded fragments can contribute to a low species specificity (limiting the identification to genus or family levels), and the relationship between proportion and DNA quantification in this type of analysis can be misinterpreted due to the occurrence of biases in the amplification, requiring additional steps to circumvent them. In order to verify the use of this technique in the identification of species in processed products, without the addition of additional steps to circumvent biases, the present study used canned products (tuna, sardines and mackerel) to perform two analyses: 1) use of the metabarcode technique on samples of multiple species artificially prepared in the laboratory in different proportions of species and 2) comparison of sample preparation methods for species identification in processed fish products. The results obtained suggest that the use of the metabarcode technique (without the additional steps) can lead to a misinterpretation regarding the quantification of species in processed products, and that the sample preparation method can contribute to a greater or lesser coverage in the capture of species DNA.

**Palavras - chave:** Canned Tuna, Mock Community, Method Comparison, Samples Preparation, Metabarcoding.

## 1. INTRODUÇÃO

A substituição de espécies de pescado é uma prática que ocorre globalmente em diferentes tipos de produtos alimentícios, como congelados, *in natura* e processados (Carvalho et al., 2015; But, Wu e Shaw, 2018; Calosso et al., 2020; Pappalardo et al., 2021). Identificar possíveis adulterações com base apenas na aparência do produto é muitas vezes bastante difícil para o consumidor comum. Um dos principais fatores que impedem uma clara identificação é o processo de remoção de caracteres morfológicos, facilitando a substituição de produtos como filé de peixe e enlatados. Além disso, o processo de cozimento que produtos enlatados são submetidos leva à degradação do DNA bem como a adição de outros ingredientes, como sal, gordura e condimentos podendo agir como inibidores para análises moleculares (Schrader et al., 2012; Wei et al., 2008). Assim, o uso e a escolha dos métodos moleculares adequados para investigação de rotulagem incorreta em produtos com múltiplas espécies, bem como a interpretação dos dados moleculares, devem ser realizados com cautela.

A análise molecular tradicional usada para rotulagem e rastreamento de alimentos é o clássico DNA *barcode* que utiliza o sequenciamento tradicional (Sanger et al. 1977). Este método requer um DNA de boa qualidade e muitas vezes é usado com sucesso em produtos menos processados onde apenas uma espécie foi utilizada, como carne, filés de peixe e sushi (Carvalho et al., 2015; Quinto, Tinoco & Hellberg, 2016; Vandamme et al., 2016; Pappalardo et al., 2021; Barbosa et al., 2021). Este método também pode ser usado com relativo sucesso de amplificação em produtos processados ou cozidos (Shokralla et al., 2015, Pollack et al., 2018, Rounghun, Tabb e Hellberg, 2022). No entanto, a abordagem metabarcoding utiliza a tecnologia de Sequenciamento de Nova Geração (NGS), sendo ideal para amostras de múltiplas espécies como amostras ambientais do tipo *bulk samples*, tendo mostrado eficiência na identificação de espécies de alimentos altamente processados (Carvalho et al., 2017; Giusti, Armani e Sotelo, 2017; Piredda et al., 2022). Diferente da análise de DNA *barcode*, a análise de *metabarcoding* permite identificar uma variedade de espécies presentes na amostra, requer um fragmento curto de DNA que funciona muito bem em produtos altamente processados com DNA degradado. Por outro lado, o uso de fragmentos curtos de DNA pode contribuir para uma baixa especificidade entre espécies próximas (Rounghun, Tabb e Hellberg, 2022). E quando se trata de quantificação de DNA a partir de amostras de DNA degradado em mistura de espécies, o *metabarcoding* pode não gerar a quantidade de *reads* correspondente à abundância de espécies na amostra. Algum viés pode ocorrer durante o processo de amplificação, tornando

a quantificação menos precisa (Kappel et al., 2017) e etapas adicionais podem ser necessárias para evitar ou minimizar esse viés (Ji et al., 2020).

O objetivo do presente estudo é, através da técnica de metabarcoding, identificar e estimar a composição de espécies em produtos de pescado enlatados (sardinha, cavala e atum) misturados artificialmente no laboratório para produzir amostras simuladas da comunidade (que aqui chamaremos de *Mock Community*) com diferentes proporções de espécies para avaliar a especificidade e utilidade da abordagem *metabarcoding* tradicional (sem as etapas adicionais ou alterações nos protocolos tradicionais para minimizar os possíveis vieses), para inspeção de rotulagem incorreta em pescados altamente processados. Além disso, realizamos uma comparação entre diferentes preparações de amostras (liquidificação e amostras inteiras) com o objetivo de entender a melhor maneira de cobrir a diversidade de espécies que podem estar contidas nos produtos processados.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 30 produtos enlatados foram comprados no Brasil (9), Reino Unido (19) e Noruega (2). Destes, vinte e uma conservas de atum foram usadas para análise de preparação de amostras e nove conservas de peixe (três de cada: atum, sardinha e cavala) foram usadas para análise *Mock Community* (Material Suplementar – C, Tabela S1). Para ambas as análises, todos os materiais utilizados (liquidificador, colher, pilão e almofariz) foram lavados com água da torneira e detergente, esterilizados com solução de água sanitária (10%) e enxaguados com água deionizada e álcool 70% antes de cada uso. A superfície externa das embalagens (lata) também foi esterilizada com solução de água sanitária e enxaguada com água deionizada e álcool. Amostras de controle negativo também foram coletadas logo após a esterilização completa do liquidificador, colher, pilão e almofariz.

### 2.1 *MOCK COMMUNITY*

Conservas de atum, sardinha e cavala foram usadas para preparar as amostras *Mock Community* (MC). Os produtos foram drenados e todos os espécimes encontrados de sardinha e cavala receberam um código único para análise de DNA *barcode*. Quatro amostras de MC com 100g cada foram feitas com base nos níveis de quantidade de carne de atum (10%, 33%, 50% e 80% de carne de atum enlatada). A porcentagem restante foi dividida igualmente para sardinha e cavala (40%, 33%, 25% e 10% cada) (Tabela 1). Uma balança eletrônica foi utilizada

para garantir as proporções de cada produto. As amostras foram misturadas artificialmente em laboratório com pilão e almofariz esterilizados, e três subamostras foram transferidas para tubos *falcon* (10g em cada). Um total de nove amostras tiveram o DNA extraído seguindo o protocolo Mu-DNA (Sellers et al., 2018), ajustado para amostras com 10g.

**Tabela 1** - Proporções de espécies utilizadas na produção de cada amostra de *Mock Community*.

	<b>Atum (g)</b>	<b>Sardinha (g)</b>	<b>Cavala (g)</b>	<b>Total (g)</b>	<b>Réplicas</b>
<b>Mock 1</b>	10	45	45	100	3 tubos
<b>Mock 2</b>	33	33	33	100	3 tubos
<b>Mock 3</b>	50	25	25	100	3 tubos
<b>Mock 4</b>	80	10	10	100	3 tubos
<b>Controle</b>	0	0	0	água	5 tubos

## 2.2 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS: LIQUIDIFICAÇÃO VS. AMOSTRAS INTEIRAS

Dois métodos de preparação de amostras foram utilizados para serem comparados. Para essa análise, 21 produtos de dez marcas foram adquiridos e cada marca recebeu um código (B1 a B10). Cada lata de atum utilizada foi drenada e a carne foi homogeneizada na própria embalagem com o auxílio de uma pequena colher esterilizada. O método de liquidificação consistiu em utilizar o conteúdo da lata, um liquidificador esterilizado e água pura (quantidade suficiente para homogeneizar a amostra e torná-la líquida). Isso pode garantir que todo o DNA de todas as espécies possíveis contidas no produto seja amostrado. Enquanto no método de amostra inteira (AI) uma pequena porção da carne vai direto da lata para o tubo de amostra. Para evitar comparações de métodos com produtos diferentes, essa carne já drenada e homogeneizada na própria embalagem foi dividida em duas metades, sendo uma metade utilizada para o método de liquidificação e a outra para o método de AI. Dessa forma, o mesmo produto/amostra foi submetido às duas formas de preparo.

De cada amostra liquefeita, foram coletadas quatro subamostras com uma pipeta e transferidas do liquidificador para quatro tubos de 1,5 ml. Já para o método de AI, três

subamostras de 10g foram coletadas da lata (carne drenada) e transferidas para tubos Falcon de 50 ml. Controles negativos do material esterilizado também foram coletados. Um total de 145 amostras foram analisadas (sem contar as amostras controle), levando em consideração que duas subamostras (subamostras 64 do método AI) foram perdidas durante o processamento no laboratório.

### 2.3 AMOSTRAS CONTIDAS EM SANDUICHES DE ATUM

Sanduíches de atum (N = 3) foram adquiridos em três lojas diferentes de uma mesma rede de *fastfood* localizadas na cidade de Liverpool, Reino Unido. O sanduíche foi solicitado somente com a “pasta de atum” para evitar contaminação cruzada através da presença de outros ingredientes (ex: salada, molhos etc.). Três subamostras da “pasta de atum” de cada sanduíche foram coletadas, gerando um total de 9 amostras. Amostra de controle positivo e negativo também foram realizadas.

### 2.4 EXTRAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA

Para as três análises (MC, preparação de amostras e rede de *fastfood*), o DNA genômico foi extraído seguindo o protocolo MU-DNA pra tecidos (Sellers et al., 2018), utilizando-se a quantidade proporcional de reagentes para as amostras com 10g de carne ou 1 ml de produto de liquidificação. A concentração do DNA foi quantificada em Nanodrop. Amostras de atum, amostras de processamento em branco, um PCR negativo e um controle positivo - peixe vermelho, *Sebastes mentella* (Travin, 1951) - foram amplificados usando o gene mitocondrial de RNA ribossômico 12S (12S, Teleo02-f: AAACCTCGTGCCAGCCACC; combinado com Teleo2-r: GGGTATCTAATCCCAGTTTG; Taberlet et al., 2018), visando ampliar vertebrados em geral. Foi utilizado um protocolo de PCR de etapa única contendo primers indexados com *oligotags* de 8 bp diferindo em pelo menos 3 bases. Um número variável (2, 3 ou 4) de bases degeneradas (N's) foi adicionado ao início de cada *primer* para aumentar a diversidade de nucleotídeos durante o sequenciamento. As reações de PCR foram realizadas em volumes de 20 µL contendo 10 µL de mix MyFi (Bioline), 1 µL de cada *primer* direto e reverso (10 µM), 2 µL de molde de DNA e 6 µL de água ultrapura. As condições do termociclador para PCR foram de 10 min a 95°C; 40 ciclos a 95 °C por 30 segundos, 60 °C por 45 segundos e 72 °C por 30 segundos; e um alongamento final a 72 °C por cinco minutos. Cada amostra foi amplificada em triplicata e posteriormente agrupada para reduzir vieses em PCRs individuais. A qualidade de todas as ampliações foi avaliada por eletroforese, executando os produtos de PCR em gel de

agarose TBE 2% (10X) corado com *SYBR safe*. Todos os produtos de PCR foram purificados usando esferas magnéticas (1x, Omega Mag-Bind). O controle positivo foi removido antes que todas as amostras fossem reunidas em quantidades equimolares e normalizadas para 40 µL contendo 1 µg de produto de PCR purificado total.

Um total de cinco bibliotecas Illumina com índices exclusivos de 12bp foram preparadas usando o kit de preparação de biblioteca sem PCR *Nextflex* com 4 ciclos de amplificação seguindo as instruções do fabricante. As bibliotecas foram verificadas quanto ao tamanho de fragmento esperado usando o ensaio *Agilent High Sensitivity D5000 ScreenTape* realizado em um *Agilent 4200 TapeStation* e as bibliotecas quantificadas por qPCR usando o *NEBNext Library Quant Kit for Illumina* usando um termociclador Rotor-Gene Q. As bibliotecas foram reunidas em quantidades equimolares e sequenciadas na *Liverpool John Moores University*. A biblioteca final com uma molaridade total de 50 pM e 10% de controle PhiX foi sequenciada em um *Illumina iSeq 100* usando a química do reagente i1 (2x150bp).

## 2.5 ANÁLISE DE DADOS DE SEQUÊNCIAS

As leituras brutas tiveram sua qualidade verificada através do FastQC (Andrews, 2010). O pacote Obitools foi utilizado para o processo de leitura onde o *Obicut* foi utilizado para remover *reads* < 20 (Boyer et al., 2016). O *Illumina Paired-end* foi utilizado para unir as leituras R1 e R2 com pontuação 40 de qualidade. Bases nitrogenadas fora do intervalo 120 - 210bp foram removidas via *Obigrep*, e o *Obiunique* foi utilizado para desreplicação. As amostras foram processadas utilizando o JAMP para remover ruídos (ESVs) agrupando haplótipos em MOTUs. A atribuição taxonômica foi feita utilizando o pacote *Ecotag* com uma abordagem filogenética ao menor ancestral comum.

Para determinar os potenciais contaminantes nos haplótipos e removê-los das análises, foi utilizado o pacote *Decontam* no software R. Dessa forma, foram removidas dos dados todas as sequências de organismos que não são do filo Chordata, além de sequências de seres humanos, porco, vaca e do organismo utilizado como controle positivo neste estudo, *S. mentella*.

A identificação taxonômica das sequências foi feita através do algoritmo BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) que compara sequências de DNA com as sequências depositadas no banco de dados do GenBank com similaridade >99%. Uma vez identificados e compilados, os dados foram agregados a níveis taxonômicos e



o pacote R “Phyloseq” (McMurdie & Holmes, 2013) foi utilizado para o resumo gráfico e visualizações de contagens de *reads* para diferentes níveis taxonômicos recuperados (somente para os dados de métodos de preparo de amostras). Especificamente, o pacote Phyloseq usa um sistema especializado de objetos classes S4 para armazenar todos os dados de sequenciamento filogenético relacionados como um único objeto de nível de experimento, facilitando o compartilhamento de dados e a reprodução de análises. Dessa forma, ele permite uma eficiente análise de dados de sequenciamento filogenético de alto rendimento agrupados em OTUs, de forma interativa e reprodutível, a partir de muitas das ferramentas disponíveis em R para ecologia e análise filogenética (McMurdie e Holms, 2013).

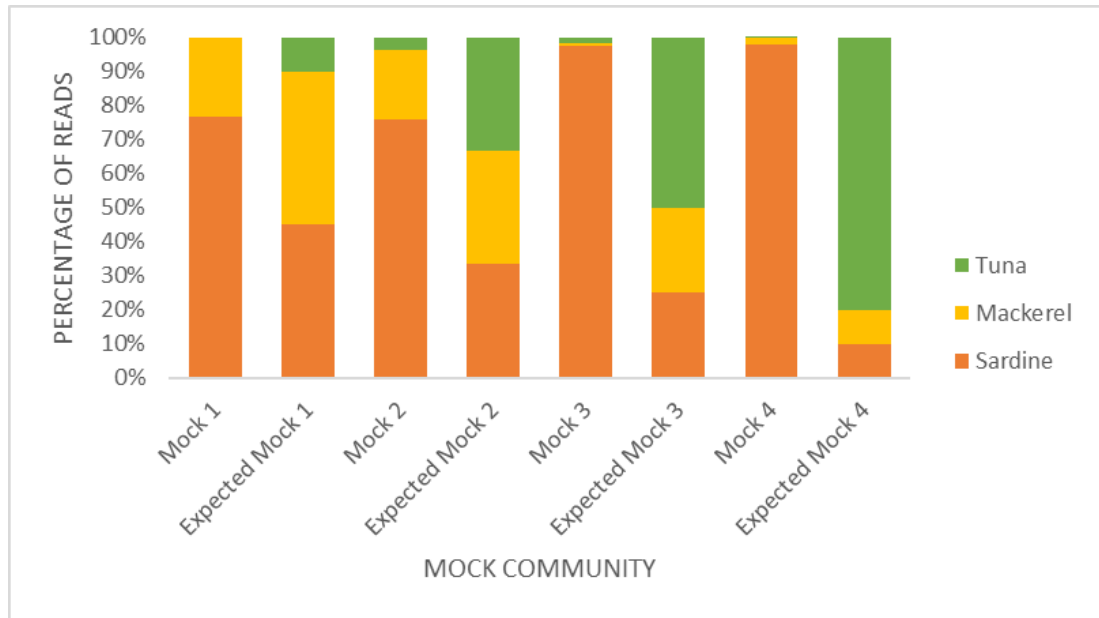
A análise *Relative Read Abundance* (RRA) foi realizada separadamente para os dados obtidos das análises *Mock community* e *fastfood*. Para cada análise, os dados do pipeline foram filtrados e organizados, sendo três categorias para o *Mock community* (sardinha, cavala e atum) e seis categorias para *fastfood* (outros Phasianidae, *Meleagris*, *Sardina*, *Thunnus*, *Scomber* e Scombridae).

### 3. RESULTADOS

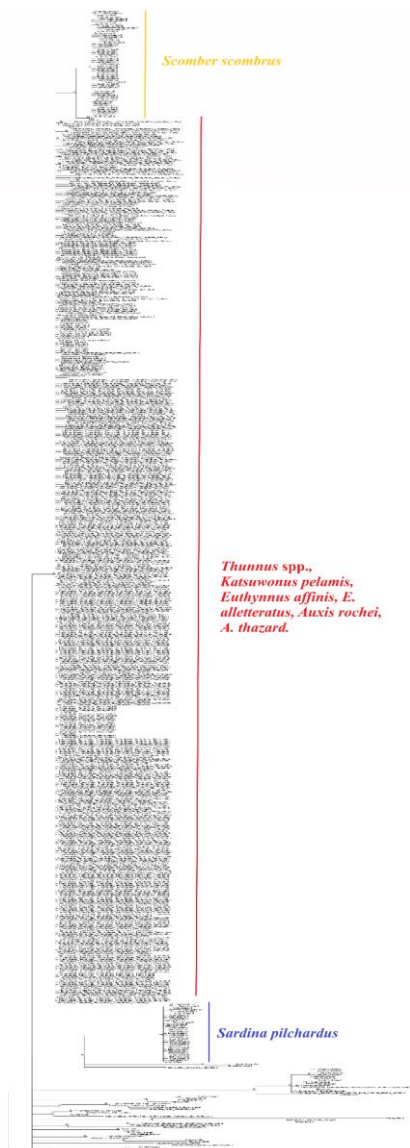
O sequenciamento *Illumina* do gene 12S extraído de amostras de 33 produtos gerou um total de 75.343 leituras brutas (*reads*), sendo 23.270 para a análise de *Mock Community*; 3.548 para amostras de sanduíche da rede de *fastfood*, e 48.525 para a comparação de liquidificação versus Amostras Inteiras.

#### 3.1 MOCK COMMUNITY

Sequências de sardinha, cavala e atum foram identificadas em todas as amostras de *Mock Community*, no entanto, a abundância de DNA de cada grupo não foi proporcional à esperada (Figura 1). Em todas as amostras, a abundância de leituras (*reads*) associadas à sardinha foi sempre maior do que os *reads* para atum e cavala, independente da proporção de sardinha utilizada no preparo das amostras. Enquanto os *reads* de atum e cavala se mantiveram em baixas proporções em todas as amostras, especialmente para os atuns. Além disso, a maioria das identificações foram em nível de família, principalmente para espécies da família Scombridae (Figura 2 – Árvore). Mesmo utilizando apenas uma espécie de peixe, *Katsuwonus pelamis* (Linnaeus, 1758), para produzir as amostras deste experimento de *Mock Community* (com base na informação do rótulo), a análise BLAST mostrou alto nível de similaridade entre espécies intimamente relacionadas com espécies de atum.



**Figura 1** – *Relative Read Abundance (RRA)* de *Mock Community* com os resultados obtidos (Mock 1 – 4) e esperados (Expected Mock 1 – 4), baseados nas proporções de produtos utilizados (ver Tabela 1). Onde *Tuna*, *Mackerel* e *Sardine* referem-se ao atum, cavala e sardinha, respectivamente.



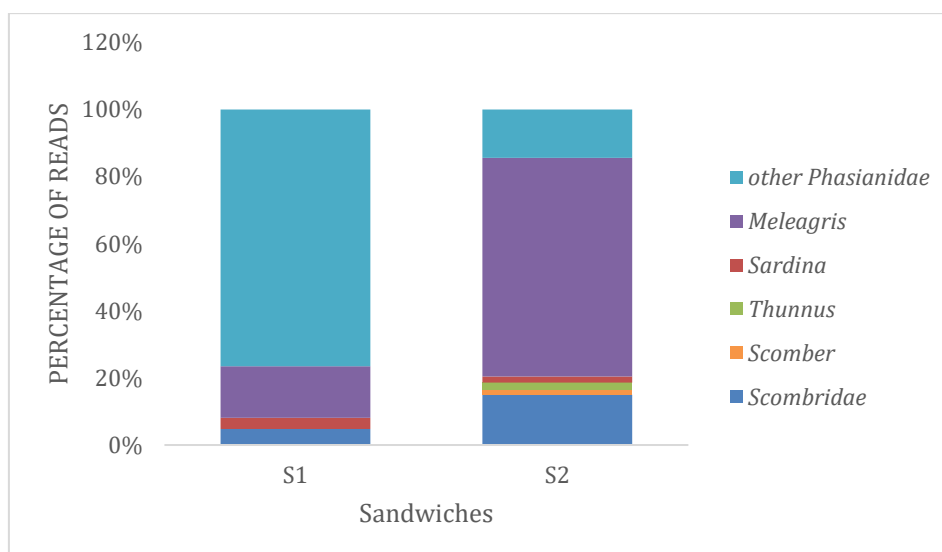
**Figura 2** – Árvore Neighbour-Joining para as amostras de *Mock Community*. Para melhor visualização da imagem, acesse o link:

[https://drive.google.com/file/d/1\\_qRSywyRpKjPIip41vRFuXV7Pop1TvT/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1_qRSywyRpKjPIip41vRFuXV7Pop1TvT/view?usp=sharing)

### 3.2 SANDUÍCHE DA REDE DE *FASTFOOD*

Amostras 1 e 2 produziram dados adequadas para análise, porém amostra 3 não produziu dados identificáveis como vertebrados na etapa de sequenciamento. Sequências de atum, sardinha e aves foram identificadas em nível de espécie (*best match* = melhor associação). MOTUs associadas as espécies de aves da família Phasianidae, ou como o peru, *Meleagris gallopavo* (Linnaeus, 1758), ou pertencentes a um dos faisões ou galinhas (*Chrysolophus pictus* (Linnaeus, 1758), *Gallus sonneratii* (Temminck, 1813), ou *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758)) foram identificadas em ambas as amostras. De acordo com o website da empresa o sanduíche de atum contém maionese em sua composição, explicando a presença destas aves nas amostras pois seus ovos são utilizados na produção da maionese.

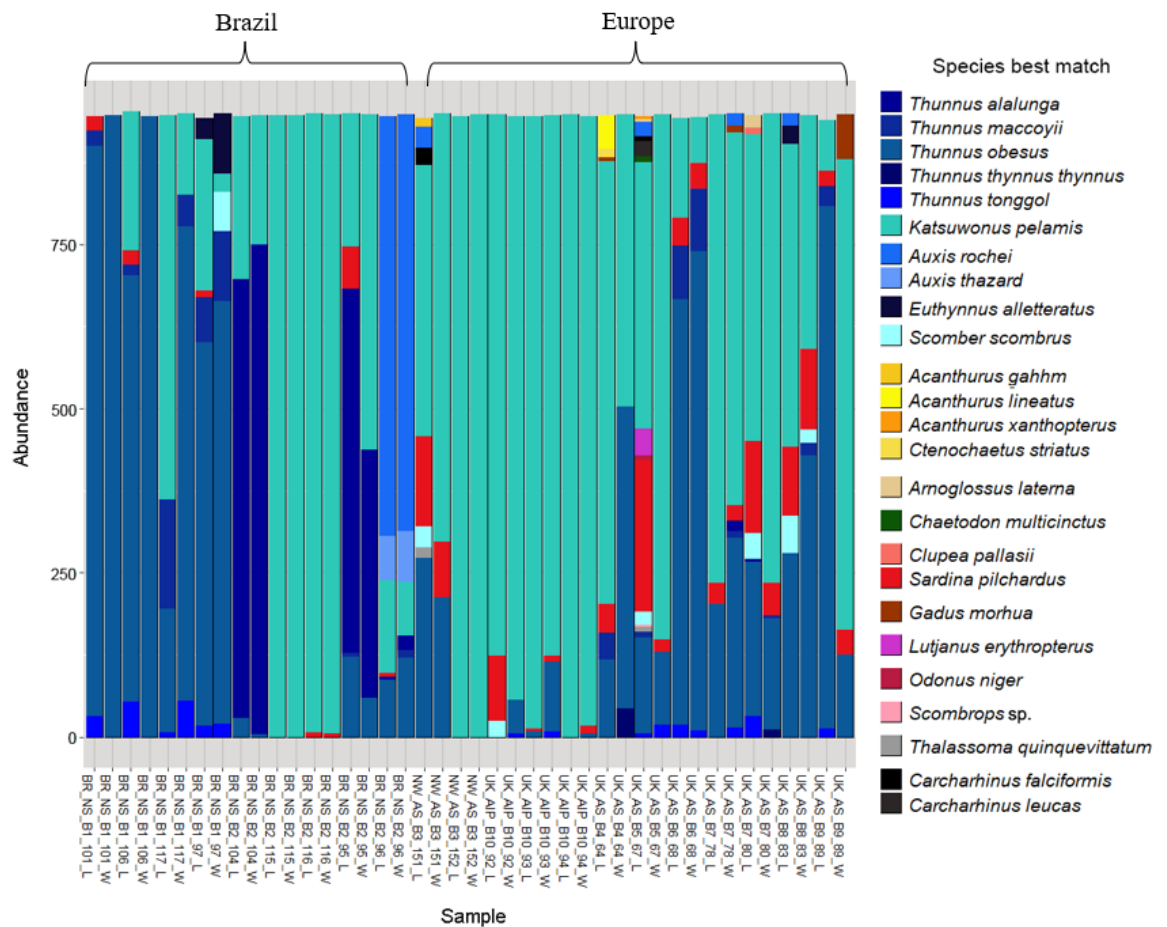
Quanto aos peixes, tanto a sardinha *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) quanto o atum (*Thunnus* spp, *Katsuwonus pelamis* e *Euthynnus* spp.) foram identificados em ambas as amostras. Mesmo utilizando a identificação *best match*, alguns OTUs somente chegaram a ser classificadas no nível de sua respectiva família, e assim foram mantidos com esta classificação para visualização, enquanto outros táxons foram sumarizados ao nível de gênero (Figura 3).



**Figura 3** - *Relative Read Abundance* (RRA) de táxons nos patês de atum em sanduíches (S1 e S2) comprados em diferentes lojas *fastfood* em Liverpool, Reino Unido.

### 3.3 LIQUIDIFICAÇÃO VS. AMOSTRAS INTEIRAS

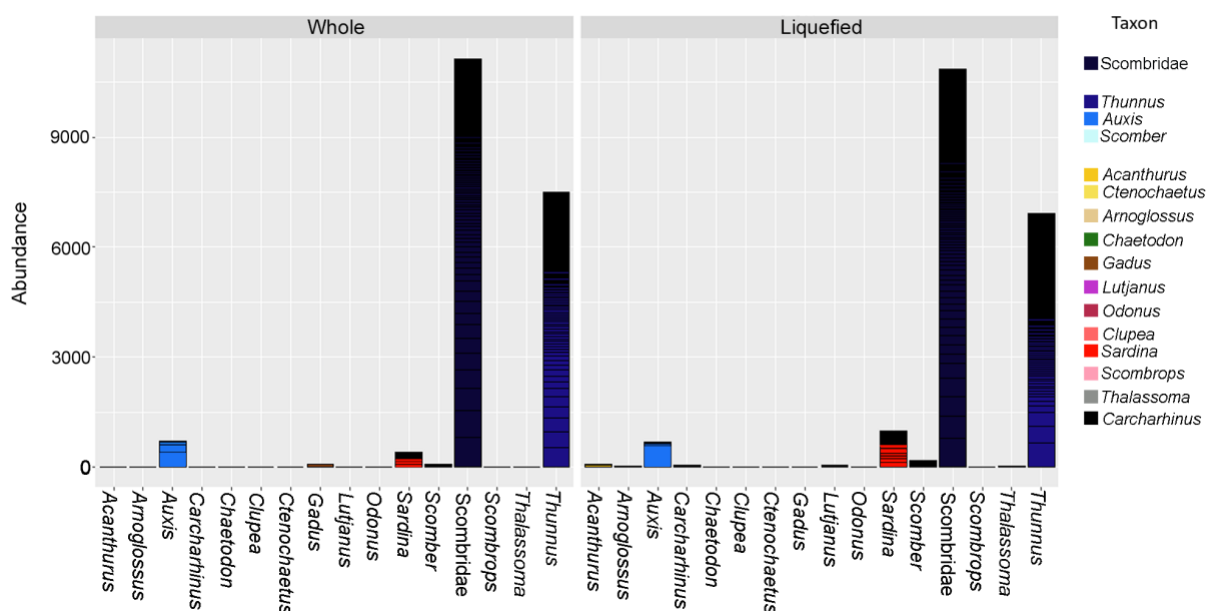
Um total de 17 gêneros e 25 espécies foram identificados nas análises para os dois métodos utilizados (Figura 4). Algumas identificações das OTUs via BLAST não tiveram sucesso na identificação ao nível de espécie e outras foram identificadas com múltiplos gêneros, não sendo possível diferenciar entre *Katsuwonus pelamis*, *Euthynnus* sp. e *Auxis* sp. Por esse motivo essas OTUs foram agrupadas a nível de família, Scombridae.



**Figura 4-** Melhores identificações via BLAST ao nível de espécie. O nome de cada amostra identifica em ordem, o: local de compra (Brasil - BR / Reino Unido - UK / Noruega - NW), a origem de produção/captura (Não especificado - NS / Ásia - AS / Atlântico, Índico e/ou Pacífico - AIP), o código da marca (B1 a B10, total de 10 marcas), o código individual de cada lata/amostra (64 a 152) e o método de preparo da amostra (amostra inteira ou “whole” - W e liquidificada - L).

Os métodos de preparo de amostra (liquidificação e amostra inteira) obtiveram resultados diferentes. O método de liquidificação encontrou uma maior riqueza de espécies com

baixo número de *reads*, onde alguns gêneros (pelo menos 10) foram identificados exclusivamente através desse método. Estes incluíram gêneros de peixes ósseos conhecidos de regiões recifais da Ásia (*Indo-West Pacific*) *Acanthurus*, *Ctenochaetus*, *Chaetodon*, *Clupea*, *Lutjanus*, *Odonus*, *Thalassoma* e tubarões do gênero *Carcharinus* que são mais comuns de regiões tropicais e subtropicais (Figuras 4 e 5). Os táxons com maior número de *reads*, o gênero *Thunnus* e a família Scombridae, foram dominantes nas amostras independentemente do método de extração. A presença de espécies dos gêneros *Sardina* e *Scomber* foram mais abundantes no método de liquidificação (Figura 5).



**Figura 5** – Número de *reads* (*Abundance*) associadas aos táxons identificados por método de preparo (amostras inteiras = *whole* e liquidificados = *liquefied*).

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo apontam vieses importantes que podem acontecer na identificação de espécies em alimentos processados utilizando *metabarcoding* e o marcador 12S. Esses vieses podem levar a uma interpretação equivocada de resultados, especialmente em relação a quantificação. Aqui, a análise de *Mock Community* (MC) revela que uma espécie pode se destacar em termos de abundância relativa de *reads* sobre as demais, mesmo que esta espécie esteja em menor quantidade na amostra. Resultados similares também foram obtidos em estudos com dieta (Ford et al., 2016). A ocorrência de vieses pode depender de diversos fatores

como os procedimentos de preparo do produto sendo vendido, como visto nos nossos resultados e também na quantidade de DNA recuperado de produtos distintos (Pollack, Williams-Hill e Hellberg, 2018), além de poderem estar associadas ao protocolo de extração, a etapa de PCR e a escolha dos *primers* (McLaren et al., 2019). Na tentativa de evitar esse viés, algumas metodologias alternativas chegam a descartar a etapa de PCR (Zhou et al., 2013; Kimmerling et al., 2017) enquanto outras utilizam etapas adicionais (Ji et al., 2020).

No caso dos produtos alimentares, diversos fatores associados ao processo de produção do produto anteriores às análises laboratoriais podem afetar a qualidade do DNA. Primeiramente, processos físico-químicos no preparo podem influenciar de forma distinta a sobrevivência de DNA nos produtos. Apesar dos três produtos na análise de *mock community* (sardinha, cavala e atum) serem enlatados, é provável que os três produtos (que são de marcas diferentes) passaram por processamentos diferentes, com temperaturas e pressão devido os tipos de cocção diferentes. Métodos de preparo podem ser diferentes de acordo com a empresa, regulamentação do país e o tipo de produto. Por exemplo, uma grande empresa desse ramo utiliza processamentos diferentes na produção de sardinha e atum enlatados. A sardinha é cozida dentro da lata a 118 °C, enquanto o atum passa por um pré-cozimento fora da lata a 90 °C, é resfriado a 22 °C e depois é cortado em suas variações (ralado, lombo, etc.) para então ser enlatado e novamente cozido a 116 °C dentro da lata (Salomão, 2016). Adicionalmente, a forma de corte e apresentação do produto também pode influenciar na qualidade do DNA presente, sendo a sardinha e a cavala enlatadas em pedaços grandes com ossos, pele e camadas de gordura (corpo sem cabeça, vísceras e barbatanas), enquanto o atum é enlatado em formato de músculo cortado em pequenos pedaços. Secundariamente, produtos alimentares podem ser feitos com base em misturas de produtos primários, introduzindo mais potencial para vieses devido as proporções distintas e qualidades diferentes dos produtos primários incluídas nessas misturas. Isso é claramente visto nas análises do patê de atum nos sanduíches da rede de *fastfood*. Semelhantes à análise de *Mock Community*, as leituras de espécies com DNA menos degradado dominam sobre o sinal de DNA de atum. Neste caso, o DNA de aves proveniente dos ovos utilizados na maionese está provavelmente menos degradado que o do atum, pois utilizam atuns conservados em salmoura e cozidos (de acordo com informações no *website* da rede de *fastfood*) enquanto a maionese comercial é feita usando ovos pasteurizados, mas não cozidos (para manter as características do ovo necessários para a produção do maionese), provavelmente deixando o DNA mais intacto dentro do ovo e portanto mais dominante na mistura final do patê. O fato que a quantificação de espécies baseada na RRA (abundância relativa de *reads*)

não foi condizente com o RRA esperado considerando a % relativa de massa de produtos, corrobora com a literatura para outros tipos de amostras e organismos (Pawluczyk et al., 2015; Boers, Jansen e Hay, 2019; Elbrecht e Leese, 2020). Assim, sempre deve ser considerado estes efeitos para evitar interpretações equivocadas com base em dados de *metabarcoding* sobre as proporções de espécies (biomassa) contidas em produtos de pescados processados, especialmente naqueles em que podem ocorrer mistura de espécies, como no caso de patês ou pastas de atum.

Apesar da ocorrência de vieses impedir uma quantificação fidedigna, o metabarcoding ainda é útil para recuperar informações sobre a presença de diferentes espécies (Kimmerling et al., 2017). Muitos estudos obtiveram sucesso no uso dessa técnica para identificar a presença de diferentes espécies em produtos processados (Giusti, Armani e Sotelo, 2017; Carvalho et al., 2017). Entretanto, pouco se sabe sobre a influência do preparo da amostra de um produto processado na cobertura taxonômica obtida através do metabarcoding.

Aqui, o método Liquidificação (L) mostrou uma cobertura taxonômica maior que o método Amostra Inteira (AI) confirmando a hipótese do que a homogeneização da amostra permite recuperar sinais de pedaços menores dentro de misturas (Figura 4). A liquidificação, que já é muito utilizado para metabarcoding de *bulk samples* (Buchner, Haase, Leese, 2021), permitiu uma maior possibilidade de identificar as espécies tropicais-recifais. Estas espécies somente foram encontradas em algumas das amostras com procedência da Ásia (Indonésia, Tailândia, Filipinas). As amostras adquiridas no Brasil revelam uma cobertura taxonômica inferior quando comparadas com os produtos da Europa, sendo compostas principalmente por espécies da família Scombridae (somente tendo sinais fracos de *Carcharhinus*, *Sardina* e *Scomber*) além dos táxons geralmente permitidos a ser comercializadas como atuns enlatados no Brasil (Figura 4). É importante apontar que a sardinha (*Sardina*), cavala (*Scomber*) e bacalhau (*Gadus*), identificados em várias amostras, são peixes que foram utilizados em outras análises moleculares realizadas neste estudo (*Mock Community*) ou no mesmo laboratório, portanto, existe a possibilidade espécies nas amostras de atum enlatado serem em decorrência de uma contaminação cruzada. Assim, nas amostras compradas no Brasil, somente teve sinal adicional dos tubarões do gênero *Carcharhinus*.

O processamento de pescado é frequentemente feito com maquinarias de tamanhos apropriados para os organismos sendo processadas e com origens de desembarque comum, como pode ser esperado para atuns e tubarões que estão pescadas com espinhel no Brasil (Lucena Frédou et al., 2015). Assim, interpretamos que o sinal destes tubarões é oriundo do



processamento destas espécies nos mesmos ambientes que os atuns. Usando a mesma lógica, interpretamos que o sinal dos peixes recifais oriundos de algumas marcas importadas para Europa da Ásia reflete o coprocessamento de atuns com a pesca diversificada em alguns fabricas nestes países. Como nosso *pipeline* de bioinformática descarta sinais de espécies que não são vertebrados, resta uma questão sobre o potencial de contaminação destas latas de atum com tecidos de origem de invertebrados, incluindo potenciais alergênicos de produtos comuns de pescado como crustáceos e moluscos. Um estudo metagenômico em surimis identificou três espécies de molusco que não estavam presentes na lista de ingredientes na embalagem, representando um risco para pessoas alérgicas (Giusti, Armani e Sotelo, 2017). O método pode eventualmente detectar risco de toxinas oriundos de vertebrados também. Não foram identificadas neste trabalho sinais de Tetraodontiformes, porém estes podem ser encontrados na pesca oriental e eventualmente contaminar outros produtos com a Tetrodotoxina (Cohen et al., 2009). Ainda, deveremos considerar as limitações de identificação das espécies. Diversas espécies foram identificadas nos produtos de atuns enlatados. Alguns foram identificados a nível de espécie, mas a maioria das identificações foram a nível de gênero ou família.

O presente estudo revela um padrão geral de dificuldade na discriminação entre espécies próximas de atuns nas três análises realizadas. Essa dificuldade já era esperada, tendo em vista que estudos já comprovaram isso através do uso de diferentes marcadores moleculares, incluindo o tradicional Citocromo Oxidase I para DNA *barcode* (Chow et al., 2006; Vinãs e Tudela, 2009). Os processos de uso de banco referencial curado para uma região específica, usado em estudos de DNA ambiental, não servem para fiscalização de produtos que podem ser de diversas regiões em qual espécies próximas (mas geograficamente isoladas) estão mais prováveis a serem encontrados na diversidade total de amostras.

Segundo a regulamentação europeia para a produção de atuns em conserva, as espécies permitidas são todas as espécies do gênero *Thunnus* (oito espécies) e a espécie *Katsuwonus pelamis*. As espécies geneticamente próximas aos atuns, da família Scombridae, dos gêneros *Sarda*, *Euthynnus* e *Auxis* devem ser identificadas como “bonito em conserva” (Council regulation, 1992). Todavia, por se tratar de um produto processado, a regulamentação tolera uma porcentagem da presença de carne de outros peixes nos produtos comercializados como atuns enlatados, desde que tenham sido submetidos ao mesmo processamento (Council regulation, 1992). Em comparação, no Brasil, a regulamentação é um pouco diferente. Em 2011, a Instrução Normativa Nº 46 de 15 de Dezembro relata a espécie *K. pelamis* como uma das espécies permitidas para a produção de atuns em conserva, juntamente com as oito espécies

do gênero *Thunnus*. Entretanto, a Instrução Normativa MAPA N° 53 de 1 de Setembro de 2020, atualizada em 26 de Abril de 2021, fornece a lista de nomes comuns permitidos para os peixes comerciais, onde a espécie *K. pelamis* pode ser comercializada nacionalmente somente como bonito-listrado, bonito-barriga-listrada ou gaiado. Enquanto o termo “atum” é permitido apenas para espécies do gênero *Thunnus*. Isso gera um conflito lógico, onde não fica claro se para fins de comercialização de atuns em conserva, apenas as espécies do gênero *Thunnus* são permitidas, ou se o *K. pelamis* também pode ser incluído nestes produtos. O parágrafo único do artigo 7 deste regulamento também informa que a inclusão de qualquer outra espécie (além das que estão listadas) só pode ser feita com o aval do órgão competente, não havendo nenhuma descrição de tolerância para a presença de outras espécies. Neste trabalho, mostramos que apesar da regulamentação brasileira não permitir o comércio de bonito-listrado (*K. pelamis*) como “atum”, o uso dessa espécie na produção de atuns enlatados é comum no Brasil e em vários países.

## 5. CONCLUSÃO

A fiscalização utilizando *metabarcoding* em latas de atum é possível, mas levando em consideração a legislação relevante parece que os vieses de amplificação podem resultar em interpretações que podem ser enganosas. Amostras que contêm material misto (múltiplas espécies) podem ter dados dominados por espécies que amplificam mais que o atum. Secundariamente, produtos de atum enlatados têm tolerância quanto à presença de traços de outras espécies (legislação europeia), que significa que seria necessária uma porcentagem alta de abundância de *reads* para ter certeza da presença significativa de uma determinada espécie que não deveria estar presente. Isso é exemplificado pelas amostras compradas na Europa e oriundas da Ásia, onde várias espécies de recifes do Oceano Índico estão identificadas em quantidades menores através do método Liquidificação. Porém, isso levanta uma questão sobre a saúde do consumidor. Se estes traços estão presentes com regularidade nas latas de atum originadas desses lugares, então o risco de incluir traços de mariscos (crustáceos e moluscos), que podem gerar respostas alérgicas em parte da população de consumidores, é aumentado.

## 6.REFERÊNCIAS

- Andrews, S. (2010). FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. Disponível em: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Barbosa, A. J., Sampaio, I., & Santos, S. (2021). Re-visiting the occurrence of mislabeling in frozen “pescada-branca” (*Cynoscion leiarchus* and *Plagioscion squamosissimus*–Sciaenidae) sold in Brazil using DNA barcoding and octaplex PCR assay. *Food Research International*, 143, 110308.
- Boers, S. A., Jansen, R., & Hays, J. P. (2019). Understanding and overcoming the pitfalls and biases of next-generation sequencing (NGS) methods for use in the routine clinical microbiological diagnostic laboratory. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38(6), 1059-1070.
- Boyer F., Mercier C., Bonin A., Taberlet P., Coissac E. (2016) OBITools: a Unix-inspired software package for DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*. doi: 10.1111/1755-0998.12428.
- Buchner, D., Haase, P., & Leese, F. (2021). Wet grinding of invertebrate bulk samples—a scalable and cost-efficient protocol for metabarcoding and metagenomics. *Metabarcoding and Metagenomics*, 5, e67533.
- But G.W.-C., Wu H.-Y. & Shaw P.-C., Identification of fish species of sushi products in Hong Kong, *Food Control* (2018), doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.008>.
- Calosso, M. C., Claydon, J. A., Mariani, S., & Cawthorn, D. M. (2020). Global footprint of mislabelled seafood on a small island nation. *Biological Conservation*, 245, 108557.
- Carvalho, D.C., Palhares, R.M., Drummond, M.G., Frigo, T.B., 2015. DNA Barcoding identification of commercialized seafood in South Brazil: A governmental regulatory forensic program. *Food Control*, 50,784 - 788. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.10.025
- Carvalho, D.C., Palhares, R.M., Drummond, M.G., Gadanho, M, 2017. Food metagenomics: Next generation sequencing identifies species mixtures and

- mislabeling within highly processed cod products. *Food Control*, 80, 183-186. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.04.049
- Chow, S., Nakagawa, T., Suzuki, N., Takeyama, H., & Matsunaga, T. (2006). Phylogenetic relationships among *Thunnus* species inferred from rDNA ITS1 sequence. *Journal of fish biology*, 68(A), 24-35.
- Cohen, N. J., Deeds, J. R., Wong, E. S., Hanner, R. H., Yancy, H. F., White, K. D., ... & Gerber, S. I. (2009). Public health response to puffer fish (tetrodotoxin) poisoning from mislabeled product. *Journal of Food Protection*, 72(4), 810-817.
- Council Regulation, (1992). COUNCIL REGULATION (EEC) No 1536/92 of 9 June 1992 laying down common marketing standards for preserved tuna and bonito. *Official Journal of the European Communities*. Disponível em: <https://www.legislation.gov.uk/eur/1992/1536/annex?view=plain> Acesso em: 07/05/2022).
- Elbrecht, V., & Leese, F. (2015). Can DNA-based ecosystem assessments quantify species abundance? Testing primer bias and biomass—sequence relationships with an innovative metabarcoding protocol. *PloS one*, 10(7), e0130324.
- Ford, M. J., Hempelmann, J., Hanson, M. B., Ayres, K. L., Baird, R. W., Emmons, C. K., ... & Park, L. K. (2016). Estimation of a killer whale (*Orcinus orca*) population's diet using sequencing analysis of DNA from feces. *Plos one*, 11(1), e0144956.
- Giusti, A., Armani, A., & Sotelo, C. G. (2017). Advances in the analysis of complex food matrices: Species identification in surimi-based products using Next Generation Sequencing technologies. *PloS one*, 12(10), e0185586.
- Ji, Y., Huotari, T., Roslin, T., Schmidt, N. M., Wang, J., Yu, D. W., & Ovaskainen, O. (2020). SPIKEPIPE: A metagenomic pipeline for the accurate quantification of eukaryotic species occurrences and intraspecific abundance change using DNA barcodes or mitogenomes. *Molecular Ecology Resources*, 20(1), 256-267.
- Kappel, K., Haase, I., Käppel, C., Sotelo, C. G., & Schröder, U. (2017). Species identification in mixed tuna samples with next-generation sequencing targeting two short cytochrome b gene fragments. *Food chemistry*, 234, 212-219.

- Kimmerling, N., Zuqert, O., Amitai, G., Gurevich, T., Armoza-Zvuloni, R., Kolesnikov, I., ... & Sorek, R. (2018). Quantitative species-level ecology of reef fish larvae via metabarcoding. *Nature ecology & evolution*, 2(2), 306-316.
- Lucena Frédou, F., Tolotti, M. T., Frédou, T., Carvalho, F., Hazin, H., Burgess, G., ... & Hazin, F. H. V. (2015). Sharks caught by the Brazilian tuna longline fleet: an overview. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 25(2), 365-377.
- McLaren, M. R., Willis, A. D., & Callahan, B. J. (2019). Consistent and correctable bias in metagenomic sequencing experiments. *Elife*, 8, e46923.
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, 8(4), e61217.
- Pappalardo, A. M., Raffa, A., Calogero, G. S., & Ferrito, V. (2021). Geographic pattern of sushi product misdescription in Italy—A crosstalk between citizen science and DNA barcoding. *Foods*, 10(4), 756.
- Pawluczyk, M., Weiss, J., Links, M. G., Egaña Aranguren, M., Wilkinson, M. D., & Egea-Cortines, M. (2015). Quantitative evaluation of bias in PCR amplification and next-generation sequencing derived from metabarcoding samples. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 407(7), 1841-1848.
- Piredda, R., Mottola, A., Cipriano, G., Carlucci, R., Ciccarese, G., & Di Pinto, A. (2022). Next generation sequencing (NGS) approach applied to species identification in mixed processed seafood products. *Food Control*, 133, 108590.
- Pollack, S. J., Kawalek, M. D., Williams-Hill, D. M., & Hellberg, R. S. (2018). Evaluation of DNA barcoding methodologies for the identification of fish species in cooked products. *Food Control*, 84, 297-304.
- Quinto, C. A., Tinoco, R., & Hellberg, R. S. (2016). DNA barcoding reveals mislabeling of game meat species on the US commercial market. *Food Control*, 59, 386-392.
- Roungchun, J. B., Tabb, A. M., & Hellberg, R. S. (2022). Identification of tuna species in raw and processed products using DNA mini-barcoding of the mitochondrial control region. *Food Control*, 134, 108752.

- Salomão, K. 2016. Como se faz a sardinha e o atum em lata da Gomes da Costa. Exame. Disponível em: [<https://exame.com/negocios/como-se-faz-a-sardinha-e-o-atum-em-lata-da-gomes-da-costa/>]. Acesso em: 27/07/2022.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*, 74(12), 5463-5467.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors—occurrence, properties and removal. *Journal of applied microbiology*, 113(5), 1014-1026.
- Sellers, G. S., Di Muri, C., Gómez, A., & Hänfling, B. (2018). Mu-DNA: a modular universal DNA extraction method adaptable for a wide range of sample types. *Metabarcoding and Metagenomics*, 2, e24556.
- Shokralla, S., Hellberg, R. S., Handy, S. M., King, I., & Hajibabaei, M. (2015). A DNA mini-barcoding system for authentication of processed fish products. *Scientific Reports*, 5(1), 1-11.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L., & Coissac, E. (2018). *Environmental DNA: For biodiversity research and monitoring*. Oxford University Press.
- Travin, V. I. (1951). New species of the sea bass in Barents sea (*Sebastes mentella* Travin sp. nov.). *Doklady Akademii nauk SSSR*, 77(4), 741-744
- Vandamme, S. G., Griffiths, A.M., Taylor, S.A., Di Muri, C., Hankard, E.A., Towne, J.A., Watson, M., Mariani, S., 2016. Sushi barcoding in the UK: another kettle of fish. *PeerJ*, 4, e1891.
- Vinãs, J., & Tudela, S. (2009). A validated methodology for genetic identification of tuna species (genus *Thunnus*). *Plos one*, 4(10), e7606.
- Wei, T., Lu, G., & Clover, G. (2008). Novel approaches to mitigate primer interaction and eliminate inhibitors in multiplex PCR, demonstrated using an assay for detection of three strawberry viruses. *Journal of Virological Methods*, 151(1), 132-139.
- Zhou, X., Li, Y., Liu, S., Yang, Q., Su, X. U., Zhou, L., ... & Huang, Q. (2013). Ultra-deep sequencing enables high-fidelity recovery of biodiversity for bulk arthropod samples without PCR amplification. *Gigascience*, 2(1), 2047-217X

## 7.MATERIAL SUPLEMENTAR – C

**Tabela S1** – Informações das amostras utilizadas para as análises Liquidificação x Amostras Inteiras e *Mock Community* (destacadas em negrito).

<b>Lata</b>	<b>Descrição</b>	<b>Marca</b>	<b>Local de compra</b>	<b>Área de captura (informação do rótulo)</b>
64	Atum em salmoura	B4	Reino Unido	FAO71. Produto das Filipinas
67	Atum sólido em óleo de girassol	B5	Reino Unido	FAO 51, 57, 61, 71, 77, 81. Produto da Tailândia
68	Carne de atum em óleo vegetal com pimenta	B6	Reino Unido	Produto da Tailândia
78	Pedaços de atum em óleo de girassol	B7	Reino Unido	Oceano Índico
80	Pedaços de atum em salmoura	B7	Reino Unido	Oceano Índico
83	Pedaços de atum em óleo apimentado	B8	Reino Unido	Tailândia
89	Pedaços de atum com óleo vegetal	B9	Reino Unido	Tailândia. FAO 071
92	Atum em óleo de girassol	B10	Reino Unido	FAO 41,47,51,57,71,77,87
93	Atum em óleo de girassol	B10	Reino Unido	FAO 41,47,51,57,71,77,87
94	Atum em óleo de girassol	B10	Reino Unido	FAO 41,47,51,57,71,77,87
95	Atum Ralado em óleo	B2	Brasil	-
96	Atum ralado ao natural	B2	Brasil	-
97	Atum ralado em óleo	B1	Brasil	-
101	Atum em pedaços em óleo	B1	Brasil	-
104	Atum ralado em óleo	B2	Brasil	-

106	Atum ralado em óleo	B1	Brasil	-
115	Atum ralado ao natural	B2	Brasil	-
116	Atum ralado ao natural	B2	Brasil	-
117	Atum ralado ao natural em água	B1	Brasil	-
151	Atum em água	B3	Noruega	FAO51 Oceano Índico
152	Atum em óleo	B3	Noruega	FAO51 Oceano Índico. FAO 71,77 e 81 Oceano Pacífico
<b>MCT01</b>	Atum	-	Reino Unido	-
<b>MCT02</b>	Atum	-	Reino Unido	-
<b>MCT03</b>	Atum	-	Reino Unido	-
<b>MCS07</b>	Sardinhas	-	Reino Unido	-
<b>MCS08</b>	Sardinhas	-	Reino Unido	-
<b>MCS09</b>	Sardinhas	-	Reino Unido	-
<b>MCM10</b>	Cavala	-	Reino Unido	-
<b>MCM11</b>	Cavala	-	Reino Unido	-
<b>MCM12</b>	Cavala	-	Reino Unido	-

---



## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PRODUÇÕES FUTURAS

### 8.1 CONCLUSÃO GERAL

O presente estudo revela que a ocorrência de fraude de substituição ilegal em produtos de pescado é facilitada por fatores, como:

- 1) O nível de conhecimento do consumidor (alfabetização do pescado), tendo em vista que 70% dos entrevistados em 6 países da Europa não souberam identificar os peixes que consomem através das imagens dos peixes inteiros. Existindo uma associação cultural relacionada as tradições culinárias que influenciaram os acertos desta pesquisa. Isso revela uma perda da conexão dos consumidores com os produtos em sua forma original (natural), uma vez que as tendências de mercado estão pressionando para consumo de produtos processados. É preciso continuar a educar os consumidores, fornecer acesso a informações que auxiliem na escolha dos pescados processados ou *in natura*, para que evitem produtos fraudados ou vendas oportunistas. Essa responsabilidade não deve ser somente de ONGs, mas em conjunto com pesquisadores, governo e sociedade. Essa preocupação não deveria, no entanto, ser limitada somente ao prejuízo financeiro sofrido pelo consumidor, uma vez que essa prática ilegal tem efeitos negativos nos estoques pesqueiros, na economia do país e na saúde dos consumidores;
- 2) A abrangência ou frequência da fiscalização nos estabelecimentos. Onde estabelecimentos menos fiscalizados tem uma tendência maior de substituir espécie (fraude) na venda de pescados. Nossos dados também revelam diversos fatores que influenciam a probabilidade de aumentos de preço associadas a fraude, incluindo o nome do produto, a certificação pelo Sistema de Inspeção Federal (SIF) e o tipo de *mislabelling*. É necessário que os órgãos fiscalizadores no Brasil incluam todos os

tipos de estabelecimentos em suas rotas de fiscalização e não se restrinja somente aos supermercados e produtos certificados.

- 3) O processamento de produtos de pescado. Onde há necessidade do uso de ferramentas moleculares para identificação e quantificação de biomassa de espécies. Concluimos que devemos levar em consideração as limitações das técnicas moleculares na quantificação de espécies em produtos processados com múltiplas espécies, para que se evite erros de interpretação de resultados devido a ocorrência de vieses. Apesar dos vieses limitarem a interpretação de dados de *metabarcoding* para fiscalização de quantidade de espécies corretas em amostras mistas de pescado, a técnica é útil para detecção de elementos traços que podem ter influência na saúde pública devido a mistura de toxinas ou alérgenos. Pois aqui vimos que a forma de preparo da amostra para identificação da presença de traços de espécies em produtos processados pode ser fator determinante para a captura de DNA de espécies presentes em menores quantidades.

Assim, o presente estudo fornece dados quantitativos e qualitativos relevantes que podem auxiliar na melhoria da inspeção do comércio de pescados, e sugere que medidas como educação/conscientização dos consumidores e fiscalização em estabelecimentos de pequeno porte sejam mais efetivas quando ao comércio de pescados.

## 8.2 PRÓXIMOS PASSOS

Devido ao grande volume de dados moleculares produzidos neste estudo e ao tempo que foi limitado por situações pessoais e pela pandemia, algumas análises de dados estão previstas para acontecer posteriormente à conclusão da tese para produzir outros artigos. Essas análises são referentes ao uso do DNA *metabarcoding* como uma ferramenta na autenticação e monitoramento de produtos de pescados processados. Esta pesquisa será submetida para publicação o quanto antes possível. Veja a seguir, uma prévia do conteúdo desta pesquisa, destacando em tópicos os principais pontos que serão abordados.

## 8.3 PUBLICAÇÃO FUTURA

Estrutura do quarto manuscrito a ser submetido (em produção):

### **“DNA metabarcoding como ferramenta para rastreamento global do comércio de pescado altamente processado”**

- **INTRODUÇÃO**
  - Importância do pescado: produção, economia;
  - Atum enlatado: peixe mais valioso do mundo, globalmente comercializado, economicamente importante. Brasil X Europa
  - *Mislabelling* (fraude) em pescado de forma geral
  - Identificação de fraude: produtos gerais e produtos processados >> atum enlatado
  - Ferramenta molecular >> NGS
  - Objetivos
  
- **MATERIAL E MÉTODOS**
  - Amostragem (> 200 latas amostradas)
  - Informações dos produtos (tabela em Anéxo)
  - Passos moleculares (Primer, extração de DNA e PCR)
  - Preparação da biblioteca NGS
  - Bioinformática
  - Análise de dados

- RESULTADOS

- Total de ASVs por OTU e qualidade das sequências
- Características dos ASVs por espécies identificadas por região de amostragem e fonte
- Gráficos e tabelas
- Brasil x Europa com taxas de associação regional (considerando > 200 amostras)
- Comparação entre marcas importadas e marcas locais

- DISCUSSÃO

- Identificação de espécies
- NGS como ferramenta molecular para rastrear pescado processado
- Limitações do NGS >> baixa especificidade para espécies próximas dependendo do marcador
- Padrão de *mislabelling* em produtos Brasil x Europa (muito mais amostras que no capítulo 3 dessa tese)
- Implicações entre produtos Importados x locais >> IUU
- Leis e regulamentações sobre rastreabilidade de pescado importado e rotulagem no Brasil e Europa.
- Ações do governo
- Sugestões