

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU**

**Filogeografia do tubarão martelo *Sphyrna zygaena*
(Chondrichthyes, Sphyrnidae) do Atlântico utilizando marcadores
moleculares.**

Bruno Alexandre de Franco

**Botucatu
2015**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU**

**Filogeografia do tubarão martelo *Sphyrna zygaena*
(Chondrichthyes, Sphyrnidae) do Atlântico utilizando marcadores
moleculares.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor

Aluno: Bruno Alexandre de Franco

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fernandes Mendonça

Co-orientador: Prof. Dr. Fausto Foresti

Botucatu

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Franco, Bruno Alexandre de.

Filogeografia do tubarão martelo *Sphyrna zygaena* (Chondrichthyes, Sphyrnidae) do Atlântico utilizando marcadores moleculares / Bruno Alexandre de Franco. - Botucatu, 2015

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Fernando Fernandes Mendonça

Coorientador: Fausto Foresti

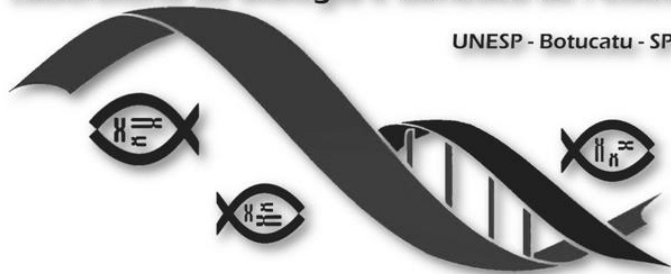
Capes: 20204000

1. Tubarão - População. 2. Genética de populações. 3. Sequenciamento de nucleotídeo. 4. Filogeografia. 5. Pesca.

Palavras-chave: Conservação; Estrutura populacional; Genética de populações; Manejo da pesca; *Sphyrna zygaena*.

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

UNESP - Botucatu - SP



UNESP



Instituto de Biociências



Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

Agradecimentos

"Se você quer ir rápido, vá sozinho, se quiser ir longe, vá acompanhado" (provérbio africano). Quando estamos acompanhados somos mais fortes, mais intensos, mais capazes e vamos mais longe. Assim, sou eternamente grato por todos que me acompanharam, colaboraram ou de alguma forma fizeram parte deste modesto trabalho que encerra mais um ciclo importante em minha vida.

Agradeço a todo apoio financeiro que me foi dado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e pelo Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Agradeço ao meu amigo, colega de faculdade e de banda, colega de laboratório, incentivador e orientador, Professor Fernando F. Mendonça. Obrigado pela paciência, parceria, ensinamentos e motivação. Fico orgulhoso por ter sido seu primeiro aluno de doutorado.

Ao Professor Fausto Foresti, orientado/co-orientador, pelo incentivo e também por seus conselhos e ensinamentos, e aproveito para falar da unânime e profunda admiração que eu e todos seus alunos temos pelo senhor. Ao professor Claudio Oliveira da UNESP de Botucatu, pelos conselhos, bate-papos, por suas ajudas em tempo recorde e por ser o provedor indispensável a todos os alunos do laboratório. Ao Doutor Rui Coelho, do Centro de Ciências do Mar do Algarve, por toda sua colaboração e amizade que foram essenciais para tornar possível este trabalho. A Dra, Jennifer Ovenden e ao Dr. Vic Pedermors, da The University of Queensland, pela parceria e colaboração.

Agradeço a minha família de Botucatu, Ronald Ribeiro e Soraia, Jefferson Henriques, Micheli Montañó, Fabio Roxo, Leandro Agati, Fernando Yuldi e família, e Maíra Malta.

Agradeço a todos meus amigos do laboratório, aos funcionários do Departamento de Morfologia e a todos os servidores da Seção de Pós-Graduação do Instituto de Biociências de Botucatu.

As minhas amigas, Bernadete Bronzi e Luciana Bronzi, pelas ajudas, companhia, incentivo e pelo caminho que percorremos juntos.

Ao meu pai, meu herói e maior exemplo de vida. A minha mãe, Leda, (In Memoriam) e ao meu “amigão” e avô Murilo (In Memoriam). A minhas amigas e irmãs Ana Paula e Patrycia. Aos meus cunhados Adriano e Marcos. A minha outra mãe, Cláudia, pelo apoio e carinho. A minha Tia-avó/madrinha, Olga, e a minha avó Helena, que deram carinho, incentivo e ajudas infindáveis em todos os momentos. Enfim, agradeço ao meu bem mais precioso, minha família.

Resumo

A crescente exploração pesqueira de diversas espécies de tubarões nas últimas décadas tem se tornado um assunto de preocupação internacional. Tal situação tem determinado a realização de levantamentos sobre o estado atual das populações, tornando urgente a disponibilização de informações que auxiliem no estabelecimento de planos de conservação. Dentre as espécies mais exploradas, o tubarão martelo *Sphyrna zygaena* está classificado mundialmente como Vulnerável, já tendo sido incluída na lista de restrições de comércio internacional da Comissão Internacional para o Comércio de Espécies Ameaçadas. Assim, dada a urgente necessidade da formulação de programas de controle sustentável da pesca, este estudo busca caracterizar a estrutura genética populacional da espécie *S. zygaena* no Oceano Atlântico utilizando marcadores moleculares do DNA mitocondrial.

Neste trabalho apresentam-se os resultados sobre a estrutura genética populacional do tubarão-martelo, *Sphyrna zygaena*, utilizando sequências da região controladora do DNA mitocondrial de espécimes capturados em diversas regiões do Oceano Atlântico (191) e em pontos dos oceanos Índico (21) e Pacífico (39). A análise realizada em 733 nucleotídeos de 251 indivíduos resultou na identificação de nove haplótipos pela combinação de sete sítios polimórficos. Os índices de variabilidade genética da espécie, considerando a totalidade das amostras, foi de 0,00177 para diversidade nucleotídica e 0,519 para diversidade haplotípica. Na estimativa de diferenciação genética pelo método de Análise de Variância Molecular observa-se que há forte estruturação populacional ($F_{ST} = 0.78149$) e baixo fluxo gênico da espécie entre o Oceano Atlântico e a região do Indo-Pacífico, caracterizando estoques genéticos distintos. Entre os grupos amostrais do Atlântico, onde o maior número de amostras possibilitou análises em fina escala, não foram

observados índices de diferenciação populacional. Em programas visando a conservação desta espécie, uma especial atenção deve ser dada tendo em vista os índices de baixa variabilidade genética e a caracterização de duas unidades de manejo distintas, sendo estas do Atlântico e Indo-Pacífico.

Sumário

1 Introdução	10
<i>1.1 Sphyrna zygaena e a exploração pesqueira.</i>	10
<i>1.2 Estrutura e variabilidade populacional</i>	13
2 Objetivos	15
3 Material e Métodos	16
<i>3.1 Caracterização das amostras, extração de DNA e Sequenciamento</i>	16
4 Resultados	19
<i>4.1 Caracterização das sequências e diversidade genética</i>	19
<i>4.2 Estrutura populacional no Oceano Atlântico</i>	22
<i>4.3 Estrutura populacional entre os Oceanos Atlântico, Índico e Pacífico</i>	24
<i>4.4 Expansão Populacional</i>	27
5 Discussão	29
<i>5.1 Diversidade Genética</i>	29
<i>5.2 Estrutura populacional</i>	31
<i>5.3 Conservação</i>	33
6 Conclusões	34
7 Referências	36

1 Introdução

1.1 *Sphyrna zygaena* e a exploração pesqueira.

Tubarões e raias formam o grupo dos elasmobrânquios e estão entre os vertebrados de maior sucesso evolutivo, com uma história de vida que se iniciou há cerca de 400 milhões de anos atrás, ainda no período Devoniano (Castro 1987). A importância dos tubarões é fortemente acentuada do ponto de vista trófico, já que, consumindo grande espectro de organismos, a maioria das espécies ocupa posição de destaque na cadeia alimentar dos ecossistemas marinhos, sobretudo daqueles em regiões tropicais e subtropicais (Camhi et al. 1998).

O aumento da exploração das populações de tubarões nas últimas décadas tem se tornado um assunto de preocupação internacional. Dados sobre a captura de tubarões, uso e descarte ainda são escassos para a maioria das espécies, impedindo a avaliação adequada dos estoques. Como resultado, o estado de conservação e o potencial de exploração de muitas das populações de tubarões do mundo permanecem desconhecidos. Consequentemente, poucas populações de tubarões são gerenciadas e muitas estão sujeitas à sobrepesca (Shivji et al. 2002, Hareide et al. 2007). Os atuais níveis de sobreexploração aos quais os tubarões têm sido submetidos vêm causando drásticos declínios populacionais em diversas espécies, colocando várias delas nas listas de risco de extinção. Entre as espécies de tubarões impactados pela pesca, a espécie *Sphyrna zygaena*, com ocorrência em todos os oceanos subtropicais e temperados, encontra-se classificada como "Vulnerável, de acordo com a União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN) e foi incluída recentemente na Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Silvestres Ameaçadas de Extinção (CITES). A espécie está

relacionada entre os tubarões com maior valor comercial, devido aos preços atingidos pelas suas nadadeiras no mercado asiático.

A captura de elasmobrânquios tem alcançado números alarmantes com a inclusão de diversas espécies nas listas de risco de extinção nacionais e internacionais. Dados estatísticos da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) registraram no ano de 2012 a captura mundial de 765.000 toneladas de elasmobrânquios. Segundo a FAO, o Brasil é responsável pela captura de cerca de 12.000 toneladas anuais de tubarões (Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA) e a partir do ano 2000 passou a ser considerado pela IUCN como um dos seis países que mais capturam elasmobrânquios em todo o mundo, sendo incluído na categoria “Major Shark fishing State”. Deste grupo, também fazem parte os EUA, África do Sul, Costa Rica, Austrália e Oman (Lack e Sant 2006).

O processo de remoção das barbatanas (shark finning) e devolução do restante do tubarão ao mar tem sido uma prática comum nas pescarias em todo o mundo durante décadas, apesar dos esforços conservacionistas e da continua ampliação de leis nacionais e internacionais para coibir a prática. Desde 1998, a prática é proibida em território brasileiro. No entanto, apenas em 2012 passou a ser obrigatório o desembarque dos tubarões e raias com as nadadeiras naturalmente aderidas ao corpo (IBAMA. Portaria N° 14, de 26 de Novembro de 2012). Apenas após os procedimentos de registro e fiscalização as nadadeiras podem ser cortadas para o envio ao comércio asiático. No entanto, o aumento na demanda global de barbatanas de tubarão desde o início de 1980 fizeram com que sua prática se intensificasse (Clarke et al. 2006). Atualmente considera-se as barbatana de tubarão um dos itens mais caros dentre os frutos do mar. Quando secas, alcançam preços que giram acima de 200 dólares o quilo (Rose e McLoughlin, 2001).

A história de vida dos tubarões os torna particularmente vulneráveis à sobrepesca, uma vez que possuem crescimento lento, maturação sexual tardia e apresentam baixa fecundidade (Shivji et al. 2002, Hareide et al. 2007). Dentre as espécies de grande porte comumente capturadas nas pescarias oceânicas no Atlântico, algumas já apresentam declínios populacionais acima de 50% de acordo com os registros dos últimos 10 anos (Baum et al. 2003). Estimativas realizadas a partir de desembarques de frotas pesqueiras dos EUA apresentaram um declínio de aproximadamente 90% para as espécies do gênero *Sphyrna* (tubarões-martelo) (Compagno 2001).

Sphyrna zygaena é uma espécie de tubarão pelágico costeiro ou semioceânico e distribui-se desde a superfície até 150 m de profundidade, apresentando uma ampla distribuição sobre a plataforma continental de todos os continentes (Compagno 1984, Steel 1985, Gadig 2001). Para esta mesma espécie, dados referentes às capturas no Atlântico Sul ainda são inconsistentes. O tubarão *S. zygaena* está listado entre as espécies altamente migradoras pela Convenção das Nações Unidas Sobre os Direitos do Mar e os membros desta convenção, do qual o Brasil faz parte, são convocados a cooperar na gestão das espécies relacionadas.

Segundo esta convenção, é urgente a necessidade de coleta de dados e avaliações das populações desta espécie. Em uma revisão de pesca mundial de elasmobrânquios, Bonfil (1994) lista *S. zygaena* nas capturas dirigidas ao longo da costa leste e oeste dos EUA, Brasil, Espanha, Taiwan e Filipinas. A espécie também é capturada no sudoeste da Austrália (Heald 1987) e na África ocidental (Castro e Mejuto 1995).

1.2 Estrutura e variabilidade populacional

Mesmo considerando a crescente captura de elasmobrânquios determinada pela atividade pesqueira, com a contínua inclusão de novas espécies nas listas de risco de extinção e também a inexistência de mecanismos apropriados para o manejo sustentável das espécies mais exploradas, ainda são mundialmente pouco expressivos os estudos sobre a estrutura genética de populações de tubarões e raias. As informações disponíveis nesta área são decorrentes principalmente dos trabalhos de Heist et al. (1995 e 1996), Heist e Gold (1999) e Keeney et al. (2003) que estudaram a estrutura genética de *Carcharhinus plumbeus* e *Rhizoprionodon terranovae* entre o Atlântico e o golfo do México; Gaida (1997) com estudos entre populações de *Squatina californica* do oceano Pacífico; Feldheim et al. (2001, 2002 e 2004) em estudos com *Negaprion brevirostris* no Atlântico Ocidental; Kenney et al. (2005) e Keeney e Heist (2006) que analisaram populações de *Carcharhinus limbatus* no oceano Pacífico e Atlântico Ocidental e; Duncan et al. (2006) que estudaram a espécie *Sphyrna lewini*, incluindo populações dos oceanos Pacífico, Índico e Atlântico. Blower et al. (2012) estudaram *Carcharodon carcharias* nas regiões sudeste e sudoeste da Austrália, Vignaud et al. (2014) estudaram a espécie *Rhincodon typus* nos Oceanos Atlântico, Pacífico e Índico e Garcia et al. (2015) com estudos de populações de *Squatina guggenheim* no sudoeste do Atlântico. Em todos estes trabalhos foram encontrados baixos níveis de variabilidade genética e estruturação definida em populações de tubarões explorados vigorosamente pela pesca, o que já se caracteriza um forte indicativo da necessidade da proposição e estabelecimento de programas de conservação em populações locais.

A identificação e manutenção de estoques diferenciados são fundamentais, principalmente para o setor pesqueiro, pela sua relação direta com a produtividade

total e uso sustentável dos recursos (Carvalho e Hauser 1994). Um dos objetivos básicos para programas de controle e conservação de espécies em perigo é a conservação da variabilidade genética (Lacy e Lindenmayer 1995). Essa questão é especificamente relevante no ambiente marinho, onde as barreiras físicas parecem ser menos efetivas (Awise 1994, Palumbi 1994), sugerindo uma tendência à homogeneização genética (Ward et al. 1995, Levy e Cassano 1994, Bonhomme et al. 2002). Contudo, a premissa errônea de que populações marinhas são geneticamente uniformes pode estimular a sobrepesca, reduzindo ainda mais os níveis de variabilidade, diminuindo a produção comercial total e podendo eliminar estoques locais (Smith et al. 1990, Kuusipalo 1999).

Os conhecimentos sobre marcadores de DNA evoluíram do seu estado experimental e estão sendo atualmente incorporados a programas de conservação de espécies, de forma prática e eficiente. Já há algum tempo, os padrões de DNA mitocondrial (mtDNA) vêm sendo reconhecidos como marcadores potencialmente importantes em estudos de linhagens de peixes (Ferris e Berg 1987, Toledo Filho et al. 1992), sendo capazes de distinguir populações geográficas com grande eficiência através da identificação de haplótipos (Bermingham e Martin 1998, Kotlik e Berrebi 2002, Patarnello et al. 2003, Falk et al. 2003, Perdices et al. 2004, Strecker et al. 2004, Wang et al. 2004). No genoma do DNA mitocondrial, uma região não codificadora conhecida como D-loop é especialmente relevante em estudos populacionais. Por conter os maiores trechos de DNA não codificante e exibir a maior taxa de substituição do DNA mitocondrial, a região controladora deste genoma, tem sido amplamente utilizada para entender a estruturação populacional também em elasmobrânquios.

Considerando as questões relacionadas à sustentabilidade de espécies fortemente impactadas pela pesca, a escassez de informações que viabilizem o manejo adequado e o potencial de aplicação dos dados genéticos em conservação, o presente estudo utilizou sequências da região controladora do DNA mitocondrial para acessar os níveis de variabilidade genética e seus padrões de distribuição populacional do tubarão-martelo, *Sphyrna zygaena*, nos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico.

2 Objetivos

O presente trabalho abordou questões acerca da dinâmica genética das populações da espécie *S. zygaena*, em exemplares capturados pelas frotas pesqueiras em diversos pontos do Oceano Atlântico e em regiões no Indo-Pacífico, utilizando marcadores moleculares da região controladora do DNA mitocondrial. Tais resultados deverão servir para um melhor entendimento da estrutura das populações existentes, determinação dos níveis de variabilidade genética e sua relação com a pesca sustentável e para a caracterização de áreas prioritárias a serem estabelecidas em programas de manejo.

- Para o desenvolvimento do trabalho, foram listados os objetivos específicos:

- Identificar o número e a distribuição geográfica dos haplótipos de DNA mitocondrial, que formam os estoques do tubarão *S. zygaena* no Oceano Atlântico e regiões do Índico-Pacífico.
- Propor uma hipótese filogeográfica estabelecendo as relações entre as populações desta espécie na área estudada.
- Avaliar a ocorrência de padrões de estruturação populacional desta espécie no Atlântico e suas relações no Indo-Pacífico.

- Subsidiar programas de manejo adequados e exploração sustentável dos estoques pesqueiros de *S. zygaena* no Atlântico.

3 Material e Métodos

3.1 Caracterização das amostras, extração de DNA e Sequenciamento

As amostras utilizadas neste estudo foram coletadas principalmente por pesquisadores do Laboratório de Genética Pesqueira e Conservação da UNIFESP e Laboratório de Biologia e Genética de Peixes da UNESP de Botucatu e foram fornecidas, também por pesquisadores colaboradores do Centro de Ciências do Mar da Universidade do Algarve e Instituto Português do Mar e Atmosfera que operam em embarcações no Atlântico e no Índico e colaboradores australianos do Molecular Fisheries Laboratory-University of Queensland (Figura 1).

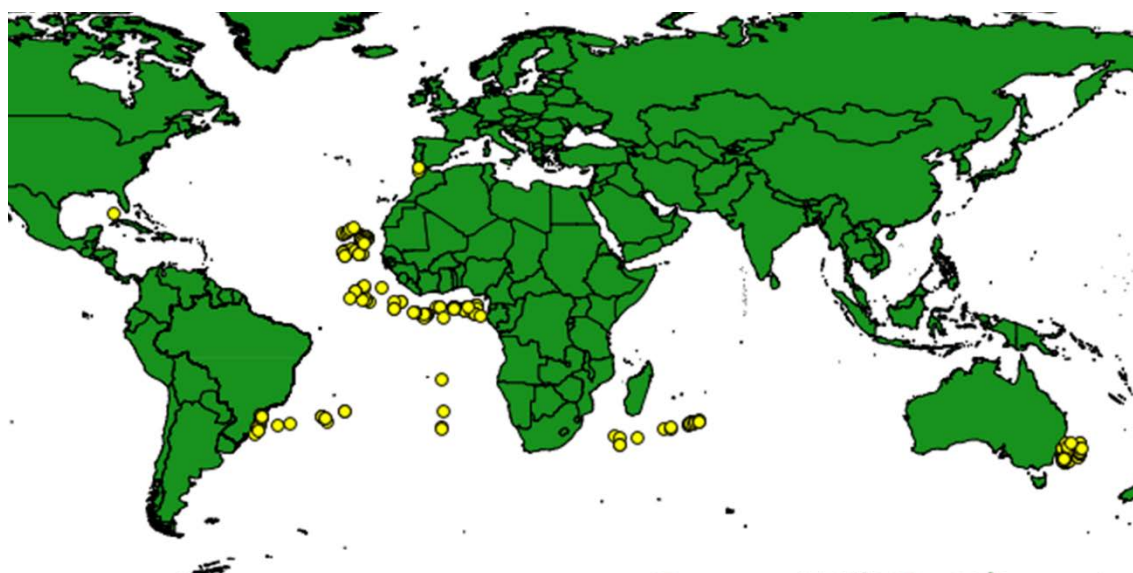


Figura 1. Localização geográfica das amostras de *S. zygaena* coletadas. Cada amostra está representada por um círculo amarelo, podendo haver ou não sobreposição.

As amostras de *Sphyrna zygaena* foram obtidas no Oceano Índico próximas a Ilha de Madagascar (n=21), no Oceano Pacífico na porção leste da costa da Austrália (n=39) e no Oceano Atlântico, em sete regiões diferentes, sendo na costa da Flórida nos EUA (n=1); costa do Algarve em Portugal (n=2); Sudoeste do Atlântico, próximas ao Brasil (n=28); Sudeste do Atlântico, próximas a costa de Angola (n=6), Norte equatorial próximas a Cabo Verde (n=41); Leste Equatorial, localizadas no Golfo da Guiné (n=79) e Oeste Equatorial, próximas a Dorsal Meso-atlântica (n=34).

Após a identificação dos animais capturados, pequenas amostras de tecidos de cada espécime foram preservadas em etanol a 95%. Alguns exemplares inteiros, representando regiões amostradas, foram mantidos na coleção do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (LBGP) da Universidade Estadual Paulista UNESP, São Paulo – Brasil e todas as amostras utilizadas neste trabalho foram depositadas na mesma coleção, a qual é credenciada no Ministério do Meio Ambiente como Fiel depositária do Patrimônio Genético.

O DNA genômico foi extraído de células musculares ou epiteliais, usando o método de extração salina descrita por Aljanabi e Martinez (1997). As reações de amplificação da região controle foi realizada utilizando os primers D-loop F 5'-CTC CCA CCA AGA AAG TTC TG-3 e D-loopR 5'-GGC CGC TTA TGT AGG CTT CTT GG-3' descritos por Mendonça *et al.* (2009) utilizando 25 µl de solução com 0,8 mM de dNTP, 1,5 mM de MgCl₂, tampão da enzima Taq DNA polimerase (Tris-HCl 20 mM pH 8,4 e 50 mM KCl), uma unidade da enzima Taq polimerase (Invitrogen) e 0,5 µl com 10 mM de primers. Cada ciclo de amplificação por PCR foi realizado basicamente pela desnaturação a 95°C por 30 segundos, hibridação a 55°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto, com 35 repetições. Os segmentos de DNA

amplificados foram visualizados em gel de agarose a 2%, corado com GelGreen Nucleic Acid Gel Stain (Biotium[®]), sob luz ultravioleta. Em seguida os produtos da PCR foram marcados com o BigDye versão Terminator Cycle Sequencing Kit 3,1 (Applied Biosystems, Inc.) e aplicados no sequenciador automático ABI 3130 Genetic Analyser Applied Biosystems. As seqüências de DNA obtidas foram alinhadas e editadas manualmente no programa BioEdit Sequence Alignment Editor (Hall 1999). Para a determinação dos números de haplótipos e de sítios segregantes, número de freqüência e diversidade de haplótipos, assim como valores de diversidade nucleotídica e haplotípica foi utilizado o programa DNAsp Sequence Polymorphism (Rozas et al. 2003).

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) (Excoffier et al. 1992) foi realizada para testar a hipótese de homogeneidade a genética espacial entre os haplótipos do DNA mitocondrial com a aplicação do programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010) que utiliza a estatística F de Wright (1951, 1965). Nestas análises foram avaliadas as subdivisões das variações genéticas. Nas análise de estruturação de populações segundo Wright (1978), os valores de F_{ST} entre 0 e 0,05 denotam uma baixa estruturação genética; entre 0,05 e 0,15, uma estruturação moderada; entre 0,15 e 0,25, uma estruturação classificada como alta e acima de 0,25, uma forte estruturação genética. A significância estatística da F_{ST} é determinada pelas permutações não-paramétricas, considerando-se 1000 permutações (Excoffier et al. 2005). Os testes estatísticos de neutralidade F_s de Fu e D de Tagima, também foram obtidos através programa Arlequin 3.5. As regiões geográficas mais próximas foram agrupadas para avaliar a homogeneidade genética dentro e entre as regiões e aos pares de regiões.

A matriz de distância genética e a rede de haplótipos foram obtidas por meio do programa MEGA 5.0 (Tamura et al. 2011) sendo que rede de haplótipos foi elaborada com critérios de parcimônia estatística através do programa Network 4.6 (Bandelt et al. 1999). Para avaliar a história demográfica de *S. zygaena* foi realizado o teste de distribuição das diferenças genéticas entre os pares de haplótipos de acordo com o modelo de expansão súbita (Mismatch distributions).

Para o cálculo do tempo t decorrido desde a expansão, empregou-se a fórmula $t = \tau/2u$, onde t é o tempo decorrido desde o evento de expansão e u é a taxa global de evolução do haplótipo. Para estimar u multiplica-se a taxa de mutação por sítio por ano pelo número de nucleotídeos da molécula. Para o cálculo do tamanho populacional das fêmeas antes da expansão é utilizada a fórmula $Ne_0 = \theta_0/2U$ e para o cálculo do tamanho populacional após a expansão usa-se $Ne_1 = \theta_1/2U$. A taxa de mutações empregadas para a região controle foi de 0.8% por milhão de anos, de acordo com Duncan et al. (2006).

4 Resultados

4.1 Caracterização das sequências e diversidade genética

O sequenciamento da região D-loop de 251 indivíduos da espécie *S. zygaena* resultou em 733 nucleotídeos analisáveis, com sete sítios polimórficos e nove haplótipos (Tabela 1 e 2). A frequência nucleotídica observada foi A=0.317, T=0.18, C=0.282 e G=0.127. Os índices de diversidades haplotípica (h) e nucleotídica (π) entre todos os grupos amostrais foram $h=0,519$ e $\pi=0.00177$. Os valores de h e π de cada grupo estão representados na Tabela 3. O haplótipo H1, representado por 164 indivíduos (65,34% do total), foi observado em todas as áreas amostradas no Oceano

Atlântico. Os haplótipos H1, H6, H7, H8 e H9 foram compartilhados exclusivamente por representantes do Oceano Atlântico, totalizando 168 espécimes (70%). Os haplótipos H2 e H3 foram encontrados nos três oceanos, sendo que o primeiro teve a sua maioria de indivíduos provenientes do Oceano Pacífico (54%). O haplótipo H5 foi o único pertencente exclusivamente ao Oceano Índico, e o Oceano Pacífico não apresentou exclusividade em nenhum haplótipo (Tabelas 2).

Tabela 1. Posições polimórficas entre os haplótipos de *S. zygaena*. Os diferentes haplótipos estão listados na coluna à esquerda e os sítios polimórficos apresentam-se na linha superior.

Haplótipos	Sítios polimórficos						
	0	1	1	3	3	5	5
	9	3	5	2	5	1	7
	2	1	0	5	5	7	8
1	T	G	A	C	T	C	C
2	A	A	A
3	.	A	A
4	A	A	.	.	.	T	A
5	.	A	.	.	.	T	A
6	.	.	.	A	.	.	.
7	A	.	.
8	.	A
9	.	.	G

Tabela 2. Distribuição geográfica dos haplótipos de *S. zygaena* com os números de indivíduos de cada região. Os números em negrito representam os espécimes dos haplótipos exclusivos de cada área amostrada.

Haplótipo	Atlântico (191)	Índico (21)	Pacífico (39)
H1	164	.	.
H2	13	12	29
H3	10	6	9
H4	.	2	1
H5	.	1	.
H6	1	.	.
H7	1	.	.
H8	1	.	.
H9	1	.	.

Tabela 3. Estatísticas populacionais de *S. zygaena*: n, tamanho amostral; N, número de haplótipos; h, diversidade haplotípica; π , diversidade nucleotídica.

	n	H	h	π
Atlântico	191	7	0.2566 +/- 0.0407	0.084683 +/- 0.075402
Índico	21	4	0.6095+/-0.0865	0.103401+/- 0.089704
Pacífico	39	3	0.4035+/-0.0764	0.059379+/- 0.061667
Indo-pacífico	60	4	0.074899+/- 0.0407	0.4757+/-0.0593
Total	251	9	0.519+/-0.0009	0,00177+/- 0.00157

4.2 Estrutura populacional no Oceano Atlântico

Na estimativa de diferenciação populacional utilizando o método AMOVA foi encontrada ausência ou fraca estruturação populacional entre os grupos das cinco localidades do Oceano Atlântico (Norte Equatorial-NE, Leste Equatorial-LE, Oeste Equatorial-OE, Sudoeste Atlântico-SOA e Sudeste Atlântico-SEA) (Figura 2, Tabela 4). Devido ao baixo número amostral, os indivíduos capturados nas regiões da Flórida e Algarve, foram excluídos das análises por pares de regiões. Nas análises de estruturação, quatro diferentes hipóteses de diferenciação populacional foram testadas: 1 - grupos amostrais ao norte da Linha do Equador (NE, LE, OE, Flórida, Algarve) comparados com os do Sul (SOA e SEA); 2 - grupos a leste da Dorsal Meso-atlântica (SOA e Flórida) comparados aos do lado oeste do Atlântico; 3 - Sudoeste do Atlântico (SOA) comparado aos demais grupos restantes; 4 - Algarve, Flórida e NE comparado com o restante. Destas hipóteses, a última foi a que apresentou o maior índice de estruturação geral ($F_{st}=0.05971$, $P=0.07918$). Na análise F_{ST} por pares, os grupos LE e NE, foram os que apresentaram maior estruturação ($F_{st}= 0.10708$) (Tabela 5).

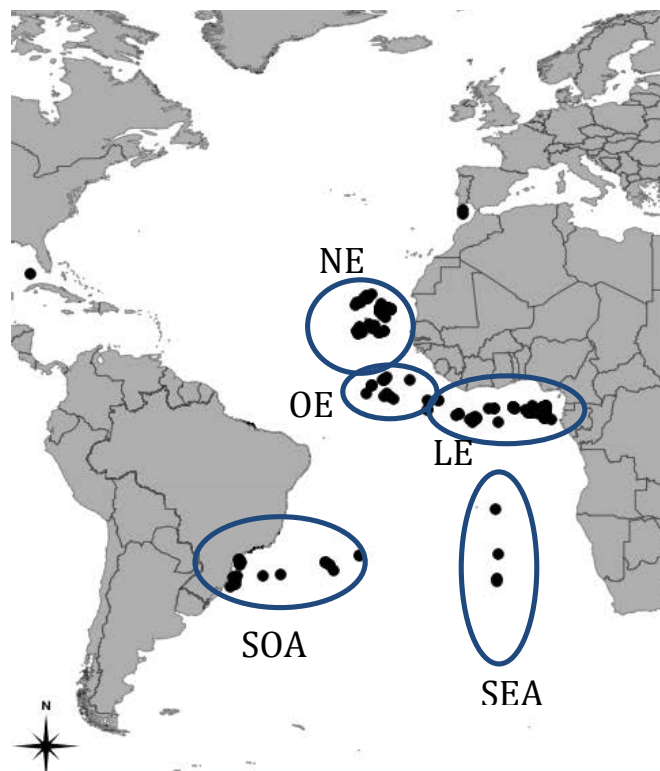


Figura 2. Agrupamentos utilizados para análise de F_{st} entre os pares de populações de *S. zyaena* do Oceano Atlântico.

Tabela 4. Valores da AMOVA para os cenários de estruturação testados ($P < 0,05$).

Alg = Algarve; *Fl* = Flórida; Σ = somatória dos indivíduos restantes.

	Hipóteses de estruturação	F_{st}	P
1	Norte x Sul (Atlântico)	0.04456	0.06158
2	Leste x Oeste (Atlântico)	0.04129	0.06745
3	Sudoeste (Atlântico) x Σ Atlântico	0.04005	0.006647
4	<i>Alg/Fl/Norte Equat.</i> x Σ Atlântico	0.05971	0.07918

Tabela 5. Diferenciação genética F_{ST} entre os pares de populações de *S. zygaena* do Atlântico, Nível de significância de $p < 0,05$. *valores de F_{st} significativos.

	NE	LE	OE	SOA	SEA
NE	-				
LE	0,10708*	-			
OE	0,00616	0,03189	-		
SOA	-0,0767	0,07622*	-0,01108	-	
SEA	0,03168	-0,01199	-0,06400	-0,03975	-

4.3 Estrutura populacional entre os Oceanos Atlântico, Índico e Pacífico

Nas análises por hipóteses de cenários de estruturação (Tabela 6) foi observada uma maior diferenciação quando considerados os indivíduos dos Oceanos Índico e Pacífico como um único grupo amostral, confrontados com os tubarões do Oceano Atlântico ($F_{ST} = 0.78149$). No F_{st} aos pares a maior estruturação observada se deu entre indivíduos dos Oceanos Atlântico e Pacífico ($F_{ST} = 0.78211$, $P > 0.0001$) e a menor, foi encontrada entre os Oceanos Índico e Pacífico ($F_{ST} = 0.00975$, $P > 0.0001$) demonstrando um alto grau de relacionamento entre estes grupos amostrais. A rede de haplotípica apresentada na Figura 3 denota as relações entre os haplótipos nas diferentes bacias oceânicas e a relação mais estreita entre os indivíduos do Pacífico e do Índico. Tais aspectos também se apresentam no cladograma exposto na Figura 4.

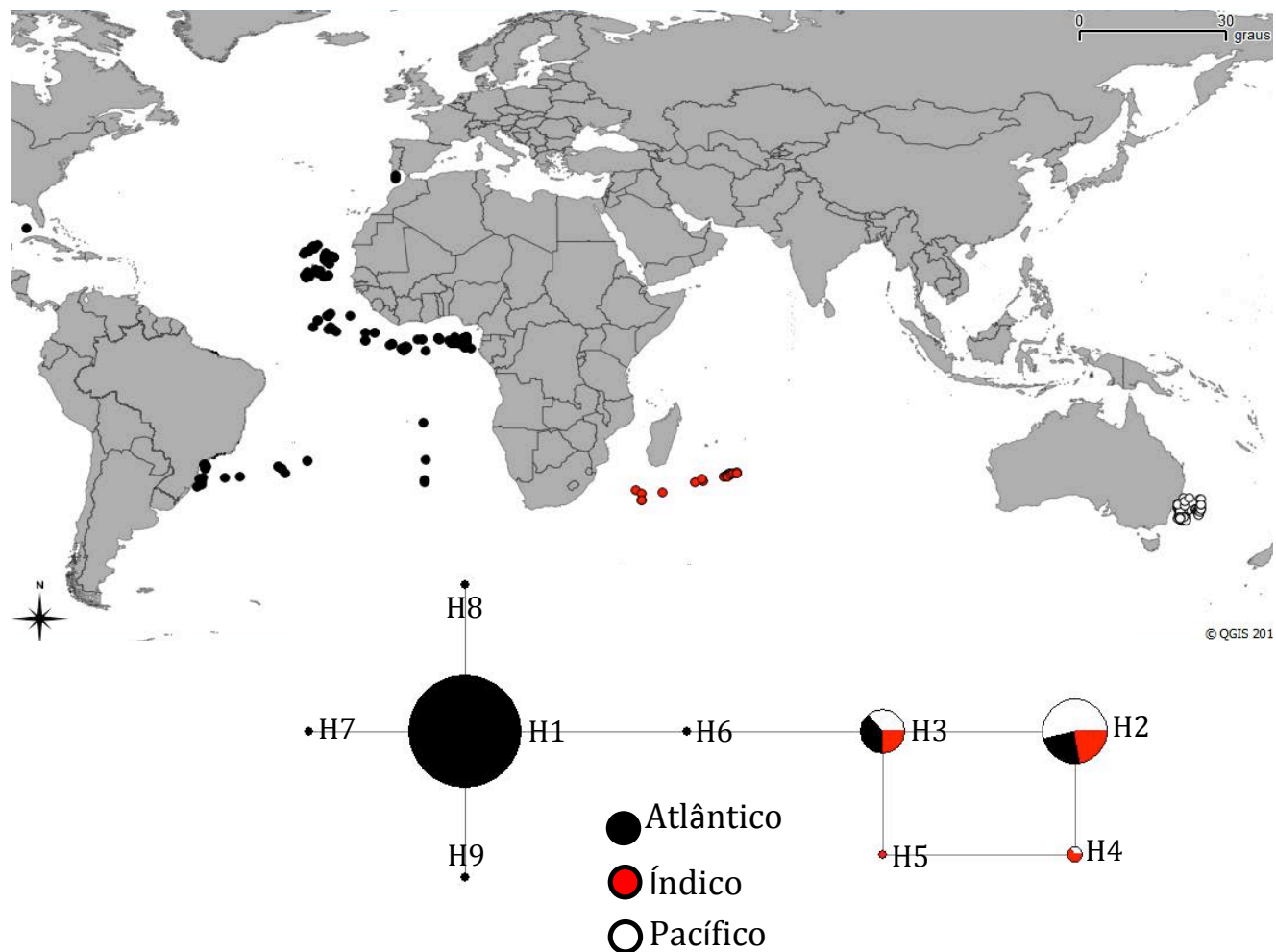


Figura 3. Representação dos pontos de captura e rede de haplótipos. Em diversos casos um mesmo ponto representa mais de um único indivíduo. A cor preta representa os indivíduos capturados ao longo do Atlântico, em vermelho os indivíduos obtidos no Índico e em branco os indivíduos do Pacífico. Na rede de haplótipos os círculos estão em proporção às frequências dos haplótipos. As cores dos representantes de cada haplótipo correspondem às diferentes bacias oceânicas.

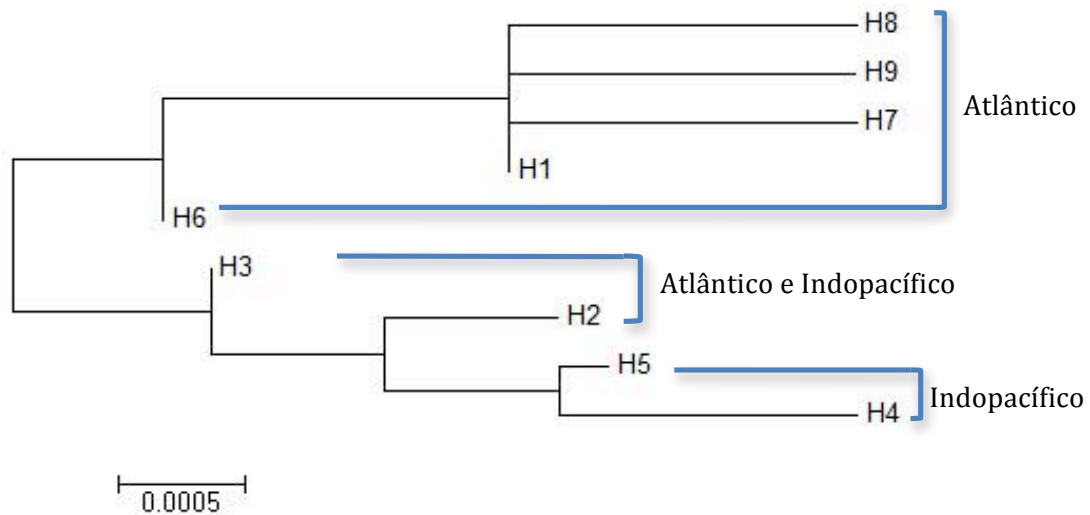


Figura 4. A história evolutiva foi inferida usando o método de Neighbor-Joining. A árvore ideal com a soma do comprimento dos ramos = 0.01025629. A árvore é desenhada em escala, com comprimentos dos ramos nas mesmas unidades que as das distâncias evolutivas usados para inferir a árvore filogenética. As distâncias evolutivas, foram calculadas utilizando o método Probabilidade de Composição Máxima e estão em unidades de número de substituições de bases por local.

Tabela 6. Valores da AMOVA para os cenários de estruturação testados entre os três oceanos (P<0,05)

	Hipóteses de estruturação	F_{st}	P
5	Atlântico x Indo-Pacífico	0.78149	0.00001
6	Índico e atlântico x Pacífico	0.76674	0.00001
7	Atlântico e Pacífico x Índico	0.74047	0.00001
8	Atlântico x Índico x Pacífico	0.76928	0.00001

Tabela 7. Diferenciação genética F_{ST} entre os pares de populações de *S. zygaena* do Atlântico, Índico e Pacífico. Nível de significância de $p < 0,05$.

	Atlântico	Índico	Pacífico
Atlântico	-		
Índico	0,75850	-	
Pacífico	0,78211	0,00975	-

4.4 Expansão Populacional

Os testes D de Tajima e F_s de Fu entre as populações de *S. zygaena*, indicaram um estado de expansão populacional nos três grandes grupos, porém esses dados não foram estatisticamente significativos de acordo com o valor de P observado (Tabela 8). Os padrões de distribuição propostos pela análise e Mismatch Distribution resultaram em curvas unimodais com a média das diferenças muito próximas de zero. Nos dois grupos, Atlântico e Indo-Pacífico, foram evidenciados a existência de eventos de expansão populacional recente (Figuras 5 e 6). O tempo estimado desde o evento de expansão das populações indica que a expansão ocorreu no último período de glaciação, que iniciou a cerca de 110.000 anos atrás e terminou a cerca de 10.000 anos atrás. O número de fêmeas estimado para o início da expansão na região do Indico-Pacífico foi de dez vezes menor que o número atual e no Atlântico foi de 100 vezes menor (Tabela 8).

Tabela 8. Estatísticas populacionais de *S. zygaena*: D , teste de Tajima; P , P valor do teste de Tajima; F_s , teste de F_s de Fu; P_{F_s} , P valor do teste de F_s ; τ , tau; θ_0 , valor do theta inicial; θ_1 , valor do theta final; N_{f0} , número de fêmeas antes da expansão; N_{f1} , numero de fêmeas depois da expansão; Idade pop, idade atual das populações em anos. As idades das populações são indicadas com 95% de intervalo de confiança de τ em populações com tamanho amostral suficiente para 1000 replicações.

Oceano	D	P	F_s	P_{F_s}	τ	θ_0	θ_1	N_{f0}	N_{f1}	Idade pop
Indopacífico	0.38023	0.70500	-0.59843	0.30100	0.944	0.003	0.269	366.9724	3600.917	43.302
Atlântico	-0.86702	0.23000	-2,47538	0.14800	2.138	0.008	0.785	137.6146	12339.449	98.073

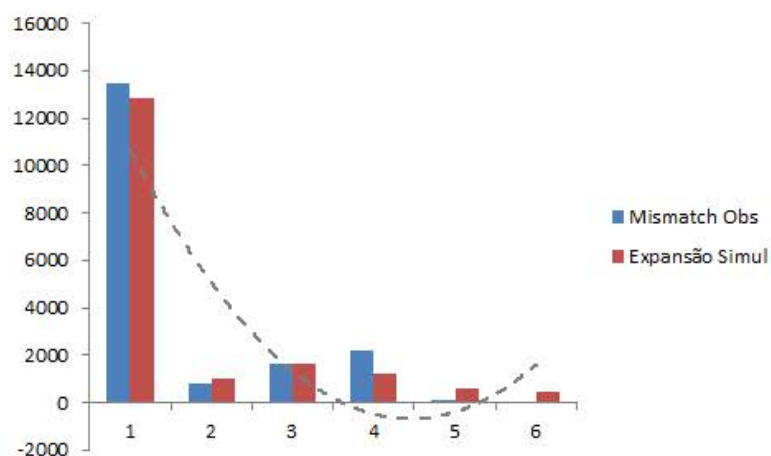


Figura 5. Curva de Distribuição Mismatch da população de *S. zygaena* para a hipótese de expansão populacional no Oceano Atlântico.

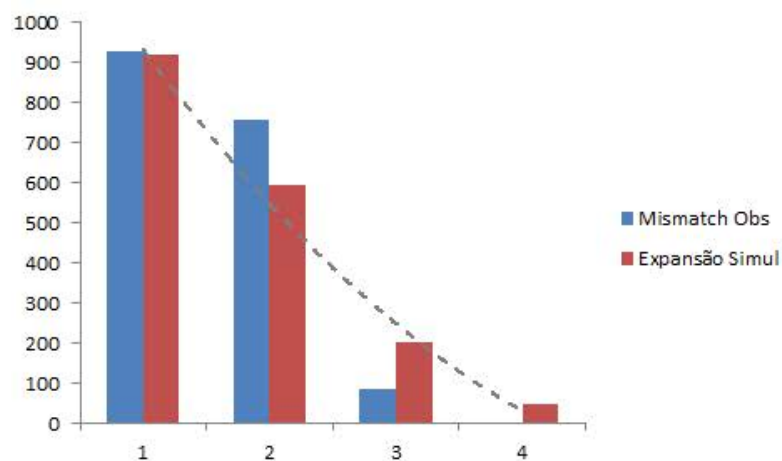


Figura 6. Curva de Distribuição Mismatch da população de *S. zygaena* para a hipótese de expansão populacional do Indo-Pacífico.

5 Discussão

5.1 Diversidade Genética

Estudos utilizando a região controle do DNAm_t de espécies de tubarões geralmente resultam em baixos índices de diversidade nucleotídica e haplotípica, quando comparados à maioria dos outros vertebrados, incluindo os peixes ósseos. Na Tabela 9 apresentam-se valores de diversidade encontrados em alguns estudos realizados com espécies de vertebrados marinhos (elasmobrânquios, peixes ósseos e cetáceos). Dentre estes estudos, em algumas espécies de tubarões tais como *Mustelus schmittii* e *Alopias superciliosus* (Pereyra et al. 2012, Morales et al. 2012) foram encontrados valores próximos aos observados para o *S. zygaena*. Entre espécies pelágicas com distribuição oceânica tais como o tubarão-crocodilo (*Pseudocarcharias kamoharai*), tubarão-frade (*Cetorhinus maximus*), tubarão-azul (*Prionace glauca*) e a baleia cachalote (*Physeter macrocephalus*), os valores relatados também foram próximos ao encontrado para o tubarão-martelo *S. zygaena*, o que poderia indicar a

baixa variabilidade nucleotídica comum em animais com comportamento semelhante (Hoelzel 2006, Teixeira 2011, Lyrholm et al. 1996). No entanto, os resultados apresentados por Duncan *et al.* 2006 em um estudo populacional global, demonstraram uma alta diversidade haplotípica e nucleotídica para espécie *Sphyrna lewini* ($\pi=0.0130 \pm 0.0068$ $h=0.80 \pm 0.020$) se comparado ao observado para *S. zygaena*.

Tabela 9. Diversidade da região controle do DNAm em espécies pelágicas de vertebrados marinhos. Análises globais são representadas com *.

Espécie	Diversidade nucleotídica	Diversidade haplotípica	Referência
Elasmobranchii			
<i>Sphyrna zygaena</i>	0,00177±0,00157	0,519±0,0009	<u>Presente estudo</u>
<i>Alopias superciliosus</i>	0,00150	0,123 ± 0,00142	Morales et al. (2012)
<i>Carcharhinus limbatus</i>	0,0021±0,0013	0,805±0,018	Keeney e Heist (2006)
<i>Carcharias taurus</i>	0,004±0,00003	0,725±0,002	Ahonen et al. (2009)
<i>Cetorhinus maximus</i>	0,0013±0,0009	0,720±0,028	Hoelzel et al. (2006)
<i>Galeorhinus galeus</i>	0,0071±0,0037	0,92±0,01	Chabot e Allen (2009)
<i>Mustelus schimitti</i> *	0,0015	0,226	Pereyra et al. (2010)
<i>Prionace glauca</i> *	0,00258±0,00013	0,89±0,020	Teixeira (2011)
<i>Pristis zijsron</i> *	0,0036±0,0026	0,555±0,078	Phillips et al. (2011)
<i>Pristis clavata</i> *	0,004±0,0028	0,489±0,0072	Phillips et al. (2011)
<i>Pristis microdon</i> *	0,0044±0,0029	0,65±0,0032	Phillips et al. (2011)
<i>Pseudocarcharia skamoharai</i> *	0,00167	0,627	Ferrete (2012)
<i>Rhincodon typus</i>	0,011±0,006	0,97±0,01	Castro et al. (2007)
<i>Rhizoprionodon lalandii</i> *	0,004843±0,002941	0,8239	Mendonça et al. (2009)
<i>Sphyrna lewini</i>	0,013±0,0068	0,80±0,02	Duncan et al. (2006)
<i>Stegostoma fasciatum</i> *	0,089±0,086	0,484±0,112	Dudgeon et al. (2009)
Teleostei			
<i>Acanthocybium solandri</i> *	0,053	0,999	Garber et al. (2005)
<i>Thunnus thynnus</i>	0,015	0,991	Carlsson et al. (2004)

<i>Xiphias gladius</i> *	0,0148±0,0005	0,997	Lu et al. (2006)
Cetacea			
<i>Orcinus orca</i>	0,0053±0,0031	0,874±0,013	Hoelzelet al. (2002)
<i>Physeter macrocephalus</i>	0,002±0,0003	0,86	Lyrholm et al. (1996)

5.2 Estrutura populacional

As análises da estrutura genética podem ser influenciadas por fatores tais como as propriedades dos marcadores utilizados, partindo de modelos clássicos de mutação, seleção, o tamanho da população e / ou a presença de populações fantasmas (Slatkin 2005; Lowe & Allendorf 2010) genética e o fluxo gênico e como esta razão influencia na estrutura populacional, sendo esta uma das medidas de estrutura populacional mais utilizada na genética evolutiva (Slatkin 2005). Com base neste mesmo índice, a Análise de Variância Molecular (AMOVA) mede a diferenciação genética entre e dentro dos grupos populacionais e dentro das populações, além de fornecer um índice global de fixação Φ_{ST} (Templeton 2006).

Devido ao fato dos tubarões-martelo terem seus hábitos de vida em regiões costeiras, baías, estuários, e ao longo de plataformas continentais com profundidades que variam de 20 a 200 metros, o status de tubarão semi-oceânico corrobora com o baixo fluxo gênico encontrado nesse estudo, quando comparados longitudinalmente. Portanto os valores de F_{ST} e Φ_{ST} (uma variante do F_{ST} que é gerado na análise AMOVA no software Arlequin) obtidos indicam uma forte estruturação populacional com conseqüente baixo fluxo gênico entre os grupos de *S. zygaena* do Oceano Atlântico em relação aos oceanos Índico e Pacífico. Durante os meses de verão, muitos tubarões-martelo *S. zygaena* formam cardumes e migram em direção de águas mais frias, e mais tarde retornam perfazendo um eixo norte e sul, o que pode explicar um maior fluxo gênico entre correntes mais próximas.

A maioria das análises genéticas de peixes marinhos cosmopolitas revelam uma tendência de baixos níveis de estruturação genética em todas as bacias oceânicas e alta dispersão entre as populações (Grant e Bowen 1998, Waples 1998). Por outro lado, o fluxo gênico é menor entre os peixes com distribuição disjunta (Graves 1998) e envolvem espécies que são sedentárias ou apresentam algum grau de filopatria (Grant e Waples 2000, Waples et al. 2001). A presente análise, quase global da estrutura do *S. zygaena*, sugere que esses tubarões estão divididos em duas populações bem distintas com pouca conectividade entre o Indo-Pacífico e o Oceano Atlântico, excluindo a ideia de uma única metapopulação global. Modelos muito semelhantes que dividem uma espécie em duas populações diferentes (Atlântico x Indo-Pacífico) foram demonstrados em trabalhos com tubarões do mesmo gênero (*S. lewini*) e também em tubarões-baleia (Vignaud et al. 2014, Duncan et al. 2006).

O valor não significativo de F_{ST} aos pares encontrados entre os Oceanos Índico e Pacífico indicam um alto nível de fluxo gênico entre estas bacias oceânicas. O mesmo acontece entre os grupos amostrais do Oceano Atlântico, que possuem valores muito baixos e outros não significativos de estruturação entre pares, indicando a ocorrência de um fluxo genético intenso. Atualmente não há barreiras físicas ou ambientais identificadas entre o Índico e o Pacífico que se comparam ao extremo sul do continente africano ou da América do Sul, com águas extremamente frias, podendo restringir a migração de muitas espécies, inclusive de grandes vertebrados como os tubarões-martelo.

Análises de dois outros tubarões distribuídos globalmente, o tubarão mako (*Isurus oxyrinchus*) e o cação-bico-de-cristal (*Galeorhinus galeus*), revelaram claramente um menor índice de estruturação populacional do que o observado em *S. zygaena* no presente estudo (Heist et al. 1996, Ward e Gardner 1997, Schrey e Heist

2003). Isso não é inesperado, considerando que tanto o mako, quanto o cação-bico-de-cristal são espécies de comportamento quase exclusivamente oceânicos, contrastando com os hábitos dos tubarões-martelo que frequentam águas rasas, principalmente em épocas reprodutivas. No entanto, o padrão global da diversidade genética destas duas espécies foi semelhante ao descoberto para *S. zygaena*. Segundo Duncan (2006) alguns estudos com cetáceos marinhos tem mostrado padrões de dispersão e diferenciação genética mais semelhantes com elasmobrânquios de hábitos oceânicos, como os tubarões-martelo, do que peixes teleósteos de grande porte, como é o caso do atum-cachorro *Thunnus obesus* (Chow et al. 2000).

Estudos sobre a expansão populacional, baseados em marcadores moleculares, podem ajudar a identificar espécies que respondem com menor plasticidade frente às alterações geomorfológicas e climáticas. A compreensão desses padrões de deslocamentos, durante o último período glacial, pode ajudar a prever como essas populações reagirão frente às mudanças climáticas atuais e futuras. No presente trabalho, os testes de neutralidade e a análise de Distribuição Mismatch, revelaram um evento recente de expansão populacional do tubarão *S. zygaena*. No entanto, apesar de atraentes, as estimativas de expansão e tamanhos populacionais devem ser interpretadas com cautela.

5.3 Conservação

Considerando os índices de diversidade genética encontrados para o tubarão *S. zygaena*, uma especial atenção deve ser dada quanto à sua manutenção em programas de conservação. Embora esta espécie tenha apresentado índices semelhantes aos de algumas outras espécies de tubarões também com distribuição global, quando comparado à espécie *S. lewini*, o tubarão *S. zygaena* apresenta diversidade haplotípica e nucleotídica bem inferiores. Tal questão pode ser bastante relevante considerando os

hábitos fortemente compartilhados por estas duas espécies, além da comum falta de distinção entre elas na exploração e estatística pesqueira. Ainda, a estruturação genética encontrada entre os grupos amostrais do Oceano Atlântico e as demais bacias oceânicas torna claro a configuração de populações distintas, sendo assim, unidades evolutivas diferenciadas com requisitos particulares em programas de manejo.

Devido à preocupação crescente dos pesquisadores com relação a este grupo e também com outras espécies de captura acessória, a Comissão Internacional para a Conservação dos Tunídeos do Atlântico (ICCAT), o órgão de gestão para o Oceano Atlântico e que vinha considerando a espécie *S. zygaena* como dois estoques distintos no Atlântico, sendo estes distribuídos entre os hemisférios Norte e Sul, vem recomendando, também, mais estudos biológicos sobre tubarões pelágicos. No presente trabalho fica evidente um alto grau de diferenciação entre populações do Oceano Atlântico e regiões do Indo-Pacífico, além da ausência de estruturações entre os grupos amostrais dentro destas bacias oceânicas.

6 Conclusões

No presente trabalho apresentam-se resultados sobre a diversidade e estrutura genética populacional do tubarão-martelo, *S. zygaena*, utilizando como marcador genético molecular sequências da região controladora do DNA mitocondrial de grupos amostrais representativos do Oceano Atlântico e Oceano Índico e Pacífico. Os resultados das análises do D-loop, demonstram a existência de dois estoques genéticos diferentes, sendo um deles distribuído por todo o Atlântico sem estruturações populacionais internas neste oceano e um segundo estoque provavelmente, amplamente distribuído sem restrições ao fluxo gênico no Indo-Pacífico, implicando em estratégias diferenciadas na gestão e manejo desta espécie. Análises utilizando outros marcadores

moleculares ainda podem contribuir com o entendimento da dinâmica populacional da espécie com a caracterização níveis diferenciais de fluxo gênico entre machos e fêmeas, possibilitando a caracterização de filopatria, áreas de berçários e taxas de migração independentes entre os sexos.

7 Referências

- Ahonen, H., Harcourt, R. G., & Stow, A. J. (2009). Nuclear and mitochondrial DNA reveals isolation of imperilled grey nurse shark populations (*Carcharias taurus*). *Molecular Ecology*, 18(21), 4409-4421.
- Aljanabi, S. M., & Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic acids research*, 25(22), 4692-4693.
- AvISE, J. C., Nelson, W. S., & Sibley, C. G. (1994). DNA sequence support for a close phylogenetic relationship between some storks and New World vultures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(11), 5173-5177.
- Bandelt, H. J., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 16(1), 37-48.
- Baum, J. K., Myers, R. A., Kehler, D. G., Worm, B., Harley, S. J., & Doherty, P. A. (2003). Collapse and conservation of shark populations in the Northwest Atlantic. *Science*, 299(5605), 389-392.
- Bermingham, E., & Martin, A. P. (1998). Comparative mtDNA phylogeography of neotropical freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary landscape of lower Central America. *Molecular Ecology*, 7(4), 499-517.
- Blower, D. C., Pandolfi, J. M., Bruce, B. D., Gomez-Cabrera, M. D. C., & Ovenden, J. R. (2012). Population genetics of Australian white sharks reveals fine-scale spatial structure, transoceanic dispersal events and low effective population sizes. *Marine Ecology Progress Series*, 455, 229-244.
- Bonfil, R. (1994). *Overview of world elasmobranch fisheries* (No. 341). Food & Agriculture Org..
- Bonhomme, F., Naciri, M., Bahri-Sfar, L., & Lemaire, C. (2002). Comparative analysis of genetic structure of two closely related sympatric marine fish species *Dicentrarchus labrax* and *Dicentrarchus punctatus*. *Comptes Rendus Biologies*, 325(3), 213-220.
- Camhi, M. (Ed.). (1998). *Sharks and their relatives: ecology and conservation* (No. 20). IUCN.
- Carlsson, J., McDOWELL, J. A. N., DÍAZ-JAIMES, P. Í. N. D. A. R. O., Carlsson, J. E., Boles, S. B., Gold, J. R., & Graves, J. E. (2004). Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology*, 13(11), 3345-3356.
- Carvalho, G. R., & Hauser, L. (1994). Genetic impacts of fish introductions: an African perspective. *Species Changes in African Lakes*. Chapman and Hall, London.

Castro, A. L. F., Stewart, B. S., Wilson, S. G., Hueter, R. E., Meekan, M. G., Motta, P. J., ... & Karl, S. A. (2007). Population genetic structure of Earth's largest fish, the whale shark (*Rhincodon typus*). *Molecular Ecology*, *16*(24), 5183-5192.

Castro, J. A., and J. Mejuto. "Reproductive parameters of blue shark, *Prionace glauca*, and other sharks in the Gulf of Guinea." *Marine and Freshwater Research* *46.6* (1995): 967-973.

Castro, J. I. (1987). The position of sharks in marine biological communities: an overview. *Sharks, an inquiry into biology, behavior, fisheries, and use*. Oregon State University Extension Service, Corvallis, 11-17.

Cerutti-Pereyra, F., Meekan, M. G., Wei, N. W. V., O'Shea, O., Bradshaw, C. J., & Austin, C. M. (2012). Identification of rays through DNA barcoding: an application for ecologists. *PLoS One*, *7*(6), e36479.

Chabot, C. L., & Allen, L. G. (2009). Global population structure of the tope (*Galeorhinus galeus*) inferred by mitochondrial control region sequence data. *Molecular Ecology*, *18*(3), 545-552.

Chow, S., Okamoto, H., Miyabe, N., Hiramatsu, K., & Barut, N. (2000). Genetic divergence between Atlantic and Indo-Pacific stocks of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) and admixture around South Africa. *Molecular Ecology*, *9*(2), 221-227.

Compagno, J. V. L. (1984). *FAO species catalogue Vol. 4 part 1 sharks of the world: An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date*. Food and agriculture Organization of the United Nations.

Compagno, L. J. (2001). *Sharks of the world: an annotated and illustrated catalogue of shark species known to date* (Vol. 2, No. 1). Food & Agriculture Org..

Costa, L., & Chaves, P. D. T. D. C. (2006). Elasmobrânquios capturados pela pesca artesanal na costa sul do Paraná e norte de Santa Catarina, Brasil. *Biota Neotropica*, *6*(3), 1-10.

Crottini, A., Andreone, F., Kosuch, J., Borkin, L. J., Litvinchuk, S. N., Eggert, C., & Veith, M. (2007). Fossorial but widespread: the phylogeography of the common spadefoot toad (*Pelobates fuscus*), and the role of the Po Valley as a major source of genetic variability. *Molecular Ecology*, *16*(13), 2734-2754.

Dudgeon, C. L., Broderick, D., & Ovenden, J. R. (2009). IUCN classification zones concord with, but underestimate, the population genetic structure of the zebra shark *Stegostoma fasciatum* in the Indo-West Pacific. *Molecular Ecology*, *18*(2), 248-261.

- Duncan, K. M., Martin, A. P., Bowen, B. W., & De Couet, H. G. (2006). Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Molecular ecology*, *15*(8), 2239-2251.
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, *10*(3), 564-567.
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics online*, *1*, 47.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, *131*(2), 479-491.
- Falk, T. M., Teugels, G. G., Abban, E. K., Villwock, W., & Renwranz, L. (2003). Phylogeographic patterns in populations of the black-chinned tilapia complex (Teleostei, Cichlidae) from coastal areas in West Africa: support for the refuge zone theory. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *27*(1), 81-92.
- Feldheim, K. A., Gruber, S. H., & Ashley, M. V. (2001). Population genetic structure of the lemon shark (*Negaprion brevirostris*) in the western Atlantic: DNA microsatellite variation. *Molecular Ecology*, *10*(2), 295-303.
- Feldheim, K. A., Gruber, S. H., & Ashley, M. V. (2002). The breeding biology of lemon sharks at a tropical nursery lagoon. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *269*(1501), 1655-1661.
- Feldheim, K. A., Gruber, S. H., & Ashley, M. V. (2004). Reconstruction of parental microsatellite genotypes reveals female polyandry and philopatry in the lemon shark, *Negaprion brevirostris*. *Evolution*, *58*(10), 2332-2342.
- Ferrette, B. L. D. S. (2012). Caracterização da estrutura genética populacional do tubarão-crocodilo (*Pseudocarcharias kamoharai*) no Atlântico equatorial utilizando marcadores moleculares.
- Ferris, S. D., & Berg, W. J. (1987). The utility of mitochondrial DNA in fish genetics and fishery. *Population Genetics, Fishery Management*. University of Washington Press, Seattle, WA, 277-299.
- Gadig, O. B. F. (2001). *Tubarões da costa brasileira* (Doctoral dissertation, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho").
- Gaida, I. H. (1997). Population structure of the Pacific angel shark, *Squatina californica* (Squatiniiformes: Squatinidae), around the California Channel Islands. *Copeia*, 738-744.

- Garber, A. F., Tringali, M. D., & Franks, J. S. (2005). Population genetic and phylogeographic structure of wahoo, *Acanthocybium solandri*, from the western central Atlantic and central Pacific Oceans. *Marine Biology*, 147(1), 205-214.
- Garcia, G., Pereyra, S., Gutierrez, V., Oviedo, S., Miller, P., & Domingo, A. (2015). Population structure of *Squatina guggenheim* (Squatiniiformes, Squatinidae) from the south-western Atlantic Ocean. *Journal of fish biology*, 86(1), 186-202.
- Gardner, M. G., & Ward, R. D. (1998). Population structure of the Australian gummy shark (*Mustelus antarcticus* Günther) inferred from allozymes, mitochondrial DNA and vertebrae counts. *Marine and Freshwater Research*, 49(7), 733-745.
- Grant, W. A. S., & Bowen, B. W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5), 415-426.
- Grant, W. S., & Waples, R. S. (2000). Spatial and temporal scales of genetic variability in marine and anadromous species: implications for fisheries oceanography. *Fisheries oceanography*, 61-93.
- Graves, J. E. (1998). Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. *Journal of Heredity*, 89(5), 427-437.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, pp. 95-98).
- Hareide, N. R., Carlson, J., Clarke, M., Clarke, S., Ellis, J., Fordham, S., ... & Polti, S. (2007). European Shark Fisheries: a preliminary investigation into fisheries, conversion factors, trade products, markets and management measures. *European Elasmobranch Association*.
- Heald, D. I. (1987). *The commercial shark fishery in temperate waters of Western Australia [based on data to 1983-84]*. Fisheries Department.
- Heist, E. J., & Gold, J. R. (1999). Genetic identification of sharks in the US Atlantic large coastal shark fishery. *Fishery Bulletin*, 97(1), 53-61.
- Heist, E. J., Graves, J. E., & Musick, J. A. (1995). Population genetics of the sandbar shark (*Carcharhinus plumbeus*) in the Gulf of Mexico and Mid-Atlantic Bight. *Copeia*, 555-562.
- Heist, E. J., Musick, J. A., & Graves, J. E. (1996). Genetic population structure of the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) inferred from restriction fragment length polymorphism analysis of mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(3), 583-588.

- Hoelzel, A. R., Natoli, A., Dahlheim, M. E., Olavarria, C., Baird, R. W., & Black, N. A. (2002). Low worldwide genetic diversity in the killer whale (*Orcinus orca*): implications for demographic history. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 269(1499), 1467-1473.
- Hoelzel, A. R., Shivji, M. S., Magnussen, J., & Francis, M. P. (2006). Low worldwide genetic diversity in the basking shark (*Cetorhinus maximus*). *Biology Letters*, 2(4), 639-642.
- Keeney, D. B., & Heist, E. J. (2006). Worldwide phylogeography of the blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) inferred from mitochondrial DNA reveals isolation of western Atlantic populations coupled with recent Pacific dispersal. *Molecular Ecology*, 15(12), 3669-3679.
- Keeney, D. B., Heupel, M. R., Hueter, R. E., & Heist, E. J. (2005). Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of the genetic structure of blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) nurseries in the northwestern Atlantic, Gulf of Mexico, and Caribbean Sea. *Molecular Ecology*, 14(7), 1911-1923.
- Keeney, D. B., Heupel, M., Hueter, R. E., & Heist, E. J. (2003). Genetic heterogeneity among blacktip shark, *Carcharhinus limbatus*, continental nurseries along the US Atlantic and Gulf of Mexico. *Marine Biology*, 143(6), 1039-1046.
- Kotas, J. E. (2004). *Dinâmica de populações e pesca do tubarão-martelo Sphyrna lewini (Griffith & Smith, 1834), capturado no mar territorial e zona econômica exclusiva do sudeste-sul do Brasil* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Kotlík, P., & Berrebi, P. (2002). Genetic subdivision and biogeography of the Danubian rheophilic barb *Barbus petenyi* inferred from phylogenetic analysis of mitochondrial DNA variation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 24(1), 10-18.
- Kuusipalo, L. (1999). Genetic variation in the populations of pelagic clupeids *Stolothrissa tanganicae* and *Limnothrissa miodon* and Nile perch (*Lates stappersii*, *L. mariae*) in Lake Tanganyika. *FAO/FINNIDA Research for the Management of the Fisheries of Lake Tanganyika. GCP/RAF/271/FIN-TD*, (90), 67.
- Lack, M., & Sant, G. (2006). *World shark catch, production and trade 1990-2003*. Department of the Environment and Heritage.
- Lacy, R. C., & Lindenmayer, D. B. (1995). A simulation study of the impacts of population subdivision on the mountain brushtail possum *Trichosurus caninus* Ogilby (Phalangeridae: Marsupialia), in south-eastern Australia. II. Loss of genetic variation within and between subpopulations. *Biological Conservation*, 73(2), 131-142.
- Levy, J. A., & Cassano, V. P. F. (1994). Biochemical-genetic comparison of *Cynoscion jamaicensis* and *Cynoscion striatus* (Teleostei: Perciformes: Sciaenidae) in South

Brazil. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 107(4), 515-517.

Lowe, W. H., & Allendorf, F. W. (2010). What can genetics tell us about population connectivity?. *Molecular Ecology*, 19(15), 3038-3051.

Lu, C. P., Chen, C. A., Hui, C. F., Tzeng, T. D., & Yeh, S. Y. (2006). Population genetic structure of the swordfish, *Xiphias gladius* (Linnaeus, 1758), in the Indian Ocean and West Pacific inferred from the complete DNA sequence of the mitochondrial control region. *ZOOLOGICAL STUDIES-TAIPEI-*, 45(2), 269.

Lyrholm, T., Leimar, O., Johannesson, B., & Gyllensten, U. (1999). Sex-biased dispersal in sperm whales: contrasting mitochondrial and nuclear genetic structure of global populations. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 266(1417), 347-354.

Mendonça, F. F., Hashimoto, D. T., PORTO-FORESTI, F., Oliveira, C., Gadig, O. B. F., & Foresti, F. (2009). Identification of the shark species *Rhizoprionodon landii* and *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) by multiplex PCR and PCR-RFLP techniques. *Molecular ecology resources*, 9(3), 771-773.

Morales, M. J. A. (2012). Análise genética do tubarão-raposa *Alopias superciliosus* no Oceano Atlântico, utilizando região controle do DNA mitocondrial.

Morgan, D. L., Whitty, J. M., Phillips, N. M., Thorburn, D. C., Chaplin, J. A., & McAuley, R. (2011). North-western Australia as a hotspot for endangered elasmobranchs with particular reference to sawfishes and the Northern River Shark. *Journal of the Royal Society of Western Australia*, 94(2), 345-358.

Østbye, K., Bernatchez, L., Naesje, T. F., HIMBERG, K. J., & Hindar, K. (2005). Evolutionary history of the European whitefish *Coregonus lavaretus* (L.) species complex as inferred from mtDNA phylogeography and gill-raker numbers. *Molecular Ecology*, 14(14), 4371-4387.

Palumbi, S. R. (1994). Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 547-572.

Patarnello, T., Marcato, S., Zane, L., Varotto, V., & Bargelloni, L. (2003). Phylogeography of the *Chionodraco* genus (Perciformes, Channichthyidae) in the Southern Ocean. *Molecular phylogenetics and evolution*, 28(3), 420-429.

Perdices, A., Cunha, C., & Coelho, M. M. (2004). Phylogenetic structure of *Zacco platypus* (Teleostei, Cyprinidae) populations on the upper and middle Chang Jiang (= Yangtze) drainage inferred from cytochrome b sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31(1), 192-203.

- Pereyra, S., García, G., Miller, P., Oviedo, S., & Domingo, A. (2010). Low genetic diversity and population structure of the narrownose shark (*Mustelus schmitti*). *Fisheries Research*, 106(3), 468-473.
- Rose, C., & McLaughlin, K. (2001). Review of shark finning in Australian fisheries. *Bureau of Rural Sciences, Canberra, Australia*.
- Rozas, J., Sánchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X., & Rozas, R. (2003). DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19(18), 2496-2497.
- Santos, S., Hrbek, T., Farias, I. P., Schneider, H., & Sampaio, I. (2006). Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Molecular ecology*, 15(14), 4361-4373.
- Schrey, A. W., & Heist, E. J. (2003). Microsatellite analysis of population structure in the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60(6), 670-675.
- Schrey, A. W., & Heist, E. J. (2003). Microsatellite analysis of population structure in the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60(6), 670-675.
- Shivji, M., Clarke, S., Pank, M., Natanson, L., Kohler, N., & Stanhope, M. (2002). Genetic identification of pelagic shark body parts for conservation and trade monitoring. *Conservation Biology*, 16(4), 1036-1047.
- Simpfendorfer, C. A. (2000). Predicting population recovery rates for endangered western Atlantic sawfishes using demographic analysis. *Environmental Biology of Fishes*, 58(4), 371-377.
- Slatkin, M. (2005). Seeing ghosts: the effect of unsampled populations on migration rates estimated for sampled populations. *Molecular Ecology*, 14(1), 67-73.
- Smith, P. J., Jamieson, A., & Birley, A. J. (1990). Electrophoretic studies and the stock concept in marine teleosts. *Journal du Conseil: ICES Journal of Marine Science*, 47(2), 231-245.
- Strecker, U., Faúndez, V. H., & Wilkens, H. (2004). Phylogeography of surface and cave *Astyanax* (Teleostei) from Central and North America based on cytochrome b sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33(2), 469-481.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28(10), 2731-2739.

Teixeira, A. F. (2011). Análise da variabilidade e estruturação genética do tubarão azul, *Prionace glauca* (Chondrichthyes, Carcharhinidae) no Oceano Atlântico Sul Ocidental utilizando marcador molecular do DNA mitocondrial.

Templeton, A. R. (2006). *Population genetics and microevolutionary theory*. John Wiley & Sons.

Toledo-Filho, S. D. A., Almeida-Toledo, L. D., Foresti, F., Galhardo, E., & Donola, E. (1992). Conservação genética de peixes em projetos de repovoamento de reservatórios. *Cadernos de Ictiogenética*, 1, 1-39.

Vignaud, T. M., Maynard, J. A., Leblois, R., Meekan, M. G., Vázquez-Juárez, R., Ramírez-Macías, D., ... & Planes, S. (2014). Genetic structure of populations of whale sharks among ocean basins and evidence for their historic rise and recent decline. *Molecular ecology*, 23(10), 2590-2601.

Vignaud, T. M., Maynard, J. A., Leblois, R., Meekan, M. G., Vázquez-Juárez, R., Ramírez-Macías, D., ... & Planes, S. (2014). Data from: Genetic structure of populations of whale sharks among ocean basins and evidence for their historic rise and recent decline.

Vooren, C. M., & Klippel, S. (Eds.). (2005). *Ações para a conservação de tubarões e raias no sul do Brasil*. Sandro Klippel.

Wang, H., Hao, B., Zhou, K., Chen, X., Wu, S., Zhou, G., ... & He, F. (2004). Linkage disequilibrium and haplotype architecture for two ABC transporter genes (ABCC1 and ABCG2) in Chinese population: implications for pharmacogenomic association studies. *Annals of human genetics*, 68(6), 563-573.

Waples, R. S. (1998). Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity*, 89(5), 438-450.

Waples, R. S., Gustafson, R. G., Weitkamp, L. A., Myers, J. M., Johnson, O. W., Busby, P. J., ... & Baker, B. M. (2001). Characterizing diversity in salmon from the Pacific Northwest*. *Journal of Fish Biology*, 59(sA), 1-41.

Ward, R. D., & Gardner, M. G. (1997). *Stock structure and species identification of school and gummy sharks in Australasian waters*. CSIRO, Division of Fisheries.

Ward, R. D., & Grewe, P. M. (1995). *Molecular Genetics in Fisheries*.

Wright, S. (1951). FISHER AND FORD ON" THE SEWALL WRIGHT EFFECT". *American Scientist*, 452-479.

Wright, S. (1965). Factor interaction and linkage in evolution. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 162(986), 80-104.

Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 395-420.

Wright, S. (1978). *Evolution and the Genetics of Populations: A Treatise in Four Volumes: Vol. 4: Variability Within and Among Natural Populations*. University of Chicago Press.

Wright, S. (1978). Evolution and the Genetics of Population, Variability within and among Natural Populations. *Evolution and the genetics of population: Variability within and among natural p*