



UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL



INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Fernanda Almerón de Souza

**Identificação molecular de espécies comercializadas como “peixe
branco” em restaurantes de sushi de Porto Alegre, Brasil**

Porto Alegre
2019



Fernanda Almerón de Souza

Identificação molecular de espécies comercializadas como “peixe branco” em restaurantes de sushi de Porto Alegre, Brasil

Dissertação a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Biodiversidade

Orientador: Prof. Dr. Nelson Jurandi Rosa Fagundes

Porto Alegre
2019

Fernanda Almerón de Souza

Identificação molecular de espécies comercializadas como “peixe branco” em restaurantes de sushi de Porto Alegre, Brasil

Aprovada em ____ de _____ de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Filipe Michels Bianchi (PPGBAN-UFRGS)

Dra. Lilian Viana Teixeira (Esc. Veterinária - UFMG)

Dr. Eduardo Eizirik (Fac. Biociências – PUCRS)

*Dedico este trabalho à minha avó Maria
da Glória Vaz Almerón que sempre
incentivou e valorizou o estudo.*

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que estiveram de alguma forma envolvida com este trabalho, principalmente:

À minha família Ezequiel Bernasconi, Elieser Oliveira, Romeu Almerón e Irene Nicoleit e, especialmente, à minha mãe Fátima Almerón e ao meu pai Edison Pereira. Com vocês aprendi o valor da liberdade. Se hoje estou onde estou, no curso que estou e escrevi essa dissertação é porque vocês sempre me apoiaram. Sou privilegiada por tudo que vocês me proveram materialmente que me permitiu estar aqui, mas mais ainda pelo amor e dedicação que vocês tiveram comigo. Obrigada por sempre terem acreditado em mim. E, além de tudo isso, obrigada aos meus pais pelo apoio financeiro a essa pesquisa. Sem vocês (e o Nelson) esse trabalho não seria possível de ser concretizado.

Ao Ezequiel Bernasconi (Quiel) por ter sido um grande apoio nos momentos difíceis que passamos e, também, por ter me feito praticar e aprimorar a arte da paciência.

À Maristela Vaz Almerón, por sempre ter apoiado meus estudos e ter acreditado em mim.

Ao meu orientador Nelson Jurandi Rosa Fagundes que, apesar de não responder às minhas mensagens, foi (e continuará sendo) um ótimo orientador. Te agradeço imensamente por algo muito valioso que não se encontra por aí: a escolha de realizar uma pesquisa em que se acredita. Tu não tens medo de entrar na barca, por mais esquizofrênica que ela seja. Tua curiosidade e amor pela ciência são evidentes e isso faz com que seja muito empolgante trabalhar contigo. Te admiro muito por isso. Obrigada por tudo.

Ao pessoal do lab 113 pelos auxílios, ideias e apoio moral, principalmente, quando o PCR não dava certo.

A todos os meus professores e professoras da vida que me auxiliaram a trilhar o caminho até aqui.

Às professoras e colegas do técnico em química (Cabritinhos) que me apoiaram através da compreensão, pensamentos positivos e ajuda neste momento.

À banca de acompanhamento Filipe Michels e Luiz Malabarba pelo entusiasmo e pelos comentários produtivos que agregaram a este trabalho.

Aos membros da banca examinadora Filipe Michels Bianchi, Lilian Viana Teixeira e Eduardo Eizirik por aceitarem avaliar e contribuir com este trabalho.

À UFRGS, à CAPES e, principalmente, ao PPGBAN que tornaram este trabalho possível.

Às pessoas que também coletaram amostras para este trabalho: Carolina Roos, Cristhine Borges, Luana Bauer e Deiverson Merlo.

A todos os amigos que foram de extrema importância nos momentos de desespero (sempre tem), me levando a lugares mais tranquilos, divertidos e felizes da mente. Em especial Pedro Pezzi, Nicole Molle, Philip Oysten, Artur Rocha, Natalia Bitello e Paulo Salatino. Além destes, gostaria de agradecer a uma pessoa que mesmo muito distante, está sempre comigo, a Valentina Caorsi, que me trouxe muita positividade e carinho durante esse período do mestrado, sendo uma ótima amiga e um exemplo de pessoa e de profissional.

Falando em bons amigos, três pessoas foram especialmente importantes durante o mestrado e principalmente durante a escrita dessa dissertação:

O Leonardo Tresoldi (Léo), pelas alegrias e sofrimentos que compartilhamos durante esses dois anos de mestrado e por ser um parâmetro de dedicação, inteligência e criatividade. Sou muito grata e privilegiada por te ter na minha vida e poder contar com tuas opiniões e com tuas ideias. Tua paixão pela ciência me inspira. Obrigada por todo o apoio.

A Luana Bauer (Luti), por ser rigorosa, organizada, chaaata e uma amiga incrivelmente dedicada. Obrigada por me ensinar dia a dia o valor da amizade, nas aulas, na Piratuba, nos D43 lotados. Obrigada por me fazer sentar na cadeira e me obrigar a escrever, por ter ido fazer as coletas comigo e por me fazer comida enquanto eu escrevia essa dissertação. Como diria minha sábia mãe: existem formas diferentes de demonstrar amor e nem sempre é com palavras.

E o Deiverson Merlo (Deivs), que foi presente (e um presente) durante toda a minha vida acadêmica, onde quer que eu estivesse. Obrigada por me ajudar diretamente no mestrado, me levando para coletar amostras em todos os cantos de Porto Alegre (sério, TODOS), ligando para os locais (mesmo sem saber direito o que era para dizer), discutindo e revisando o conteúdo deste trabalho comigo inúmeras vezes. Obrigada por me ajudar indiretamente, me dando apoio nos momentos difíceis (vários, minha gente, vários!), por sempre me trazer calma, pensamentos positivos e alegria. Tu és muito importante e especial na minha vida. Obrigada por sempre ser o vento nas minhas costas e sempre acreditar em mim.

E por último gostaria de agradecer à Alexandra Elbakyan por ter propiciado a possibilidade desta pesquisa e por estar sempre lutando pelo acesso igualitário à informação científica.

Sumário

Lista de Figuras.....	1
Lista de Tabelas.....	2
Resumo.....	3
Abstract.....	4
1 Introdução.....	5
1.1 Utilização de nomenclaturas do tipo “guarda-chuva” e o nome “peixe branco”.....	6
1.2 Utilização do <i>DNA Barcoding</i> para a identificação de espécies.....	8
2 Material e Métodos.....	10
2.1 Coleta de dados.....	10
2.2 Extração de DNA, Amplificação por PCR e Sequenciamento.....	11
2.3 Análise das sequências e identificação das Espécies.....	11
2.4 Avaliação das espécies informadas pelos restaurantes.....	12
3 Resultados e Discussão.....	14
3.1 Coleta de Dados.....	14
3.2 Identificação Molecular das espécies.....	16
3.3 Avaliação das identificações informadas no ato da compra.....	19
3.4 Problemas em relação aos peixes encontrados.....	27
3.4.1 Aspectos de Saúde e Nutricionais.....	27
3.4.2 Aspectos Ambientais.....	29
3.4.3 Aspectos Econômicos.....	29
3.4.4 Aspectos Religiosos.....	30
3.5 Considerações finais.....	31
Referências.....	33
APÊNDICE.....	41

Lista de Figuras

- Figura 1.** Amostra de “peixe-branco” (vendido em *niguirí*) informada pelo restaurante como Meca, destacando o tom rosado da carne 15
- Figura 2.** Amostra de “peixe-branco” (vendido em *niguirí*) informada pelo restaurante como Prego, destacando o tom branco da carne 16
- Figura 3.** Identificação da amostra 48 (*sample 48*) informada como Pargo. Árvore de neighbor-joining com distância Kimura-2-Parâmetros para sequências de COI de aproximadamente 650pb. A confiança dos agrupamentos foi estimada com 1000 replicações de bootstrap. Apenas valores de bootstrap acima de 80% são mostrados na figura..... 18
- Figura 4.** Relação entre identificação corretas/incorretas para cada nome popular informado pelo restaurante22
- Figura 5.** *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) - conhecido popularmente como Panga23
- Figura 6.** *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) - conhecido popularmente como Linguado23
- Figura 7.** *Xiphias gladius* Linnaeus, 1758 - conhecido popularmente como Meca24
- Figura 8.** *Lepidocybium flavobrunneum* (Smith, 1843) - conhecido popularmente como Prego24

Lista de Tabelas

Tabela 1. Relação entre os nomes populares e científicos de acordo com a Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015 para as espécies relevantes para o presente estudo20

Tabela 2. Relação entre o nome informado pelos restaurantes e a identificação molecular após buscas em dois bancos de dados21

Resumo

Com a globalização, a culinária japonesa se popularizou ao redor do mundo, sendo o sushi o seu prato mais emblemático. O Brasil seguiu essa tendência, havendo um aumento na procura por estabelecimentos que tenham sushi em seu cardápio. Estudos ao redor do mundo têm evidenciado que os nomes comerciais de pescado costumam ser genéricos e ambíguos, criando barreiras para que os consumidores possam tomar decisões informadas no momento da compra. A identificação inapropriada tem trazido muitos problemas em relação à venda de pescado, já que diversas vezes as carnes de peixes são comercializadas filetadas, dificultando a identificação taxonômica da espécie comercializada. A nomenclatura “peixe branco” é recorrente em restaurantes de culinária japonesa no Brasil, abrindo espaço para confusões uma vez que informa ao consumidor, apenas, que se trata de um peixe de carne branca. Desta forma, o presente estudo buscou identificar as espécies que estão vendidas como “peixe branco” nos restaurantes de sushi da cidade de Porto Alegre, comparando o nome popular da espécie de peixe informado no ato da compra com a identificação molecular da espécie por meio da técnica de *DNA Barcoding*. Do total de 124 restaurantes consultados na cidade, 63 locais informaram possuir sushi de “peixe branco” em seu cardápio. Destes, 53 amostras de “peixe branco” dos tipos *nigiri*, *sashimi* e *hosomaki* foram obtidas de 50 restaurantes diferentes por compra direta. As 53 amostras de sushi de “peixe branco” coletadas foram informadas como 8 tipos de peixes diferentes: Prego, Linguado, Tilápia, Meca, Olhete, Namorado, Dourado e Pargo, sendo a grande maioria informada como Prego. Foi possível amplificar e sequenciar 41 amostras com sucesso e todas as sequências obtidas exibiram entre 99% e 100% de identidade e similaridade com seu respectivo melhor resultado em ambos bancos de dados consultados: GenBank–*blast* e BOLD–*Identification System*. Do total, 32 amostras foram identificadas de maneira não-ambígua em nove espécies diferentes de peixes ósseos, e sete amostras foram identificadas em nível de gênero. Duas amostras amplificaram o gene homólogo em uma bactéria, sugerindo algum grau de contaminação nas amostras. Os resultados da identificação molecular foram então utilizados para verificar a informação declarada pelos restaurantes. Para oito amostras a espécie identificada não coincidiu com a informação de compra. A taxa de identificação incorreta encontrada neste estudo foi de 20,5%. Ou seja, na cidade de Porto Alegre, um de cada cinco restaurantes de sushi informou incorretamente qual o peixe que está sendo vendido como “peixe branco”.

Palavras-chave: Sushi. *DNA Barcode*. Identificação molecular. Restaurantes. Brasil. Peixe branco.

Abstract

Following globalization, Japanese cuisine has become popular throughout the world, with sushi being its most emblematic plate. Brazil accompanied this trend, with an increasing interest for places serving sushi in their menus. Studies around the world have shown that the commercial names for fishery products are usually generic and ambiguous, making it difficult for consumers to take informed decisions during purchase. Inappropriate identification has brought many problems to fish trade, since, usually, fish meat is sold in fillets, which complicates proper taxonomic identification of the species being sold. “White fish” is a common nomenclature used by Japanese cuisine restaurants in Brazil, opening the door for confusion, since it only informs that the fish has white flesh. In this study we aimed at identifying the species being sold under the name of “white fish” in sushi restaurants in the city of Porto Alegre, by comparing the species’ common name informed on the act of purchase with the molecular identification of the species based on the *DNA Barcoding* technique. From a total of 124 establishments consulted in the city, 63 informed to have “white fish” sushi. From those, 53 samples of “white fish” *nigiri*, *sashimi* and *hosomaki* were obtained from 50 different restaurants by direct purchase. The 53 sushi samples collected were informed to belong to eight different fishes: Prego, Linguado, Tilápia, Meca, Olhete, Namorado, Dourado and Pargo, being Prego the most common. 41 samples were successfully amplified and sequenced, showing between 99% and 100% of identity and similarity with its respective best results on both databases used for species identification: GenBank–*blast* and BOLD–Identification System. In total, 32 samples were unambiguously identified in nine different species of bony fishes, and seven samples were identified at the genus level. For two samples, the homologous bacterial gene was amplified, suggesting some contamination in the samples. For eight samples, the species identified using molecular techniques did not match with the information provided by the establishment. Incorrect identification rate found on this study was of 20,5%. This means that, in the city of Porto Alegre, one in every five sushi places informed incorrectly about the fish being sold as “white fish”.

Keywords: Sushi. *DNA Barcode*. Molecular identification. Restaurants. Brazil. White fish.

1 Introdução

A carne de pescado é um alimento economicamente muito importante e é considerada uma das *commodities* mais comercializadas no mundo (FAO, 2018). Em média, a produção aquícola e pesqueira mundial cresceu 3,2% ao ano nas últimas décadas, e existe a tendência de que a demanda por peixes continue aumentando (FAO, 2018). O grande problema é que a pesca exploratória em larga escala, desprovida de medidas de conservação apropriadas, tem diminuído expressivamente as populações de peixes (FAO, 2018). Desta forma, há uma oscilação na qualidade do peixe, na disponibilidade de recurso, na oferta e na demanda, levando a uma instabilidade nos preços de mercado (Hellberg & Morrissey, 2011). Assim, um conjunto de fatores tais como o aumento internacional do consumo de peixes e a intensificação da produção de alimentos processados, somados às diferenças de preços entre pescado de espécies diferentes, acabam por criar um ambiente altamente suscetível a uma fraude econômica frequente na indústria alimentícia em geral, e no setor pesqueiro em particular: a substituição de espécies (Hellberg & Morrissey, 2011).

Aspectos como a globalização e a miscigenação fizeram com que culturas culinárias, antigamente limitadas aos seus locais de origem, alcançassem outras regiões do mundo e fossem introduzidas a povos estrangeiros (Rocha, Rial & Hellebrandt, 2013). A culinária japonesa, por exemplo, popularizou-se ao redor do mundo, tendo o sushi como seu prato mais emblemático (Kato *et al.*, 2016). O sushi é comumente feito à base de arroz japonês, alga marinha e pescado cru (Mouta *et al.*, 2014; Portaria SMS Nº 1109/2016). Este prato vem ganhando espaço em outros países, inclusive na América Latina (Santos *et al.*, 2012). No Brasil há um aumento na procura por restaurantes que incluem sushi em seu cardápio, tornando esse prato cada vez mais popular e atraindo até mesmo consumidores que não apreciavam a carne de peixe (Santos *et al.*, 2012; Kato *et al.*, 2016).

Tradicionalmente, os japoneses costumam utilizar uma grande variedade de peixes para o preparo de sushi (Quaas & Requate, 2013). Porém, no Brasil o consumo em restaurantes japoneses está frequentemente restrito aos tipos: atum, salmão e “peixe branco” (Quaas & Requate, 2013). De acordo com a Instrução

Normativa Brasileira do MAPA nº 29 de 23 de setembro de 2015 o nome vernacular “atum” corresponde a oito espécies diferentes de peixe, e “salmão” corresponde a seis espécies. No entanto, não está incluído na Instrução Normativa o nome vernacular "peixe branco", ou seja, não existe relação oficial entre esta nomenclatura e o(s) respectivo(s) nome(s) científico(s) das espécies. Dessa forma, entende-se que qualquer espécie de peixe que apresenta uma carne relativamente branca pode vir a ser vendida como “peixe branco”.

1.1 Utilização de nomenclaturas do tipo “guarda-chuva” e o nome “peixe branco”

Estudos têm evidenciado que os nomes comerciais de pescado costumam ser genéricos e ambíguos, o que cria barreiras para que informações confiáveis cheguem ao consumidor (Xiong *et al.*, 2016). É frequente o uso de nomenclaturas do tipo “guarda-chuva”, que agrupam uma variedade de espécies sob mesma terminologia (Cawthorn, Baillie & Mariani, 2018). Um termo “guarda-chuva” amplamente utilizado pelo setor pesqueiro no Brasil é “caçã”, que se pode se referir a qualquer espécie de elasmobrânquio - ainda que, na prática, mesmo espécies de peixes ósseos acabem comercializadas sob esse nome (Almerón *et al.* 2018). Além disso, nomes de peixes habitualmente consumidos como Atum, Salmão, Tilápia, Linguado e Prego sinonimizam espécies distintas, e que em alguns casos pertencem até mesmo a gêneros taxonômicos diferentes, como por exemplo o Prego que é referente tanto a *Lepidocybium flavobrunneum* (Smith, 1843) quanto a *Ruvettus pretiosus* Cocco, 1833 (Instrução Normativa Brasileira do Mapa nº29/2015).

Segundo Lowenstein, Amato & Kolokotronis (2009), “um pedaço de sushi tem o potencial de ser uma espécie ameaçada, uma fraude ou um perigo à saúde”. Essa declaração é corroborada por diversos estudos ao redor do mundo que evidenciam como a troca de espécies de peixes pode estar associada a uma série de consequências negativas, como, por exemplo, aspectos de saúde pública. A substituição de espécies de peixes pode trazer diversos problemas de saúde em razão de alergias específicas a alguns tipos de peixes (Sicherer *et al.*, 2004), do uso de antibióticos e outros compostos na aquicultura (Sapkota *et al.*,

2008; Santos, 2019), da quantidade de metais pesados comumente presentes em algumas espécies (Sapkota *et al.*, 2008, Filonzi *et al.*, 2010) e de efeitos gastrointestinais causados pela ingestão de certos peixes (Caballero-Mateos, Sánchez-Capilla & Redondo-Cerezo, 2018). Outras possíveis consequências negativas seriam questões relacionadas a problemas nutricionais, uma vez que alguns peixes são recomendados para certos tipos de alimentação por conter uma quantidade maior ou menor de gordura (Scheer *et al.*, 2014).

Além dos problemas relacionados diretamente à saúde dos consumidores, a identificação errônea de espécies de peixes viabiliza que problemas ambientais, econômicos e religiosos ocorram. Rotulagens incorretas facilitam a troca por espécies ameaçadas ou em baixo estoque (Willette *et al.*, 2017), a troca de peixes mais caros por peixes mais baratos (Pardo *et al.*, 2018); ou até mesmo a troca de peixes *kosher* por outros que não são (Blech, 2009).

No caso do “peixe branco”, o problema é um pouco mais grave em comparação a nomes “guarda-chuva” comuns. Além de essa nomenclatura não ser legalmente estabelecida na Instrução Normativa Brasileira, essa denominação permite não somente que um grupo semelhante de peixes seja vendido sob o mesmo nome, mas abre espaço para grandes confusões uma vez que informa ao consumidor, apenas, que se trata de um peixe de carne branca, permitindo a comercialização de qualquer espécie que atenda a essa característica (Vandamme *et al.*, 2016). Além de averiguar a denominação de outros peixes de nomenclatura conhecida, Vandamme *et al.* (2016) discutem em especial a identificação de “peixe branco”, pois relatam que a identificação de peixes apenas através da coloração branca da carne é impossível, tratando-se de um método completamente arbitrário.

De fato, a identificação inapropriada traz muitos problemas em relação à venda de pescado, já que diversas vezes as carnes de peixes são comercializadas filetadas e não fica evidente qual espécie está sendo adquirida (Bornatowski *et al.*, 2015; Almerón *et al.*, 2018). No caso do sushi, isto é praticamente uma regra, pois a carne do peixe é cortada em pedaços (*sashimi*: cortado/fatiado), anulando as chances de quem consome identificar de qual espécie de peixe se trata, uma vez que a identificação das espécies

comercializadas são majoritariamente feitas pela identificação empírica que utiliza a morfologia externa dos animais quando pescados (Vandamme *et al.*, 2016).

1.2 Utilização do *DNA Barcoding* para a identificação de espécies

A identificação de espécies de peixes depende, em sua forma tradicional, de caracteres morfológicos externos e do espécime inteiro, tornando impraticável a identificação acurada da espécie a partir de filés ou outras partes do animal (Decru *et al.*, 2015). Quando os peixes são comercializados em pedaços, como no caso de peixes de sushi, substituições acidentais ou intencionais são passíveis de ocorrer com maior frequência (Cawthorn, Steinmann & Witthuhn, 2012; Galimberti *et al.*, 2013; Galal-Khallaf *et al.*, 2014), tornando fundamentais as ferramentas de identificação baseadas em métodos moleculares.

O *DNA Barcoding* - “código de barras de DNA” - é uma ferramenta molecular utilizada para a identificação de um espécime a partir de um pequeno fragmento do DNA de uma região padronizada do genoma (Hebert *et al.*, 2003). Em animais, a região “padrão” é um trecho de cerca de 650 pares de bases (pb) da extremidade 5’ do gene mitocondrial *Citocromo Oxidase Subunidade I* (*COI* ou *Cox I*) (Meyer & Paulay, 2005; Hajibabaei *et al.*, 2007). Apoiada em um robusto banco de dados de sequências genéticas apropriadamente identificadas (www.boldsystems.org), esta técnica molecular possui inúmeras vantagens como velocidade, eficiência e objetividade na identificação de táxons, além de permitir a identificação a partir de pedaços de tecidos ou restos de material biológico (Meyer & Paulay, 2005).

Essa ferramenta tem sido muito utilizada na identificação de peixes de sushi em outros países, permitindo encontrar substituições fraudulentas ou erros de rotulagem em vários locais como Américas do Norte e Sul, Europa e Ásia. Um dos primeiros estudos que utilizou o *DNA Barcoding* para identificação de peixes de sushi foi realizado por Wong & Hanner (2008), e foi amplamente divulgado pela imprensa ao revelar um alto número de substituições de peixes em restaurantes de sushi de Nova Iorque. Outros estudos seguiram sendo publicados, revelando taxas de substituição de 10% no Reino Unido (Vandamme *et al.*, 2016), de 17% em rotulagens em chinês e de 26% em rotulagens em inglês em Hong Kong (But,

Wu & Shaw, 2019), uma taxa baixa de 3,4% na Itália (Armani *et al.*, 2017) e uma taxa relativamente alta de substituição de 26% em Minas Gerais, Brasil (Carvalho *et al.*, 2011). Além disso, órgãos com função de regulamentação de comida como a *Food and Drug Administration* (FDA), nos Estados Unidos, também já utilizam o *DNA Barcoding* para identificar amostras de peixe fraudadas (Handy *et al.*, 2011). Além do mais, existem evidências de que restaurantes e locais que comercializam sushi costumam ter mais erros de identificação em comparação a peixarias e supermercados (Jacquet & Pauly, 2008; Lowenstein, Amato & Kolokotronis, 2009; Cline, 2012; Warner *et al.*, 2015; Bénard-Capelle *et al.*, 2015; Vandamme *et al.*, 2016).

Dessa forma, o presente estudo tem por objetivo identificar quais espécies estão sendo vendidas como “peixe branco” nos restaurantes de sushi da cidade de Porto Alegre por meio da técnica de *DNA Barcoding*, além de averiguar se o nome comum do peixe informado no ato da compra corresponde à espécie encontrada.

2 Material e Métodos

2.1 Coleta de Dados

Um total de 53 amostras de “peixe branco” foram obtidas em 50 restaurantes de sushi da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil entre fevereiro e junho de 2019. Foi realizado o levantamento dos restaurantes de sushi por meio de pesquisa na internet, juntamente com uma busca nos aplicativos de entrega *Rappi*, *UberEats* e *iFood*, filtrados com as palavras “peixe branco” e “sushi branco”. Constatada a disponibilidade de “peixe branco” no menu do restaurante, foi realizada uma ligação para cada um dos locais selecionados para perguntar qual a espécie de peixe utilizada para fazer o sushi de “peixe branco”, assim como para pedir para que as peças de sushi de “peixe branco” não viessem acompanhadas de limão, gengibre ou raiz forte, minimizando o contato da carne com componentes que poderiam dificultar o processo de identificação molecular. Praticamente todos os restaurantes da cidade de Porto Alegre foram consultados para garantir que a amostragem fosse ampla e representativa, cobrindo diferentes bairros da cidade e estabelecimentos de diversas faixas de preço.

Foram registrados os nomes comuns dos peixes informados no ato da compra, assim como o preço por peça de sushi, a data de coleta e o nome do restaurante para posteriores análises. Informações sobre os fornecedores de peixe apenas foram solicitadas a restaurantes cujas amostras foram posteriormente identificadas com informação de compra incorreta.

As amostras consistiram em peças de sushi de “peixe branco” dos tipos *nigiri*, *sashimi* e *hosomaki*. Nos casos das peças de *nigiri* e *hosomaki* o arroz foi retirado antes do congelamento da carne a -4°C . Um fragmento de tecido (cerca de 25 μg) foi removido da parte interna de cada amostra, a fim de minimizar a chance de contaminação devido a manipulação e/ou compartilhamento da faca para cortar diferentes tipos de peixe no restaurante, sendo posteriormente armazenado em etanol 95%.

Todas as amostras foram compradas sem informar aos restaurantes o propósito do estudo para evitar algum viés durante a coleta. Além disso, os nomes dos restaurantes coletados, bem como dos fornecedores informados não serão divulgados neste estudo. É importante ressaltar que não é possível afirmar (nem é

o objetivo do trabalho) que os erros de identificação foram ou não intencionais, nem em que momento da cadeia produtiva houve o erro de identificação, se na compra pelo fornecedor, pelo restaurante ou pelo consumidor final.

2.2 Extração de DNA, Amplificação por PCR e Sequenciamento

As amostras foram descongeladas e em seguida maceradas. A extração do DNA foi realizada através do método *CTAB* (Doyle, 1987). O controle de qualidade da extração foi realizado por meio de espectrofotômetro NanoDrop 8000, pela quantificação da concentração e a pureza do DNA das amostras.

As amplificações foram realizadas por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando os pares de *primers* específicos para “peixes” FishF2-5’TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC3’ e FishR2-5’ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA3’ (Ward *et al.* 2005), desenhados para amplificar um fragmento de aproximadamente 650 pb do gene mitocondrial *COI*. A reação de PCR foi realizada com 0,4μM de cada dNTP, 1,5mM de MgCl₂, 0,25μM de cada *primer*, 1U de Taq polimerase, e 40ng de DNA, em um volume final de 20μL de reação. A reação de amplificação ocorreu após uma desnaturação inicial a 94°C por 5min, seguida de 10 ciclos de 94°C por 1min, 55°C (diminuindo 0,5°C a cada ciclo) por 1min e 72°C por 1min e 30s, seguido de 30 ciclos adicionais de 94°C por 1min, 50°C por 1min e 72°C por 1min e 30s. Foi feito ainda um passo de extensão final por 5min a 72°C.

A qualidade do produto de PCR foi verificada por eletroforese em gel de agarose 1% corado com GelRed. O produto de PCR foi purificado enzimaticamente com exonuclease I e fosfatase alcalina de camarão (*ExoI* e *SAP*, respectivamente). O sequenciamento do DNA foi conduzido pela empresa ACTGene Análises Moleculares em ambas direções pelo método de Sanger.

2.3 Análise das sequências e identificação das Espécies

Utilizou-se o programa Geneious (<http://www.geneious.com/>) para inspecionar visualmente os cromatogramas, gerar as sequências de consenso e realizar a edição final das sequências. Para a identificação, foram utilizados os

bancos de dados BOLD Systems – *Public Record* e a ferramenta BLAST do GenBank. As sequências consenso resultantes foram utilizadas em pesquisas em ambos os bancos e a identificação foi determinada pelo GenBank com identidade acima de 99% e no BOLD com similaridade acima de 99%. Quando mais de uma espécie foi encontrada com identidade ou similaridade acima de 99%, ambas foram incluídas (Tabela 2). Para todas as amostras identificadas foram registradas tanto a sequência com a maior porcentagem de identidade, como a sequência com maior porcentagem de identidade do GenBank que possuía *voucher*, visando a tornar as identificações mais robustas. Além disso, foram incluídos somente alinhamentos de sequências correspondentes maiores que 600 pb.

Bancos de dados possuem sequências que podem estar identificadas incorretamente. Assim, optou-se por utilizar o banco de registros públicos do BOLD, por serem dados que passaram por uma curadoria mais rigorosa. O BIN também foi registrado (Tabela 2) para aumentar a acurácia da identificação.

Para a identificação da amostra informada como Pargo, foi construída uma árvore de *Neighbor-Joining* (NJ) (Saitou & Nei, 1980) no programa MEGA 7.0 (Kumar, Stecher & Tamura, 2016), utilizando o modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros (K2P), bem como a análise da matriz de distâncias K2P e distância-p par-a-par original. Foram incluídas todas as sequências depositadas diretamente no BOLD (i.e. foram descartadas as sequências do BOLD recuperadas a partir do GenBank) para todas as espécies associadas aos gêneros com alta similaridade genética pelas análises anteriores (*Chrysophrys*, *Oblada*, *Pagrus*, e *Sparus*), excluindo sequências curtas (<300pb). A confiança dos agrupamentos foi estimada a partir de 1000 réplicas de *bootstrap*.

2.4 Avaliação das espécies informadas pelos restaurantes

Para avaliar se o nome do peixe informado no ato da compra estava identificado corretamente, foi utilizada a lista de peixes de interesse comercial da Instrução Normativa do MAPA Nº 29/2015, que correlaciona os nomes comuns de peixes às respectivas espécies de peixes que podem ser comercializadas

segundo cada nome comum. Além disso, também foi utilizada a plataforma *FishBase*, para apoiar a identificação das espécies e comparar se os nomes vernaculares utilizados conforme a Instrução Normativa são os mesmos utilizados na área científica.

O termo “peixe-branco” não corresponde a nenhuma nomenclatura disposta na Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015, e, apesar de comumente utilizado em restaurantes de sushi, ele não foi adotado pela lista oficial de nomes comuns brasileiros. Por conta disso, esta nomenclatura, por si só, já se configura em uma identificação incorreta. Assim, foram considerados os nomes (populares) informados oralmente pelos estabelecimentos (por exemplo, “Prego”), uma vez que esses nomes constam na Instrução Normativa. A identificação foi considerada correta quando a espécie encontrada correspondeu às espécies permitidas de serem comercializadas segundo o nome comum informado pelo restaurante; e como identificação incorreta, quando a espécie encontrada não coincidiu com o nome comum informado pelo restaurante, sempre de acordo com o nome comum aceitável disposto na Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015.

3. Resultados e Discussão

3.1 Coleta de dados

Do total de 124 restaurantes consultados, somente 63 locais informaram possuir sushi de “peixe branco” em seu cardápio. Em 13 desses estabelecimentos não se realizou coleta: em três desses locais o sushi de “peixe branco” estava em falta, mesmo após algumas tentativas, e nos outros 10 locais não coletados as amostras foram informadas como “tilápia”. Uma vez que 1) no Brasil, a tilápia é um peixe de cativeiro e relativamente barato, e 2) já havia diversas amostras informadas como tilápia, optou-se em dar prioridade para amostras informadas como pertencentes a outras espécies. Um total de 35 restaurantes informaram não trabalhar com “peixe branco”.

Em apenas 3 estabelecimentos os cardápios continham a informação sobre a identificação do peixe. Nos outros locais a informação só podia ser obtida quando solicitada aos funcionários do restaurante. Apesar de ter sido possível obter a informação sobre qual era o tipo de peixe vendido como “peixe branco” de todos os locais amostrados, algumas vezes foi mais difícil conseguir essa informação, já que os funcionários do restaurante responsáveis pelo atendimento não sabiam qual era o peixe e tinham que recorrer à cozinha.

Um fato interessante observado neste estudo é que apesar de haver um consenso de que “peixe branco” em sushi são peixes de carne branca, alguns dos peixes vendidos possuíam carne rosada (Figura 1), que normalmente foi informada como sendo o peixe Meca. Apenas um dos restaurantes informou que não havia “peixe branco” disponível, porém informou que havia *niguiiri* de Meca, em seguida destacando que o peixe Meca se tratava de uma carne rosa e não branca. A ausência de legislação específica para a designação de “peixe branco” não restringe características visuais mínimas para a caracterização do peixe. Desta forma, fica ainda mais evidente que não há um consenso de o que é vendido como “peixe branco” em restaurantes de culinária japonesa, podendo ser qualquer espécie de peixe que tenha sua carne pálida (especialmente quando comparados a salmão e atum, espécies comumente encontradas nesses estabelecimentos).

Alguns locais informaram que não havia “peixe branco” disponível e por isso estavam sem esta opção no restaurante, sugerindo haver uma preferência por um

tipo específico de peixe como “peixe branco”. Outros locais informavam que naquele dia ou naquela determinada semana, estavam servindo uma determinada espécie como “peixe branco”, sugerindo que o restaurante trabalhava com uma certa diversidade de espécies servidas como “peixe branco”.

Este estudo foi realizado a partir de uma perspectiva de consumidor e não de vigilante sanitário. A amostragem foi realizada em diferentes locais da cidade e em restaurantes de diferentes padrões econômicos, não focando a identificação somente de amostras ou de estabelecimentos suspeitos de fraude. Se por um lado, pode ter havido uma sub-representação de situações suspeitas, a estratégia adotada no estudo pode trazer uma visão realista da situação de identificações errôneas de pescado em restaurantes de sushi de uma grande cidade brasileira.



Figura 1. Amostra de “peixe-branco” (vendido em *nigiri*) informada pelo restaurante como Meca, destacando o tom rosado da carne.



Figura 2. Amostra de “peixe-branco” (vendido em *nigiri*) informada pelo restaurante como Prego, destacando o tom branco da carne.

As 53 amostras de sushi de “peixe branco” coletadas foram informadas no ato da compra como sendo pertencentes a 8 tipos de peixes diferentes: Prego, Linguado, Tilápia, Meca, Olhete, Namorado, Dourado e Pargo, sendo a grande maioria informada como Prego (Tabela 2). Levando em consideração que outros 10 restaurantes onde não foram realizadas coletas informaram que o “peixe branco” vendido no restaurante se tratava de Tilápia, pode-se perceber que a grande maioria dos peixes vendidos como “peixe branco” em restaurantes de sushi de Porto Alegre são informados como Prego, Tilápia e Linguado.

É interessante notar que a nomenclatura “peixe branco” não está presente na Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015. Desta forma, os restaurantes deveriam sempre adicionar às suas peças de sushi de “peixe-branco” alguma nomenclatura disponível na regulamentação brasileira, e não somente informar oralmente qual variedade de peixe que está sendo vendida. Além do cumprimento mais rigoroso da Instrução Normativa, essa medida permitiria que os clientes tivessem maior ciência sobre qual peixe efetivamente estão consumindo.

3.2 Identificação Molecular das espécies

Todas as sequências obtidas exibiram entre 99 e 100% de identidade e similaridade com seu respectivo melhor resultado de sequências correspondentes

em ambos bancos de dados utilizados, GenBank – *BLAST* e BOLD – Identification System (número de acesso com o melhor resultado do *BLAST* e BOLD mostrados na Tabela 2). Foi possível amplificar e sequenciar 41 amostras com sucesso. Um total de 31 amostras foram identificadas em nível específico, representando oito espécies diferentes de peixes ósseos: *Lepidocybium flavobrunneum* (Prego), *Paralichthys patagonicus* (Linguado), *Paralichthys orbignyanus* (Linguado), *Xiphias gladius* (Meca), *Seriola rivoliana* (Olhete), *Pseudopercis semifasciata* (Namorado), *Coryphaena hippurus* (Dourado) e *Pangasianodon hypophthalmus* (Panga) (Tabela 2). Para a amostra vendida como Pargo não foi possível fazer a identificação molecular em nível específico através de pesquisa direta realizada nos bancos GenBank e BOLD (Tabela 2). Foram obtidas duas ou três espécies candidatas pertencentes à família Sparidae: *Pagrus pagrus* (incluindo sua sinonímia, *Chrysophrys auratus* (Randall, Allen & Steene, 1990)) e *Oblada melanura* (BOLD e *BLAST*), e *Sparus aurata* (*BLAST*). Destas, apenas *P. pagrus* consta na Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015, identificada como Pargo-rosa. A árvore de neighbor-joining com distância Kimura-2-parâmetros incluindo sequências dos gêneros *Chrysophrys*, *Pagrus*, *Oblata* e *Sparus* indica que a amostra 48 (*sample 48*) pertence a um clado de *P. pagrus*, sugerindo tratar-se dessa espécie (Figura 3). Todavia, é interessante notar que tanto *P. pagrus* quanto *C. auratus* não formam grupos monofiléticos, sugerindo que a taxonomia desse grupo ainda não está bem estabelecida. Por exemplo, a maioria das sequências de *C. auratus* mostra-se mais relacionada a *P. major* do que a *P. pagrus* (Figura 3).

Sete amostras foram identificadas em nível de gênero, referentes a *Oreochromis* sp. (Tilápia). O fato de não ter sido possível identificar as amostras de *Oreochromis* a um nível específico pode ser em razão do cultivo de Tilápia incluir espécies híbridas (Pollack *et al.*, 2018). A Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015 prevê que a Tilápia-Saint-Peter seja referente a híbridos de *O. aureus* x *O. mossambicus* x *Sarotherodon galilaeus* x *O. niloticus*, explicando o porquê de as porcentagens de identidade e similaridade tenham resultados tão altos em ambos bancos para mais de uma espécie (Tabela 2), uma vez que o COI identificará apenas a linhagem genética materna do híbrido.

Duas amostras apresentaram sequências de boa qualidade que associadas ao gene homólogo do *Citocromo Oxidase I* em uma bactéria do gênero *Pseudomonas*. Esse resultado foi reafirmado com novos procedimentos de extração de DNA/PCR/sequenciamento das amostras originais, indicando a colonização do filé por essa bactéria. Não houve correspondência com nenhuma espécie no banco de dados BOLD, uma vez que esse banco se restringe a eucariotos. Futuramente, a identificação precisa dessa bactéria será em nível específico confirmada através de marcadores genéticos específicos. É intrigante que a amplificação do gene *COI* da amostra de peixe não tenha tido sucesso e que apenas DNA bacteriano tenha sido amplificado – o que não ocorreu em nenhuma das outras amostras. Também chama a atenção que em ambos os casos o peixe informado foi “Prego”. Finalmente, não é possível afirmar se a presença dessa bactéria na amostra representa qualquer risco à saúde dos consumidores, nem se essa espécie bacteriana está normalmente associada à microbiota típica do peixe ou representa uma contaminação em algum estágio do processamento do pescado.

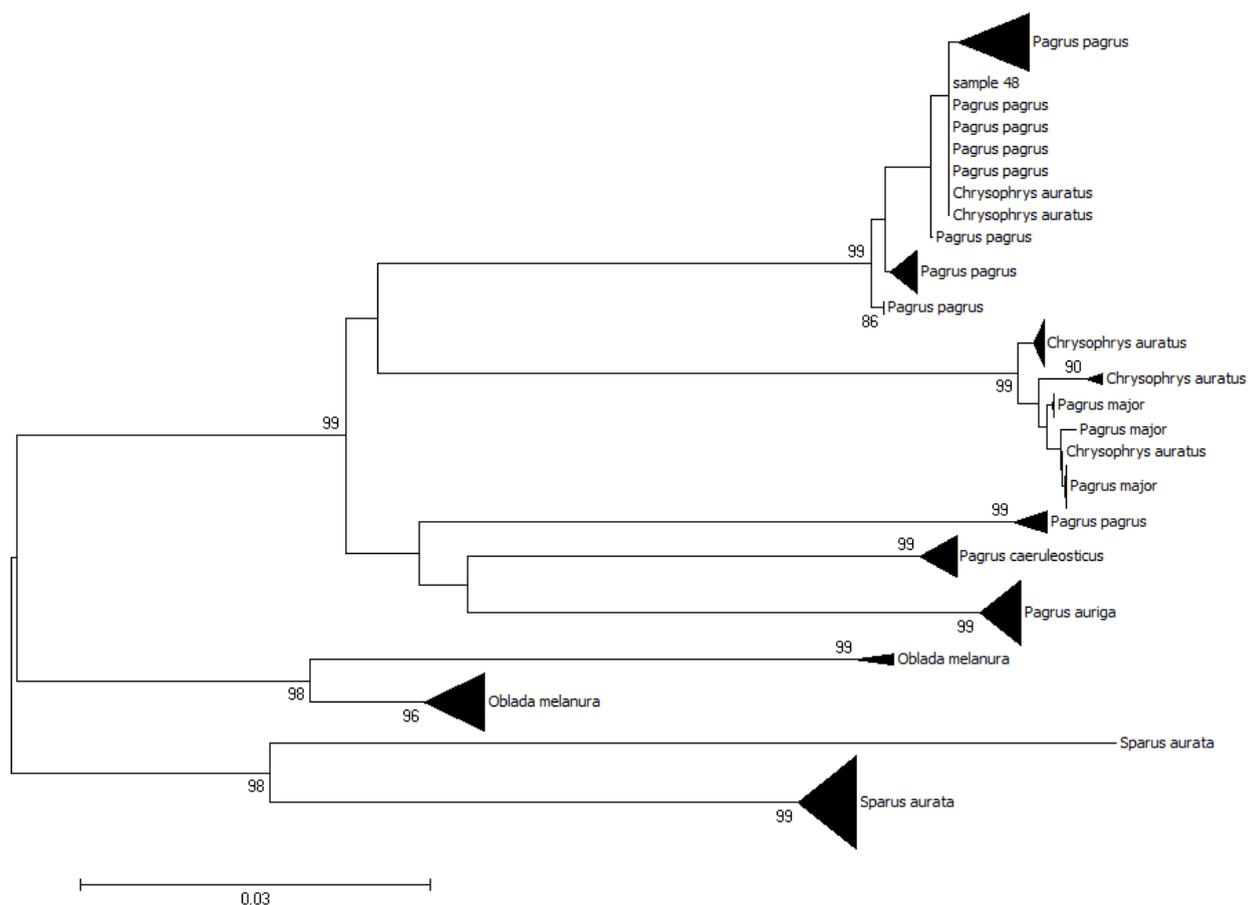


Figura 3. Identificação da amostra 48 (*sample 48*) informada como Pargo. Árvore de neighbor-joining com distância Kimura-2-Parâmetros para sequências de *COI* de aproximadamente 650pb. A confiança dos agrupamentos foi estimada com 1000 replicações de bootstrap. Apenas valores de bootstrap acima de 80% são mostrados na figura.

3.3 Avaliação das identificações informadas no ato da compra

Das 39 amostras analisadas, 31 tiveram identidade correspondente aos nomes vernaculares informados pelos restaurantes. Em 8 amostras, no entanto, a espécie identificada molecularmente não coincidiu com a informação de compra, usando como referência a Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015 (Tabela 1, Figura 3).

Tabela 1. Relação entre nomes populares e científicos de acordo com a Instrução Normativa MAPA nº 29/2015 para as espécies relevantes para o presente estudo.

Nome popular	Nome científico
Dourado	<i>Coryphaena hippurus</i>
	<i>Salminus brasiliensis</i>
	<i>Salminus franciscanus</i>
Olhete	<i>Seriola spp.</i>
	<i>Elagatis bipinnulata</i>
Prego	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>
	<i>Ruvettus pretiosus</i>
Pargo	<i>Lutjanus campechanus</i>
	<i>Lutjanus purpureus</i>
Pargo-rosa	<i>Pagrus pagrus</i>
Tilápia, Tilápia do Nilo	<i>Oreochromis niloticus</i>
Panga, Pangasius	<i>Pangasius spp.</i>
Linguado	<i>Paralichthys spp.</i>
	<i>Syacium spp.</i>
Namorado	<i>Pseudopercis numida</i>
	<i>Pseudopercis semifasciata</i>
Espadarte, Meca, Meka	<i>Xiphias gladius</i>
Peixes híbridos	
Tilápia-Saint-Peter	<i>O. aureus x O. mossambicus x Sarotherodon galilaeus x O. niloticus</i>

Tabela 2. Relação entre o nome informado pelos restaurantes e a identificação molecular após buscas em dois bancos de dados.

Amostra			GenBank			BOLD (<i>Public Record Barcode Database</i>)		
ID	Peixe informado	Tamanho (pb)	Espécie encontrada (BLAST)	Identidade (%)	nº de Acesso	Espécie encontrada	Similaridade (%)	BIN
1	Prego	674	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	FJ605797.1	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	BOLD: AAB9115
2	Linguado	678	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100,00	KR080263.1	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100,00	BOLD: AAE3237
3	Prego	668	Bactéria (<i>Pseudomonas</i> sp.)	99,55	CP012676.1	Não encontrado		
5	Meca	672	<i>Xiphias gladius</i>	99,85	JN083389.1	<i>Xiphias gladius</i>	99,85	BOLD: AAA6300
6	Linguado	677	<i>Paralichthys patagonicus</i>	99,85	JQ365477.1	<i>Paralichthys patagonicus</i>	100,00	BOLD: AAE2996
7	Prego	690	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	FJ605797.1	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	BOLD: AAB9115
9	Linguado	704	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	99,85	EU074519.1	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100,00	BOLD: AAC0146
11	Meca	674	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	HM007787.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
12	Meca	672	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	AP006036.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
14	Tilápia	722	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	KU565856.1	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	
16	Prego	698	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	99,85	FJ605797.1	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	BOLD: AAB9115
17	Tilápia	685	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	DQ856611.1	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	
18	Tilápia	676	<i>Oreochromis</i> sp.*	99,85	MF509597.1	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	
19	Tilápia	699	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	FJ605797.1	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	BOLD: AAB9115
20	Prego	677	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	HM007787.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
21	Tilápia	674	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	MF509597.1	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	
22	Prego	682	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	FJ605797.1	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	BOLD: AAB9115
23	Prego	675	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	HM007787.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
24	Tilápia	691	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	KM438535.1	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	
25	Tilápia	675	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	KU565856.1	<i>Oreochromis</i> sp.*	100,00	
26	Prego	678	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	JN083389.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
27	Prego	664	Bactéria (<i>Pseudomonas</i> sp.)	98,49	CP012676.1	Não encontrado		
29	Meca	641	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	JN083389.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
30	Meca	678	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	DQ107627.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
31	Linguado	678	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100,00	KR080263.1	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100,00	BOLD: AAE3237
33	Dourado	689	<i>Coryphaena hippurus</i>	99,85	KU199187.1	<i>Coryphaena hippurus</i>	99,85	BOLD: AAA5277

35	Namorado	676	<i>Pseudopercis semifasciata</i>	100,00	EU074571.1	<i>Pseudopercis semifasciata</i>	100,00	BOLD: AAD9327
36	Linguado	674	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100,00	EU074519.1	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100,00	BOLD: AAC0146
39	Meca	677	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	HM007787.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
40	Prego	675	<i>Oreochromis sp.*</i>	100,00	MF509597.1	<i>Oreochromis sp.*</i>	100,00	
42	Linguado	689	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100,00	KR080263.1	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100,00	BOLD: AAE3237
43	Meca	676	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	KC016041.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300
44	Prego	691	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	FJ605797.1	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	BOLD: AAB9115
45	Linguado	674	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	99,85	EU074519.1	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100,00	BOLD: AAC0146
46	Linguado	678	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	99,85	EU074519.1	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100,00	BOLD: AAC0146
47	Olhete	674	<i>Seriola rivoliana</i>	100,00	JN312916.1	<i>Seriola rivoliana</i>	100,00	BOLD: AAB9420
48	Pargo	679	<i>Sparus aurata</i>	100,00	EU752073.1			
			<i>Pagrus pagrus</i>	100,00	KY802034.1	<i>Pagrus pagrus</i>	100,00	BOLD: AAC8526
			<i>Oblada melanura</i>	99,21	HM590728.1	<i>Oblada melanura</i>	99,05	BOLD: AAC8526
49	Linguado	674	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	99,85	EU074519.1	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100,00	BOLD: AAC0146
50	Prego	678	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	FJ605797.1	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100,00	BOLD: AAB9115
52	Linguado	675	<i>Paralichthys patagonicus</i>	99,69	JQ365477.1	<i>Paralichthys patagonicus</i>	99,85	BOLD: AAE2996
53	Meca	677	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	HM007787.1	<i>Xiphias gladius</i>	100,00	BOLD: AAA6300

Nota: As amostras em destaque indicam problemas de correspondência ou alguma imprecisão na classificação.

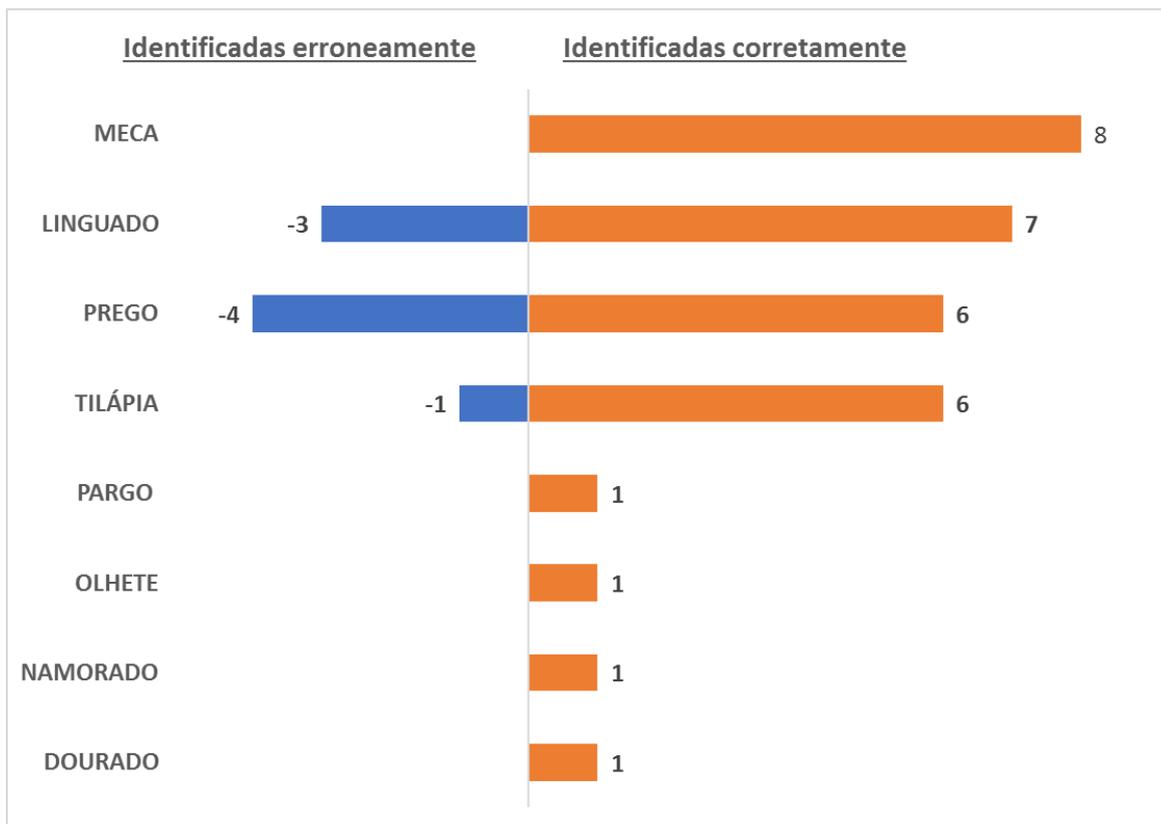


Figura 4. Relação entre identificações corretas/incorretas para cada nome popular informado pelo restaurante.

Três amostras (2, 31 e 42) foram informadas como Linguado, devendo, portanto, pertencer aos gêneros *Paralichthys* ou *Syacium* (Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015). No entanto, essas três amostras foram identificadas como *Pangasianodon hypophthalmus*. As espécies em questão possuem morfologias completamente diferentes (Figuras 5 e 6), inclusive pertencendo a famílias taxonômicas distintas, respectivamente Paralichthyidae e Pangasiidae. Além da morfologia distinta, o fato de as espécies em questão viverem em habitats diferentes é uma evidência para que este caso possa ser configurado como fraude, já que *Paralichthys* e *Syacium* são gêneros marinhos, enquanto *Pangasianodon hypophthalmus* é uma espécie dulcícola (Mendonça & Araújo, 2002). *Pangasianodon hypophthalmus* é comumente identificada no Brasil sob o nome comum “Panga” (Rodrigues *et al.*, 2016), porém esta espécie não está

associada a nenhum nome comum na Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015 (o nome popular Panga está associado a *Pangasius* spp., da mesma família).



Figura 5. *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) - conhecido popularmente como Panga. Fonte: *FishBase*, imagem de Balaram Mahalder.



Figura 6. *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) - conhecido popularmente como Linguado. Fonte: *FishBase*, imagem de Cousseau, B. and R.G. Perrotta (1998).

Segundo a Instrução Normativa, somente espécies do gênero *Pangasius* podem ser comercializadas sob os nomes comuns Panga ou Pangasius. Relatos de substituições sugerem que trocas como a encontrada neste estudo tratam-se de uma estratégia de comércio para induzir o consumo desta espécie, adaptando o paladar dos consumidores ao sabor e à textura da carne de Panga (Galal-Khallaf *et al.*, 2014; Rodrigues *et al.*, 2016).

Outras três amostras (20, 23 e 26) foram informadas como Prego, nome vernacular atribuído a *Lepidocybium flavobrunneum* ou *Ruvettus pretiosus*.

Todavia, as três amostras foram identificadas como *Xiphias gladius*, peixe popularmente conhecido como Meca, Meka ou Espadarte. As espécies de Prego pertencem à Gempylidae e *Xiphias gladius* pertence à Xiphiidae, famílias com morfologia notavelmente distinta (Figuras 7 e 8), sendo muito difícil de serem confundidas e, portanto, indicando novamente uma substituição proposital em algum momento da cadeia produtiva.



Figura 7. *Xiphias gladius* Linnaeus, 1758 - conhecido popularmente como Meca. Fonte: *FishBase*, imagem de Pedro Niny Duarte.



Figura 8. *Lepidocybium flavobrunneum* (Smith, 1843) - conhecido popularmente como Prego. Fonte: *FishBase*, imagem de Pedro Niny Duarte.

A amostra 40 também foi informada no ato da compra como Prego, porém foi identificada como pertencente a *Oreochromis*, gênero diverso cujas espécies são comercializadas sob o nome vernacular Tilápia (Tabela 1). A situação inversa ocorreu com a amostra 19, que foi informada como Tilápia, porém foi identificada como *Lepidocybium flavobrunneum*, espécie regulamentada como Prego. Aqui,

novamente constatam-se duas substituições em nível de famílias morfológicamente distintas: *Oreochromis* pertence a Cichlidae e *Lepidocybium flavobrunneum* faz parte de Gempylidae. Ressalta-se também que o Prego é obtido através de pesca marinha, enquanto Tilápia geralmente é criada em cativeiro e possui hábito dulcícola (Barbosa, Moura & Santos, 2009; Viana, 2012). Este grande contraste da biologia das espécies em questão indica, possivelmente, uma substituição fraudulenta.

Finalmente, a amostra 48 foi informada no ato da compra como Pargo e identificada como *Pagrus pagrus*. Apesar de cientificamente esta espécie ser conhecida como Pargo, comercialmente ela deveria ser informada como Pargo-Rosa (Instrução normativa do Mapa nº 29/2015), uma vez que o nome vernacular Pargo refere-se apenas a duas espécies pertencentes à família Lutjanidae: *Lutjanus campechanus* e *Lutjanus purpureus* (Tabela 1). Este caso não poderia ser considerado como fraude, mas sim como um resultado de confusão entre nomes vernaculares.

Desta forma, a taxa de identificação incorreta encontrada neste estudo foi de 20,5% das amostras coletadas. Ou seja, na cidade de Porto Alegre, 1 a cada 5 restaurantes de sushi informou incorretamente qual o peixe que está sendo vendido como “peixe branco”. Os estabelecimentos que forneceram informações de identificação incorretas reportaram fornecedores em comum, que atuam também em outras cidades e regiões do país. Assim, caso o problema de identificação esteja nas informações prestadas pelo fornecedor, as situações encontradas no presente estudo podem atingir proporções nacionais.

A taxa de erros de identificação encontrada neste estudo encontra-se de acordo com estudos prévios. Pardo, Jiménez & Pérez-Villarreal (2016) revisaram 51 estudos de autenticação de pescado e relataram uma taxa média de 30% de rotulagens incorretas. No entanto, é interessante notar que a metodologia de aquisição das amostras não é padronizada entre os estudos, tanto em razão da parte do processo comercial em que a amostragem foi realizada (restaurantes, peixarias ou fornecedores), como pelo fato de algumas amostragens serem realizadas em produtos que já estavam sob suspeita de fraude, o que poderia explicar a divergência entre as taxas de erro apresentadas entre os estudos.

Além disso, deve-se levar em conta os problemas das nomenclaturas

informadas pelos estabelecimentos, mesmo que não se configure um caso de fraude. A grande maioria dos nomes vernaculares utilizados pelos restaurantes para informar o peixe vendido correspondia a uma nomenclatura do tipo “guarda-chuva”. Nomes informados como Tilápia, Namorado e Pargo, por exemplo, incluem mais de uma espécie de um mesmo gênero (*Oreochromis*, *Pseudopercis* e *Lutjanus*); Olhete, Prego, Linguado e Dourado correspondem a mais de uma espécie de gêneros diferentes, sendo que o nome Dourado é utilizado tanto para espécies dulcícolas (*Salminus brasiliensis* e *Salminus franciscanus*) quanto para a espécie marinha (*Coryphaena hippurus*) (Silva, 2016; Dallagnolo & Andrade, 2018). Apenas um dos nomes vernaculares informados pelos restaurantes, Meca, se refere a apenas uma espécie (*Xiphias gladius*). Além disso, a nomenclatura “Prego” é algo especificamente brasileiro e que inclui as espécies *Lepidocybium flavobrunneum* e *Ruvettus pretiosus* (Tabela 1). Desta forma, a taxa de erro de rotulagem varia conforme a relação estabelecida entre o nome vernacular e as espécies que representam esse nome comercial, pois quanto maior for a correspondência entre nomes populares e científicos, maior a possibilidade de que as imprecisões de rotulagem sejam consideradas fraudes.

A lista disposta na Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015 possui diversos casos em que apenas um nome comercial está correlacionado a mais de uma espécie, gênero ou até mesmo família, como no caso dos cações. Conforme o disposto nesse estudo, é sugerido que ou se inclua um nome vernacular único para cada espécie de peixe comercializada no Brasil, ou que o Parágrafo Único do Art. 2º da Instrução Normativa do MAPA nº 29/2015 que estabelece que “para espécies das famílias Salmonidae e Gadidae, além do nome comum, deve ser incluído o nome científico da espécie” se estenda para além dessas duas famílias, incluindo esta prerrogativa para todos os peixes comercializados. Ambas alternativas se fazem de extrema necessidade para viabilizar uma maior transparência de informações aos consumidores de pescado em geral.

3.4 Problemas em relação aos peixes encontrados

3.4.1 Aspectos de Saúde e Nutricionais

Alguns peixes que foram identificados neste estudo podem possuir elevada quantidade de metais pesados. A exemplo do mercúrio, o nível máximo tolerável

deste metal pesado em espécies de pescado não predadoras é de 0,5 mg/kg (Anvisa RDC N° 42/2013). No entanto, há uma vasta quantidade de registros para níveis de mercúrio próximos ou mais altos que este valor em carnes de peixes comercializados como Meca, Prego e Panga (Groth, 2010; Ferrantelli *et al.*, 2012, Zupo, 2019). Essa problemática se agrava em relação a peixes de baixo custo, como o Panga, que tem sido uma das principais fontes de alimentação de hospitais e escolas, podendo expor crianças e enfermos a altos níveis de mercúrio (Ferrantelli *et al.*, 2012; Rodrigues *et al.*, 2016). Da mesma forma, peixes de carne mais gorda, maiores, e/ou com maior tempo de vida bioacumulam metais pesados ao longo de sua vida, em razão da tendência de acúmulo de metilmercúrio em tecidos adiposos (Zupo *et al.*, 2019).

Sendo a alergia a peixes uma das alergias alimentares mais comuns, a troca de uma espécie por outra também pode ser de grande preocupação em termos de substituições de espécies. A grande maioria das pessoas alérgicas a peixes reagem à parvalbumina presente em várias espécies; outras, têm monossensibilidade, reagindo a uma determinada espécie de peixe e não a outras (Ebo *et al.*, 2010). Um estudo encontrou que carnes de “peixe-branco” foram a segunda maior causa de alergias, após alergias por camarões (Turner, Kemp & Campbell, 2011). Devido a isso, a preocupação em se prover uma informação de compra confiável se agrava nesses casos, uma vez que a substituição de espécies pode causar danos de saúde graves aos consumidores.

Outra questão de saúde importante está relacionada ao Prego (*Lepidocybium flavobrunneum*). Esta espécie contém gempylotoxinas e ésteres cerosos que não são digeridos ou absorvidos pelo intestino delgado, exercendo uma ação laxativa osmótica em forma de falsa diarreia alaranjada (Martínez, 2012; Cabrero *et al.*, 2015; Caballero-Mateos, Sánchez-Capilla & Redondo-Cerezo, 2018, Pollack *et al.*, 2018). Esses problemas gastrointestinais leves a graves podem ocorrer mesmo em pessoas que comem apenas algumas peças de sushi ou *sashimi* de Prego (But, Wu & Shaw, 2019; Caballero-Mateos, Sánchez-Capilla & Redondo-Cerezo, 2018). Devido a esses problemas, países como o Japão e a Itália baniram o comércio deste peixe, outros países como Canadá, Dinamarca e Suécia emitiram comunicados de saúde para esta espécie e a União Europeia exige que estes peixes sejam adequadamente rotulados para fornecer

informações aos consumidores sobre possíveis efeitos gastrointestinais (Commission Regulation nº 2074/2005; Dalama, Vieites & Espiñeira, 2015; Giusti *et al.*, 2016).

3.4.2 Aspectos Ambientais

Neste estudo, a grande maioria das espécies encontradas estão listadas com estado de conservação pouco preocupante (LC), de acordo com a IUCN. No entanto, as populações selvagens de *Pangasionodon hypophthalmus* estão listadas como em perigo de extinção (EN) (IUCN, 2019) (Apêndice), embora seja comum a aquicultura dessa espécie em países asiáticos. O mesmo ocorre com a tilápia (*Oreochromis* spp.), para a qual várias espécies estão classificadas como em perigo crítico (CR) (IUCN, 2019), embora a maioria do pescado brasileiro dessa espécie venha de criadores. Em razão disso, os nomes comerciais de peixes, além de distinguir espécies de peixes diferentes deveriam distinguir os peixes de cativeiros dos peixes pescados. Além disso poderia haver embargos comerciais à comercialização de espécies que estivessem ameaçadas de extinção.

Rotulagens incorretas contribuem para pesca ilegal, não declarada e não regulamentada, impossibilitando uma pesca sustentável e permitindo que espécies ameaçadas, de populações em baixo estoque ou provenientes de “bycatch” entrem mais facilmente no mercado (Pardo *et al.*, 2016, Wilette *et al.*, 2017).

3.4.3 Aspectos Econômicos

A substituição de espécies de maior valor por espécies de menor valor é uma prática comum de mercado, pois oferece um maior e imediato retorno financeiro. No caso de restaurantes, substituições podem ser ainda mais frequentes, devido à falta de caracteres morfológicos e requisitos de rotulagem menos rigorosos (Kappel & Schröder, 2016). No Brasil, considerando que restaurantes de sushi tendem a apresentar preços elevados, cria-se um ambiente muito propenso a substituições de espécies com intuito de ganho econômico. Neste estudo, a maior diferença de preço foi encontrada nas três substituições de Linguado por Panga. Atualmente em Porto Alegre o preço do filé de Linguado (R\$

59,90/kg) custa aproximadamente três vezes mais que o preço do filé de Panga (entre R\$19,90/kg e R\$ 22,90/kg), sugerindo uma provável motivação econômica nas substituições encontradas neste estudo.

Além do custo do peixe em si, é necessário também considerar os ganhos intangíveis no momento da substituição do peixe, como por exemplo a fidelização de clientes, já que eles irão escolher entre restaurantes que a princípio vendem o mesmo peixe, porém com preços mais acessíveis. Isto se configura como uma competição desleal, onde o restaurante que pratica a fraude possui clara vantagem.

Outros estudos já relataram *P. hypophthalmus* sendo vendida como outros peixes considerados mais caros, incluindo bacalhau no Canadá, no Egito e Europa (Hanner *et al.*, 2011; Galal-Khallaf *et al.*, 2014, Pardo *et al.*, 2018), garoupa e outros percídeos na Europa (Di Pinto *et al.*, 2015; Pardo *et al.*, 2018). No Brasil, um estudo realizado na cidade de Florianópolis em 2015 também encontrou Panga sendo vendido como Linguado (Carvalho *et al.* 2015), demonstrando que essa prática não se trata de um fato isolado no país. Recentemente outro estudo realizado na Alemanha também encontrou cinco amostras com substituição de Linguado por *Pangasianodon hypophthalmus* e reiterou que o Panga se trata de um peixe de baixo valor econômico, sendo um dos peixes mais barato no mercado alemão (Kappel & Schröder, 2016).

3.4.4 Aspectos Religiosos

Carnes de pescado rotuladas erroneamente também podem ter um impacto negativo sob aspectos culturais, incluindo a religião. Um bom exemplo seria a preferência de pessoas judias em somente consumir alimentos *kosher*, ou seja, que estejam de acordo com as normas de preparação exigidas pela lei judaica (Blech, 2009). Para uma pessoa judia, portanto, é de extrema importância que o alimento consumido esteja de acordo com o que está sendo informado no ato da compra. Neste estudo, por exemplo, as amostras de Linguado que foram identificadas como Panga seriam um grande problema, já que Linguado é considerado um peixe *kosher*, mas Panga não é considerado *kosher* (Blech, 2009). Assim, para consumidores de alimentos exclusivamente *kosher*, a substituição de espécies de peixes pode ser de grande motivo de preocupação.

3.5 Considerações Finais

A pesca não regulamentada e a fraude de pescado são problemas globais e nenhuma nação sozinha pode resolvê-los (NOC, 2017). Ela prejudica o estoque de peixes, custa empregos, e meios de subsistência (Pollack *et al.*, 2018). Uma abordagem harmonizada e integrada entre países, com embaixadores responsáveis por lidar com a questão de fraude pesqueira, seria o cenário ideal para combater essas irregularidades (NOC, 2017).

Tendo em vista as diferenças culturais na forma como o pescado é categorizado, é dificultada a identificação dos peixes que tramitam no mercado internacional. Uma adequação do padrão brasileiro e mundial através do uso do nome científico da espécie seria de grande utilidade, assim como o incentivo para que no cenário brasileiro surgissem iniciativas semelhantes ao SIMP (*Seafood Import Monitoring Program*) do NOAA (*National Oceanic and Atmospheric Administration*), Departamento de Comércio dos Estados Unidos, que desenvolveu um código para ser utilizado em processos de importações a fim de melhor fiscalizar o pescado que entra no país. O uso deste código identifica as espécies importadas por seu nome científico, códigos taxonômicos numéricos de 10 dígitos e o nome comum aceitável (NOC, 2017).

Saber a procedência e quais são as espécies mais utilizadas traz tanto segurança alimentar e econômica como segurança ambiental. Não saber o que está sendo utilizado no mercado pode trazer falsas informações sobre o real estado de conservação de algumas espécies, prejudicando que informações verdadeiras sejam computadas e que medidas corretas de proteção sejam aplicadas. Substituições fraudulentas, como o caso do “peixe branco”, onde várias espécies são vendidas sob um mesmo nome vernacular, dificultam a fiscalização adequada, e permitem que peixes provenientes de pesca não regulamentada ou mesmo espécies ameaçadas sejam comercializadas livremente no mercado. A medida ideal é que sempre que um restaurante receber um pescado, seja disponibilizada a documentação de captura para comprovar procedência de fontes legais, além de ser obrigatório que o nome vernacular esteja acompanhado do nome científico ou que ele seja único por espécie.

Fazer uma rastreabilidade “barco-a-prato” para pescado selvagem e cultivado também é necessária para que se trace o verdadeiro caminho desses

peixes. É dever dos restaurantes fornecerem informações corretas aos clientes, para que estes possam tomar decisões mais informadas, seja por razões de saúde, econômicas ou ambientais. Por esses motivos, é muito importante que cada vez mais as pessoas estejam atentas aos seus hábitos de consumo, perguntando e se informando sobre qual peixe está sendo comercializado nos restaurantes que frequentam, buscando a consciência de consumo, ou seja, saber como as suas atividades como indivíduo afetam a sociedade como um todo.

Referências

- 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. doi:10.3389/fgene.2018.00138
- Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução - RDC Nº 42, de 29 de agosto de 2013. Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd>
- Armani, A., Tinacci, L., Lorenzetti, R., Benvenuti, A., Susini, F., Gasperetti, L., ... Guidi, A. (2017). Is raw better? A multiple DNA Barcoding approach (full and mini) based on mitochondrial and nuclear markers reveals low rates of misdescription in sushi products sold on the Italian market. *Food Control*, 79, 126–133. doi:10.1016/j.foodcont.2017.03.030
- Barbosa, A. C. A., Moura, E. V. D., & Santos, R. V. D. (2009). Cultivo de tilapia em gaiolas. EMPARN, *Sistemas de Produção*, Natal, RN. Brasil. Disponível em: <http://files.jornalagroinformativo.webnode.com.br/200000020-415f942597/cartilha_cultivo_de_tilapias_em_gaiolas.pdf>
- Bénard-Capelle, J., Guillonnet, V., Nouvian, C., Fournier, N., Le Loët, K., & Dettai, A. (2015). Fish mislabelling in France: substitution rates and retail types. *PeerJ*, 2, e714. doi:10.7717/peerj.714
- Blech, Z. Y. (2009). *Kosher food production*. John Wiley & Sons, USA. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=5hKLDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR13&dq=Kosher+food+production&ots=qG815HrqNe&sig=woE-PyEAaMTlwNenntKR_YgPwgo#v=onepage&q=Kosher%20food%20production&f=false>
- Bornatowski, H., Braga, R. R., Kalinowski, C., & Vitule, J. 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/ebl.6.1.2015.451
- 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. doi:10.1016/j.foodcont.2018.11.008

- Caballero-Mateos, A. M., Sánchez-Capilla, A. D., & Redondo-Cerezo, E. (2018). Keriorrea (diarrea c rea), un nuevo signo a tener en cuenta. *Revista Espa ola de Enfermedades Digestivas*, 110(8), 529-529. doi:10.17235/reed.2018.5614/2018. doi:10.17235/reed.2018.5614/2018
- Cabrero, M. A. F., Hern andez, C. B., Tango, M. A., Hillera, M. D., & Marcos, J. A. H. (2015). Brote epid mico por consumo de pez mantequilla: keriorrea e intoxicaci n histam nica. *Revista Espa ola de Salud P blica*, 89(1), 99–105. doi:10.4321/s1135-57272015000100011
- 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(sup1), 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
- 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., Baillie, C., & Mariani, S. (2018). Generic names and mislabeling conceal high species diversity in global fisheries markets. *Conservation Letters*, 11(5), e12573. doi:10.1111/conl.12573
- Cline, E. (2012). Marketplace substitution of Atlantic salmon for Pacific salmon in Washington State detected by DNA Barcoding. *Food Research International*, 45(1), 388-393. doi:10.1016/j.foodres.2011.10.043
- Comission Regulation (EC) n  2074/2005 of 5 December 2005. Official Journal of the European Union. Dispon vel em: <<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0027:0059:EN:PDF>>
- Dalama, J., Vieites, J. M., & Espi neira, M. (2015). Detection of the causal agents of Keriorrhea (*Lepidocybium flavobrunneum* and *Ruvettus pretiosus*) by means of Real Time PCR. *Food chemistry*, 174, 326-329. doi:10.1016/j.foodchem.2014.11.070
- Dallagnolo, R., & Andrade, H. A. (2018). Observa es a respeito da pescaria sazonal de dourado (*Coryphaena hippurus*) com espinhel-de-superf cie no sul

do Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 34(2), 331-335. Disponível em: <<https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/802>>

- Decru, E., Moelants, T., De Gelas, K., Vreven, E., Verheyen, E., & Snoeks, J. (2015). Taxonomic challenges in freshwater fishes: a mismatch between morphology and DNA Barcoding in fish of the north-eastern part of the Congo basin. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 342–352. doi:10.1111/1755-0998.12445
- Di Pinto, A., Marchetti, P., Mottola, A., Bozzo, G., Bonerba, E., Ceci, E., ... & Tantillo, G. (2015). Species identification in fish fillet products using DNA Barcoding. *Fisheries Research*, 170, 9-13. doi: 10.1016/j.fishres.2015.05.006
- Doyle, J. J., (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem bull*, 19, 11-15.
- Ebo, D. G., Kuehn, A., Bridts, C. H., Hilger, C., Hentges, F., & Stevens, W. J. (2010). Monosensitivity to pangasius and Tilápia caused by allergens other than parvalbumin. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 20(1), 84-88.
- FAO - Food and Agricultural Organization of the United Nations. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture: Meeting the sustainable development goals. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Rome, Italy. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/i9540en/i9540en.pdf>>
- Ferrantelli, V., Giangrosso, G., Cicero, A., Naccari, C., Macaluso, A., Galvano, F., ... Naccari, F. (2012). Evaluation of mercury levels in Pangasius and Cod fillets traded in Sicily (Italy). *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(7), 1046–1051. doi:10.1080/19440049.2012.675595
- Filonzi, L., Chiesa, S., Vaghi, M., & Marzano, F. N. (2010). Molecular barcoding reveals mislabelling of commercial fish products in Italy. *Food Research International*, 43(5), 1383-1388. doi:10.1016/j.foodres.2010.04.016
- FishBase. World Wide Web electronic publication. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>
- Galal-Khallaf, A., Ardura, A., Mohammed-Geba, K., Borrell, Y. J., & Garcia-Vazquez, E. (2014). DNA Barcoding reveals a high level of mislabeling in Egyptian fish fillets. *Food Control*, 46, 441–445. doi:10.1016/j.foodcont.2014.06.016
- Galimberti, A., De Mattia, F., Losa, A., Bruni, I., Federici, S., Casiraghi, M., ... Labra, M. (2013). DNA Barcoding as a new tool for food traceability. *Food Research International*, 50(1), 55–63. doi:10.1016/j.foodres.2012.09.036

- Giusti, A., Castigliego, L., Rubino, R., Gianfaldoni, D., Guidi, A., & Armani, A. (2016). A Conventional Multiplex PCR Assay for the Detection of Toxic Gemfish Species (*Ruvettus pretiosus* and *Lepidocybium flavobrunneum*): A Simple Method to Combat Health Frauds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(4), 960–968. doi:10.1021/acs.jafc.5b04899
- Groth, E., III. (2010). Ranking the contributions of commercial fish and shellfish varieties to mercury exposure in the United States: Implications for risk communication. *Environmental Research*, 110(3), 226–236. doi:10.1016/j.envres.2009.12.006
- Hajibabaei, M., Singer, G. A., Hebert, P. D., & Hickey, D. A. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23(4), 167-172. doi:10.1016/j.tig.2007.02.001
- Handy, S. M., Deeds, J. R., Ivanova, N. V., Hebert, P. D., Hanner, R. H., Ormos, A., ... & Yancy, H. F. (2011). A single-laboratory validated method for the generation of DNA barcodes for the identification of fish for regulatory compliance. *Journal of AOAC International*, 94(1), 201-210.
- Hanner, R., Becker, S., Ivanova, N. V., & Steinke, D. (2011). FISH-BOL and seafood 383 identification: Geographically dispersed case studies reveal systemic market substitution 384 across Canada. *Mitochondrial DNA*, 22(sup1), 106-122. doi: 10.3109/19401736.2011.588217
- Hebert, P. D., Cywinska, A., & Ball, S. L., (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321. doi: 10.1098/rspb.2002.2218
- Hellberg, R. S. R., & Morrissey, M. T. (2011). Advances in DNA-based techniques for the detection of seafood species substitution on the commercial market. *Journal of the Association for Laboratory Automation*, 16(4), 308-321. doi:10.1016/j.jala.2010.07.004
- Instrução Normativa Brasileira do MAPA nº 29, de 23 de setembro de 2015 – Diário Oficial da União (DOU). Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Instrucao_normativa/2015/in_mapa_29_2015_rotulagem_nomes_peixes__parafinsinspe%C3%A7%C3%A3o.pdf>
- IUCN - The IUCN Red List of Threatened Species. (2019). Disponível em <<http://www.iucnredlist.org/>> (Acessado em: 10/08/2019).

- Jacquet, J. L., & Pauly, D. (2008). Trade secrets: renaming and mislabeling of seafood. *Marine Policy*, 32(3), 309-318. doi: 10.1016/j.marpol.2007.06.007
- Kappel, K., & Schröder, U. (2016). Substitution of high-priced fish with low-priced species: Adulteration of common sole in German restaurants. *Food Control*, 59, 478–486. doi:10.1016/j.foodcont.2015.06.024
- Kato, H. C. de A., Oliveira, L. D. S., Maciel, É. D. S., & De Freitas, A. A. (2016). A cozinha de fusão encontra o rio: peixes nativos amazônicos como alternativa para a culinária japonesa. *Applied Tourism*, 1(2), 97. doi:10.14210/at.v1n2.p97-114
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874. doi:10.1093/molbev/msw054
- Lowenstein, J. H., Amato, G., & Kolokotronis, S. O. (2009). The real maccoyii: identifying tuna sushi with DNA barcodes—contrasting characteristic attributes and genetic distances. *PloS one*, 4(11), e7866. doi:10.1371/journal.pone.0007866
- Martínez, M. V., Sánchez, E. M., Pezzi, G. H., Frías, A. T., Calduch, E. N., & Ontañón, S. D. M. (2012). Interés de la identificación de la especie de pescado en brotes de diarrea oleosa con heces anaranjadas. *Boletín epidemiológico semanal*, 15(3), 25-27.
- Mendonça, P., & Araújo, F. G. (2002). Composição das populações de linguados (Osteichthyes, Pleuronectiformes) da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(2), 339-347. doi: 10.1590/S0101-81752002000200005
- Meyer, C. P., & Paulay, G., (2005). DNA Barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS biol*, 3(12), e422. doi:10.1371/journal.pbio.0030422
- Mouta, R. M. A., Melo, M. B., de Araújo, A. B., de Aguiar, F. L. L., & Fontenelle, R. O. dos S. (2014). Qualidade microbiológica do sushi comercializado na cidade de Sobral-CE. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, 12(2), 277-284. doi:10.5892/ruvrd.v12i2.1447
- NOC (2017) National Ocean Council Committee on Combating IUU Fishing and Seafood Fraud. Executive Office of the President of United States. Disponível em:
<https://www.iuufishing.noaa.gov/Portals/33/2017_NOC%20Accomplishments%20Report.pdf?ver=2017-01-19-144636-010>

- Pardo, M. Á., Jiménez, E., & Pérez-Villarreal, B. (2016). Misdescription incidents in seafood sector. *Food Control*, 62, 277-283. doi:10.1016/j.foodcont.2015.10.048
- Pardo, M. Á., Jiménez, E., Viðarsson, J. R., Ólafsson, K., Ólafsdóttir, G., Danielsdóttir, A. K., & Pérez-Villareal, B. (2018). DNA Barcoding revealing mislabeling of seafood in European mass caterings. *Food Control*, 92, 7–16. doi:10.1016/j.foodcont.2018.04.044
- 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. doi:10.1016/j.foodcont.2017.08.013
- Portaria SMS Nº 1109 de 23/08/2016 - Diário Oficial de Porto Alegre (Dopa). Disponível em: <https://www.normasbrasil.com.br/norma/portaria-1109-2016-porto-alegre_327789.html>
- Quaas, M. F., & Requate, T. (2013). Sushi or fish fingers? Seafood diversity, collapsing fish stocks, and multispecies fishery management. *The Scandinavian Journal of Economics*, 115(2), 381-422. doi:10.1111/sjoe.12002
- Randall, J.E., Allen, G. R., & Steene, R. C. (1990). Fishes of the Great Barrier Reef and Coral Sea. University of Hawaii Press, Honolulu, Hawaii. 506p.
- Rocha, C. P. V. da, Rial, C. S., & Hellebrandt, L. (2013). Alimentação, globalização e interculturalidade alimentar a partir do contexto migratório. *Cadernos de Pesquisa Interdisciplinar em Ciências Humanas*, 14(105), 187-199. doi:10.5007/1984-8951.2013v14n105p187
- Rodrigues, L. G. S., de Sousa, J. P. B., Neto, R. F., & dos Santos, D. V. L. (2016). Aceitabilidade de “almôndega” elaborado com carne de Panga (*Pangasius hypophthalmus*). *Investigação*, 15(4). doi:10.26843/investigacao.v15i4.1378
- Saitou, N., Nei M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for constructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, 4, 406-425. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454
- Santos, A. A., Simões, G. T. N., Cruz, M. M., Ferreira, N. S. S., Lima, R. T. C., & Tunon, G. I. L. (2012). Avaliação da qualidade microbiológica de sushi comercializado em restaurantes de Aracaju, Sergipe. *Scientia Plena*, 8(3 (a)). doi: 10.19095/rec.v4i2.166
- Santos, L. (2019). A contribuição da aquacultura para a emergência, disseminação e transferência de resistência bacteriana aos antibióticos:

origem, potenciadores e soluções. *Acta Farmacêutica Portuguesa*, 8(1), 69-80.

Sapkota, A., Sapkota, A. R., Kucharski, M., Burke, J., McKenzie, S., Walker, P., & Lawrence, R. (2008). Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. *Environment international*, 34(8), 1215-1226. doi:10.1016/j.envint.2008.04.009

Scherr, C., Gagliardi, A. C. M., Miname, M. H., & Santos, R. D. (2014). Fatty Acid and Cholesterol Concentrations in Usually Consumed Fish in Brazil. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. doi:10.5935/abc.20140176

Sicherer, S. H., Muñoz-Furlong, A., & Sampson, H. A. (2004). Prevalence of seafood allergy in the United States determined by a random telephone survey. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(1), 159-165. doi:10.1016/j.jaci.2004.04.018

Silva, C. B. M. (2016). Filogenia molecular e filogeografia do gênero *Salminus* (Characiformes). Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/9371>>

Turner, P., Ng, I., Kemp, A., & Campbell, D. (2011). Seafood allergy in children. *Clinical and Translational Allergy*, 1(S1). doi:10.1186/2045-7022-1-s1-p36

Vandamme, S. G., Griffiths, A. M., Taylor, S. A., Di Muri, C., Hankard, E. A., Towne, J. A., ... & Mariani, S. (2016). Sushi barcoding in the UK: another kettle of fish. *PeerJ*, 4, e1891. doi:10.7717/peerj.1891

Viana, D. D. L. (2012). Pesca e Dinâmica Populacional do Peixe-prego, *Ruvettus pretiosus* (Cocco, 1829) no Arquipélago de São Pedro e São Paulo. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. Disponível em: <<https://attena.ufpe.br/handle/123456789/12159>>

Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., & Hebert, P. D. (2005). DNA Barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857. doi:10.1098/rstb.2005.1716

Warner, K., Mustain, P., Carolin, C., Disla, C., Golden, R., Kroner, B. L., & Hirshfield, M. (2015). Oceana reveals mislabeling of America's favorite fish: salmon. *Oceana*, Washington, DC. Disponível em: <http://usa.oceana.org/sites/default/files/salmon_testing_report_finalupdated.pdf>

- Willette, D. A., Simmonds, S. E., Cheng, S. H., Esteves, S., Kane, T. L., Nuetzel, H., ... & Barber, P. H. (2017). Using DNA Barcoding to track seafood mislabeling in Los Angeles restaurants. *Conservation Biology*, 31(5), 1076-1085. doi:10.1111/cobi.12888
- Wong, E. H. K., & Hanner, R. H. (2008). DNA Barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Research International*, 41(8), 828–837. doi:10.1016/j.foodres.2008.07.005
- Xiong, X., D'Amico, P., Guardone, L., Castigliero, L., Guidi, A., Gianfaldoni, D., & Armani, A. (2016). The uncertainty of seafood labeling in China: A case study on Cod, Salmon and Tuna. *Marine Policy*, 68, 123-135. doi:10.1016/j.marpol.2016.02.024
- Zupo, V., Graber, G., Kamel, S., Plichta, V., Granitzer, S., Gundacker, C., & Wittmann, K. J. (2019). Mercury accumulation in freshwater and marine fish from the wild and from aquaculture ponds. *Environmental Pollution*, 112975. doi:10.1016/j.envpol.2019.112975

APÊNDICE

Amostra		GenBank***				BOLD (Public Record Barcode Database)***				IUCN****		
ID	Peixe informado	Tamanho (pb)	Espécie encontrada BLAST	Cobertura (%)	Identidade (%)	n° de Acesso	Voucher (% Identidade) / n° de Acesso	Espécie encontrada	Similaridade (%)	n° de Acesso	BIN	Estado de ameaça
1	Prego	674	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	97	100,00	FJ605797.1	JHL558	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100	FJ605797	BOLD: AAB9115	Pouco preocupante (LC)
2	Linguado	678	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100	100,00	KR080263.1	BIF3671 (100.00%) / KU692728.1	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100	BW-1780	BOLD: AAE3237	Em perigo (EN) A2bd+4bcd
3	Prego	668	<i>Bactéria (Pseudomonas sp.)</i>	100	99,55	CP012676.1		Não encontrado				
4	Prego		Não sequenciada									
5	Meca	672	<i>Xiphias gladius</i>	98	99,85	JN083389.1	MCFS07251 (99.85%) / KJ709951.1	<i>Xiphias gladius</i>	99,85	JN083389	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
6	Linguado	677	<i>Paralichthys patagonicus</i>	96	99,85	JQ365477.1	HRCB: 53035	<i>Paralichthys patagonicus</i>	100	INIDEP-T 0434	BOLD: AAE2996	Não avaliada (NE)
7	Prego	690	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	94	100,00	FJ605797.1	JHL558	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100	FJ605797	BOLD: AAB9115	Pouco preocupante (LC)
8	Tilápia		Não sequenciada									
9	Linguado	704	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	92	99,85	EU074519.1	INIDEP-T 0321	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100	INIDEP-T 0659	BOLD: AAC0146	Não avaliada (NE)
10	Tilápia		Não sequenciada									
11	Meca	674	<i>Xiphias gladius</i>	99	100,00	HM007787.1	US<ZAF>09071	<i>Xiphias gladius</i>	100	ADC251,1-1	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
12	Meca	672	<i>Xiphias gladius</i>	99	100,00	AP006036.1	US<ZAF>09071 (100.00%) / HM007787.1	<i>Xiphias gladius</i>	100	ADC251,1-1	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
13	Prego		Não sequenciada									
14	Tilápia	722	<i>Oreochromis sp.*</i>	94	100,00	KU565856.1		<i>Oreochromis sp.*</i>	100			Em Perigo Crítico (CR)**
15	Prego		Não sequenciada									
16	Prego	698	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	93	99,85	FJ605797.1	JHL558	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100	FJ605797	BOLD: AAB9115	Pouco preocupante (LC)
17	Tilápia	685	<i>Oreochromis sp.*</i>	98	100,00	DQ856611.1		<i>Oreochromis sp.*</i>	100			Em Perigo Crítico (CR)**
18	Tilápia	676	<i>Oreochromis sp.*</i>	100	99,85	MF509597.1		<i>Oreochromis sp.*</i>	100			Em Perigo Crítico (CR)**
19	Tilápia	699	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	93	100,00	FJ605797.1	JHL558	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100	FJ605797	BOLD: AAB9115	Pouco preocupante (LC)
20	Prego	677	<i>Xiphias gladius</i>	98	100,00	HM007787.1	US<ZAF>09071	<i>Xiphias gladius</i>	100	ADC251,1-1	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
21	Tilápia	674	<i>Oreochromis sp.*</i>	1	100,00	MF509597.1		<i>Oreochromis sp.*</i>	100			Em Perigo Crítico (CR)**
22	Prego	682	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	96	100,00	FJ605797.1	JHL558	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100	FJ605797	BOLD: AAB9115	Pouco preocupante (LC)
23	Prego	675	<i>Xiphias gladius</i>	99	100,00	HM007787.1	US<ZAF>09071	<i>Xiphias gladius</i>	100	ADC251,1-1	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
24	Tilápia	691	<i>Oreochromis sp.*</i>	97	100,00	KM438535.1		<i>Oreochromis sp.*</i>	100			Em Perigo Crítico (CR)**
25	Tilápia	675	<i>Oreochromis sp.*</i>	100	100,00	KU565856.1		<i>Oreochromis sp.*</i>	100			Em Perigo Crítico (CR)**
26	Prego	678	<i>Xiphias gladius</i>	97	100,00	JN083389.1	MCFS07251 (100.00%) / KJ709951.1	<i>Xiphias gladius</i>	100	JN083389	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
27	Prego	664	<i>Bactéria (Pseudomonas sp.)</i>	100	98,49	CP012676.1		Não encontrado				
28	Prego		Não sequenciada									
29	Meca	641	<i>Xiphias gladius</i>	100	100,00	JN083389.1	US<ZAF>09071 (99.53%) / HM007787.1	<i>Xiphias gladius</i>	100	JN083389	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
30	Meca	678	<i>Xiphias gladius</i>	96	100,00	DQ107627.1	BW-A894	<i>Xiphias gladius</i>	100	BW-A894	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
31	Linguado	678	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100	100,00	KR080263.1	BIF3671 (100.00%) / KU692728.1	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100	BW-1780	BOLD: AAE3237	Em perigo (EN) A2bd+4bcd
32	Prego		Não sequenciada									
33	Dourado	689	<i>Coryphaena hippurus</i>	96	99,85	KU199187.1	MX919 (99.85%) / GU225570.1	<i>Coryphaena hippurus</i>	99,85	MX919	BOLD: AAA5277	Pouco preocupante (LC)
34	Prego		Não sequenciada									
35	Namorado	676	<i>Pseudoperca semifasciata</i>	96	100,00	EU074517.1	INIDEP-T 0079	<i>Pseudoperca semifasciata</i>	100	INIDEP-T 0082	BOLD: AAD9327	Não avaliada (NE)
36	Linguado	674	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	96	100,00	EU074519.1	INIDEP-T 0321	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100	INIDEP-T 0700	BOLD: AAC0146	Não avaliada (NE)
37	Meca		Não sequenciada									
38	Prego		Não sequenciada									
39	Meca	677	<i>Xiphias gladius</i>	98	100,00	HM007787.1	US<ZAF>:09071	<i>Xiphias gladius</i>	100	ADC251,1-1	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
40	Prego	675	<i>Oreochromis sp.*</i>	100	100,00	MF509597.1		<i>Oreochromis sp.*</i>	100			Em perigo crítico (CR)**
41	Dourado		Não sequenciada									
42	Linguado	689	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	98	100,00	KR080263.1	BIF3671 (100.00%) / KU692728.1	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	100	BW-1780	BOLD: AAE3237	Em perigo (EN) A2bd+4bcd
43	Meca	676	<i>Xiphias gladius</i>	100	100,00	KC016041.1	05-631-002g4	<i>Xiphias gladius</i>	100	05-633-002-a5	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)
44	Prego	691	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	94	100,00	FJ605797.1	JHL558	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100	FJ605797	BOLD: AAB9115	Pouco preocupante (LC)
45	Linguado	674	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	96	99,85	EU074519.1	INIDEP-T 0321	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100	INIDEP-T 0643	BOLD: AAC0146	Não avaliada (NE)
46	Linguado	678	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	96	99,85	EU074519.1	INIDEP-T 0321	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100	INIDEP-T 0659	BOLD: AAC0146	Não avaliada (NE)
47	Olhete	674	<i>Seriola rivoliana</i>	96	100,00	JN312916.1	BW-A10259	<i>Seriola rivoliana</i>	100	BW-A10259	BOLD: AAB9420	Pouco preocupante (LC)
48	Pargo	679	<i>Sparus aurata</i>	96	100,00	EU752073.1	CHRYAURA-196-003 CERT	<i>Sparus aurata</i>	100			
			<i>Pagrus pagrus</i>	95	100,00	KY802034.1	ML14	<i>Pagrus pagrus</i>	100	INIDEP-T 0639	BOLD: AAC8526	Pouco preocupante (LC)
			<i>Oblada melanura</i>	92	99,21	HM590728.1	Sem voucher	<i>Oblada melanura</i>	99,05	HM590728	BOLD: AAC8526	Pouco preocupante (LC)
49	Linguado	674	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	96	99,85	EU074519.1	INIDEP-T 0321	<i>Paralichthys orbignyanus</i>	100	INIDEP-T 0643	BOLD: AAC0146	Não avaliada (NE)
50	Prego	678	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	96	100,00	FJ605797.1	JHL558	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	100	FJ605797	BOLD: AAB9115	Pouco preocupante (LC)
51	Prego		Não sequenciada									
52	Linguado	675	<i>Paralichthys patagonicus</i>	96	99,69	JQ365477.1	HRCB:53035	<i>Paralichthys patagonicus</i>	99,85	INIDEP-T 0434	BOLD: AAE2996	Não avaliada (NE)
53	Meca	677	<i>Xiphias gladius</i>	98	100,00	HM007787.1	US<ZAF>:09071	<i>Xiphias gladius</i>	100	ADC251,1-1	BOLD: AAA6300	Pouco preocupante (LC)

Nota: As amostras em destaque indicam problemas de correspondência ou alguma imprecisão na classificação

*As sequências identificadas como *Oreochromis sp* apresentaram 100% de identidade e similaridade para mais de uma espécie do mesmo gênero.

**Várias espécies de Tilápia estão classificadas como Em perigo crítico (CR) de acordo com IUCN, desta forma foi colocado na tabela o estado mais crítico de ameaça encontrado em *Oreochromis spp*.

***Pesquisas nos bancos GenBank e BOLD realizadas em 15/08/2019.

****Estado de conservação mundial da população de acordo com os critérios da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN 2019).