

**Diversidade e estrutura populacional global do  
tubarão azul (*Prionace glauca*) utilizando  
marcadores moleculares.**

**Juliana Beltramin De Biasi**

**BOTUCATU – SP**

**2018**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**Diversidade e estrutura populacional global do  
tubarão azul (*Prionace glauca*) utilizando  
marcadores moleculares.**

**Juliana Beltramin De Biasi**

**Orientador: Dr. Fernando Fernandes Mendonça**

**Co-orientadora: PhD. Jennifer Ovenden**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética).

**BOTUCATU – SP**

**2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

De Biasi, Juliana Beltramin.

Diversidade e estrutura populacional global do tubarão Azul (*Prionace glauca*) utilizando marcadores moleculares. / Juliana Beltramin De Biasi. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu  
Orientador: Fernando Mendonça Fernandes  
Coorientador: Jennifer Ovenden  
Capes: 20204000

1. Elasmobrânquios. 2. Recursos pesqueiros. 3. Peixe - Genética.

Palavras-chave: Elasmobrânquios; Fluxo gênico; Genética da conservação; Panmixia; Recursos pesqueiros.

*Dedico ao Mar e aos meus pais, por serem  
minhas maiores inspirações.*



©Phil Watson www.shaaark.com

#47

Phil

*Agradeço,*

*Ao Professor Dr. Fernando F. Mendonça, pela confiança e oportunidade, por me apresentar aos tubarões e permitir que eu aprendesse novas técnicas moleculares. Agradeço pela orientação, incentivo, apoio e compreensão. Muito obrigada!*

*À minha co-orientadora Professor Dra. Jennifer Ovenden, pela oportunidade e por me receber tão bem em seu laboratório. Obrigada por toda paciência, ensinamento e incentivo.*

*Aos Professores Dr. Claudio Oliveira e Fausto Forest pela disponibilidade em ajudar sempre e por manterem o laboratório de Botucatu sempre aberto a todos.*

*Ao Professor Dr. Rui Coelho – Universidade do Algarve (Portugal) por todas as amostras e viabilização do trabalho.*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Genética. UNESP – Botucatu.*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela bolsa durante o doutorado e pela concessão da bolsa SWE.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo FAPESP pelo suporte financeiro do projeto.*

*Aos colegas do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes de Botucatu e pelos auxílios teóricos e práticos, cafés e parcerias. Obrigada!*

*Aos colegas do laboratório de Genética Pesqueira – GenPesc, Carolina (Paps), Bruno (Pitera), Esther, Ingrid, Mariana, Marina, Stella, Samia (Alka), Rodrigo, Hytalo, e Catarina, por todo apoio prático e teórico, pela amizade, cafés e risadas. Muito obrigada!*

*Aos colegas do Molecular Fishery Laboratory – MFL, Dany, Mily, Chris, Jamie e Arnould - por toda amizade, paciência com o inglês “The books is on the table” e por toda a ajuda teórica.*

*À minha família botocuda - Bárbara e Isa, por me darem um espacinho na casa de vocês, por todas as conversas filosóficas e pela grande amizade. Ao Alexandre (Dino) por todas as discussões e filosofias, e por principalmente me ajudar muito com o inglês e documentação para a bolsa sanduiche, você foi essencial! Ao Alexandre (Pagode),*

*Isabela (Isa), Nadayca (Nana), Mariana (magrela), Priscila (Priscilão), Luz, Cris, Yuldi e Guilherme (Varvis) por toda amizade, apoio, risadas e por me acolherem tão bem na terra do saci!*

*À minha família santista - Carolina, Cristal, Carolina R., Julia e Jessica. Carol obrigada por esses trocentos anos de amizade e por me aturar em todas as paranoias acadêmicas. Cris obrigada por toda ajuda, toda discussão de resultados, ideias e pela amizade. Meninas, amo vocês, Santos e Imagem e ação não teria tanta graça!*

*À minha família Austrália - Ju, Nath, Ray, Camila, Jeh, Thamys, Dafne, Henrique e Leo, “The land down under” não teria a mesma graça sem vocês, obrigada pelo apoio, carinho, por acreditarem no meu potencial e por me acolherem nessa terra tão, tão, distante.*

*Ao Caio por me amparar nessas reviravoltas, por todo o carinho, amizade e por fazer a caminhada ser bem mais leve. Ao grupo do Zelitos pelo apoio, risadas e pela cerveja gelada.*

*Aos meus amigos de 4 patas - Lia, Belmira e João por estarem ao meu lado sempre, os dias foram mais leves com vocês por perto.*

*Ao Mar, por ser minha paixão, por curar meus males, lavar minha alma e me trazer a calma para seguir em frente quando os dias estavam turbulentos.*

*A todos da minha pequena gigante família, especialmente a minha mãe, meu pai e minhas irmãs, vocês são os meus exemplos, minha força, minhas asas e meu porto seguro. Vocês me fazem melhor e me incentivam a seguir em frente. Obrigada por todo amor e apoio.*

**MUITO OBRIGADA!**

## Resumo

Tubarões são organismos amplamente reconhecidos como predadores de topo de cadeia e sua distribuição geográfica associada à capacidade migratória em diversas espécies, principalmente pelágicas, tornam as avaliações e monitorias de suas populações uma tarefa complexa. O tubarão-azul, *Prionace glauca*, é uma espécie globalmente distribuída e altamente migradora, classificado como “Quase Ameaçado” na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN. No entanto, ao longo de sua história, *P. glauca* vem sendo frequentemente associado a capturas da pesca industrial e, seus registros recentes, apontam declínios relevantes em suas populações em algumas localidades. Dentre o conhecimento necessário para a gestão adequada e conservação de espécies amplamente exploradas, podemos ressaltar que as informações sobre a variabilidade genética e dinâmica populacional são de grande valia, principalmente quando se trata de uma espécie de elevada capacidade de dispersão. Assim, este estudo é o primeiro a caracterizar a biodiversidade molecular e a estrutura populacional desta espécie globalmente, a partir de 534 indivíduos provenientes de diferentes localidades nos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico. Utilizando a região controle de DNA mitocondrial (CR), encontramos 43 haplótipos com diversidade  $Hd=0,778$ , diversidade de nucleotídeos de  $\pi=0,005$  e índice de estrutura populacional global de  $\Phi_{ST}=0,054$  ( $P=0,0001$ ). Estes resultados indicam que *P. glauca* está entre as espécies de tubarões com os maiores índices de variabilidade genética e um alto fluxo gênico entre todos os oceanos, com baixa delimitação geográfica e moderada estrutura populacional. Para fins de conservação e aplicação na gestão pesqueira, os índices de diversidade genética e o conhecimento da estruturação populacional, podem ser utilizados como parâmetro em avaliações periódicas, visando a manutenção e o auxílio na caracterização de áreas prioritárias para a espécie



Palavras-chave: Elasmobrânquios, recursos pesqueiros, genética da conservação, genética de populações, panmixia.

## **Abstract**

Sharks are organisms widely recognised as top-chain predators and their geographic distribution associated with migratory capacity in several species, mainly pelagic, make evaluations and monitoring of their populations a complex task. The blue shark (*Prionace glauca*) is a globally distributed and highly migratory species, classified as "Near Threatened" on the IUCN Red List of Threatened Species. However, throughout its history, *P. glauca* has been frequently associated with industrial fisheries catches, and its recent records indicate relative declines in their populations in some localities. Among the knowledge necessary for the proper management and conservation of widely exploited species, we can highlight the information about genetic variability and population dynamics are of great value, especially when it is a species of high dispersion capacity. Thus, this study is the first to characterise the molecular biodiversity and population structure of this species globally, from 534 individuals from different locations in the Atlantic, Indian and Pacific Oceans. Using the mitochondrial DNA control region (CR), we found 43 haplotypes with diversity  $H_d = 0.778$ , nucleotide diversity of  $\pi = 0.005$  and a global population structure index of  $\Phi_{ST} = 0.054$  ( $P = 0.0001$ ). These results indicate that *P. glauca* is among the species of sharks with the highest indexes of genetic variability and high gene flow among the oceans, with low geographic delimitation and moderate population structure. For purposes of conservation and application in fisheries management, the indexes of genetic diversity can be used as a parameter in periodic evaluations aiming their maintenance, and the knowledge of the population structure can help in the characterisation of priority areas for the species.

**Keywords:** Elasmobranches, fisheries resources, conservation genetics, population genetics, panmixia

## Sumário

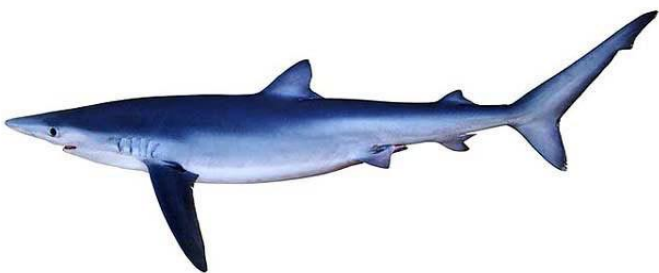
1. Introdução .....	15
1.1. Tubarão azul – <i>Prionace glauca</i> .....	15
1.2. Exploração pesqueira do tubarão azul .....	17
1.3. Diversidade genética em tubarões.....	19
1.4. Genética Populacional do tubarão azul .....	20
Objetivos .....	23
Materiais e Métodos .....	25
1.5. Coleta das amostras .....	26
1.6. Extração do DNA genômico.....	28
1.7. Amplificação e sequenciamento da região controladora do DNAMt (RC).....	28
1.8. Análise das sequências.....	29
Resultados.....	32
Discussão.....	40
Conclusão .....	47
Referências Bibliográficas .....	48

## **Lista Figuras**

Figura 1- Representação gráfica da espécie de tubarão azul – <i>Prionace glauca</i> .....	16
Figura 2 - Localização das amostras coletadas e tamanhos das amostras em parênteses do tubarão azul ( <i>Prionace glauca</i> ) ao longo das três bacias Oceânicas. ....	27
Figura 3 - Rede de haplótipos global do tubarão azul <i>P. glauca</i> . Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao número de indivíduos representados.. ....	34
Figura 4- Rede de haplótipos de tubarão azul. Adultos (A) e juvenis (B). ....	35
Figura 5 - Mapa ilustrativo sobre o agrupamento dos pontos amostrais para a hipótese I .....	38

## Lista Tabelas

- Tabela 1-** Valores utilizados para a separação de adultos (maturo) e juvenis (imaturos) de tubarão azul para cada oceano estudado. .... 30
- Tabela 2 –** Índices de diversidade genética para cada ponto amostral de tubarão azul. n, número de indivíduos; S, sítios polimórficos; h, número de haplótipos; HD, diversidade haplotípica;  $\pi$ , diversidade nucleotídica. Os códigos de localização podem ser encontrados na Figura 2. .... 33
- Tabela 3 -** Valores estimados de  $\Phi_{ST}$  par a par. 15 locais de coleta amostrados nos oceanos Índico, Pacífico e Atlântico. Os valores de  $\Phi_{ST}$  estão abaixo da linha diagonal e os valores de p são representados acima da diagonal (os valores em negrito indicam diferença estatisticamente significativa com valor de  $p < 0,05$ ). Códigos de localização podem ser encontrados na Figura 2. .... 37
- Tabela 4-** Valores estimados de  $\Phi_{ST}$  par a par. Separação realizada entre as 3 bacias oceânicas (Índico, Pacífico e Atlântico). Os valores de  $\Phi_{ST}$  estão abaixo da linha diagonal e os valores de p são representados acima da diagonal (valores em negrito indicam diferença estatisticamente significativa com valor de  $p < 0,05$ ). .... 37
- Tabela 5-** Valores de  $\Phi$  calculados pela AMOVA. Quatro simulações realizadas: (I) correlação entre os oceanos, (II) correlação entre pontos com base nos resultados obtidos no  $\Phi_{ST}$  par a par e (III) relações entre bacias em juvenis e adultos. PAC - Pacífico, INDI - Indiano, ATL - Atlântico. Estruturação  $\Phi_{ST}$ - estruturação global,  $\Phi_{CT}$  - estruturação entre grupos,  $\Phi_{SC}$  - estruturação entre populações dentro de grupos (valores em negrito indicam diferença estatisticamente significante com valor de  $p < 0,05$ ). .... 38



---

## INTRODUÇÃO

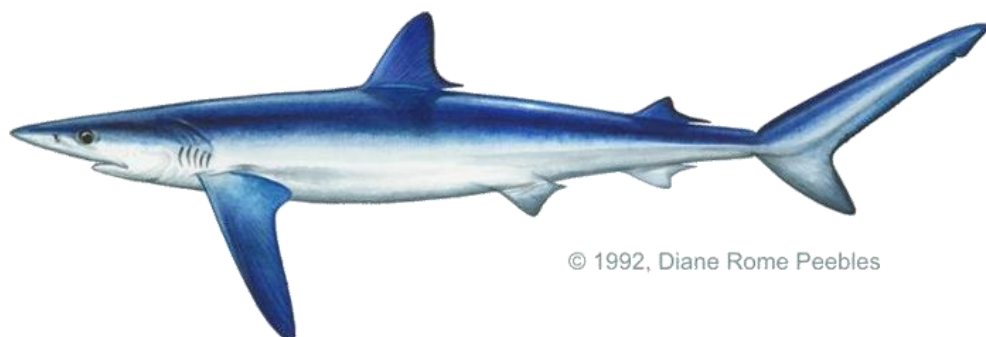
## 1. Introdução

Ao longo da história evolutiva, os tubarões desempenham um importante papel dentro das comunidades marinhas (Cortés, 2000). Esses organismos são amplamente reconhecidos como predadores de topo de cadeia, e a distribuição geográfica associada à capacidade migratória em diversas espécies, principalmente as pelágicas, torna as avaliações e monitorias de suas populações uma tarefa complexa (Fowler et al., 2005). Neste contexto, o aumento da exploração pesqueira de tubarões nas últimas décadas tem se tornado um assunto de preocupação internacional, sendo evidente o drástico declínio populacional em diversas espécies, colocando várias delas nas listas de risco de extinção. Capturas em todos os mares têm aumentado significativamente nos últimos anos (Dulvy et al., 2014), incluindo as capturas de forma acidental (Stevens et al., 2010). Dados estatísticos da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) registraram no ano de 2015 a captura mundial de 520.000 toneladas de tubarões. Ainda segundo a FAO, o Brasil é responsável pela captura de cerca de 19.000 toneladas anuais com registro de pouco mais de 18.500 toneladas em 2015 (FAO 2017).

### 1.1. Tubarão azul – *Prionace glauca*

Dentre as espécies fortemente exploradas pela pesca, o tubarão azul, *Prionace glauca* -Linnaeus 1758 (Figura 1), com distribuição circunglobal de zonas oceânicas tropicais até temperadas e mais comumente encontrados entre 50° N e 50° S, desde a superfície até cerca de 160 m de profundidade (Nakano and Stevens, 2008; Silva et al., 2010) é considerado o mais abundante nos ambientes pelágicos e provavelmente a espécie

de tubarão mais capturada globalmente (Camhi et al., 2008) (DeWoody and Avise, 2000; Ward et al., 2005).



© 1992, Diane Rome Peebles

Figura 1- Representação gráfica da espécie de tubarão azul – *Prionace glauca*

É considerada uma espécie altamente migratória, podendo percorrer distâncias de até 10.000 km incluindo as direções transoceânico de leste-oeste e norte-sul (Kohler et al., 2002; Aires-da-Silva. et al., 2005; Queiroz et al., 2012; Vandeperre et al., 2014). Os indivíduos são segregados de acordo com o tamanho, sexo e estágio reprodutivo (Nakano & Stevens, 2008), seu complexo hábito migratório se deve as variações sazonais na temperatura da água, condição reprodutiva e disponibilidade de alimento (Kohler & Turner, 2001). Nakano & Stevens (2008) consideram que áreas de berçário ocorrem nas latitudes temperadas do norte e do sul a 35-45 °, onde juvenis de ambos os sexos permanecem até atingirem a maturidade sexual e migrarem para outras áreas (Aires-da-Silva et al., 2008; Vandeperre et al., 2014), abrangendo todas as bacias oceânicas e explorando áreas altamente produtivas em zonas frontais oceânicas (Queiroz et al., 2012, 2016)

O Tubarão azul é uma das poucas espécies que são consideradas como tendo produtividade biológica relativamente elevada devido à sua taxa de crescimento comparativamente alta, maturidade sexual entre 4-6 anos e, acima de tudo, por produzir



uma numerosa prole dentre os tubarões (35 filhotes em média) (Stevens 2009). A reprodução é dada pela viviparidade placentária, com período de gestação de 9 a 12 meses, ocorrendo ao longo do ano (Compagno, 1984; Ebert et al., 2013). Contudo, apresentam variação no comprimento de primeira maturação, que está relacionado às diferenças entre as áreas geográficas (Coelho et al., 2017). Segundo a ICCAT Shark Working Group (Anon, 2014), no Atlântico as fêmeas variam entre 175 a 182 cm, enquanto no Índico o tamanho estabelecido pela IOTC é de 194 cm (Anon, 2015). Quanto às características morfológicas que descrevem a espécie, podem ser citadas as seguintes: corpo bastante delgado podendo atingir 3,5m de comprimento, focinho comprido e cónico, olhos grandes, nadadeiras peitorais muito longas, dentes superiores curvos e serrilhados, dentes inferiores oblíquos altos e estreitos e serrilhados apenas nas pontas, dorso azul escuro, extremidades das nadadeiras peitorais e nadadeira anal escuras (Ebert et al., 2013).

O tubarão-azul geralmente alimenta-se de peixes ósseos e lulas e eventualmente de aves marinhas e cetáceos (Preti et al., 2012; Sampaio, 2013). Apesar da alta seletividade de itens de presas encontrados na dieta, também é conhecido como predador oportunista (Henderson et al., 2005). Possui adaptações morfológicas para ambientes abertos, onde os alimentos podem ser escassos e distribuídos irregularmente (Sampaio, 2013).

## **1.2. Exploração pesqueira do tubarão azul**

O tubarão azul é considerada a espécie mais explorada na pesca industrial oceânica em todo o mundo. (Mejuto & Garcia-Cortes, 2006; Kohler & Turner, 2009;

Coelho et al., 2017). É capturado, principalmente, de forma incidental na pesca de atuns e afins ( Mejuto & Garcia-Cortes, 2006; Carvalho et al., 2011).

Apesar de possuir importância econômica relativamente menor quando comparado a de outras espécies de peixes pelágicos, o interesse mundial nas nadadeiras e demais derivados de tubarões tem causado a exploração massiva da espécie, deixando dúvidas sobre o potencial de resiliência e impacto já causado (James et al., 2002; Campana et al., 2009).

Embora os estudos de abundância tenham fornecido conclusões mistas, as estimativas mais recentes convergem para um declínio acentuado da população nas últimas décadas ( Clarke et al., 2012; Oliver et al., 2015; Barreto et al., 2016). O impacto da pesca sobre as populações de tubarão azul aponta para uma estimativa de redução entre 10 milhões a 20 milhões de indivíduos (Clarke et al., 2006; Stevens et al., 2010). No Atlântico, os desembarques médios reportados à ICCAT (Comissão Internacional para a Conservação dos Tunídeos do Atlântico) no anos de 2010 a 2014, giraram em torno de 64.000 toneladas, sendo que 58% eram do Norte e 42% do oceano Atlântico Sul (Coelho et al., 2017). Já no oceano Índico, os desembarques da espécie relatados pela IOTC (Comissão do Atum do Oceano Índico) nos anos de 2010-2014, foram de aproximadamente 28.000 toneladas (Anon, 2015). Estas estatísticas pesqueiras fazem com que o tubarão azul seja colocado na posição *Quase Ameaçado em todo o mundo* e *Criticamente Ameaçado* no Mar Mediterrâneo pela IUCN (International Union for Conservation of Nature, 2016). De acordo com Camhi, et al., (2008) 70% da captura total de tubarões oceânicos no Atlântico se refere ao tubarão azul, sendo este, portanto, o recurso da pesca acessória mais importante neste oceano (Queiroz et al., 2016). Já a ICCAT em seu último relatório de 2015 considerou que não era adequado conduzir projeções quantitativas da condição futura dos estoques com base na variedade de

cenários apresentados. No Pacífico, o declínio da espécie foi estimado em 57% durante o período de 1950 a 1990 (Ward et al., 2005) e de 1995 a 2003 (Clarke et al., 2012).

### **1.3. Diversidade genética em tubarões**

A diversidade genética é um indicador importante no diagnóstico de uma população no ambiente. Quanto maior a diversidade genética dentro da espécie supõe-se que, mais fácil será sua sobrevivência caso mudanças inesperadas ocorram no ambiente. Entre os indivíduos geneticamente diferentes, sempre haverá aqueles capazes de se adaptar e contribuir para a próxima geração.

Importantes descobertas podem ser obtidas por meio da avaliação da diversidade genética populacional, dentre elas: processos de gargalo genético, deriva genética e endogamia. Fatores estes que reduzem a diversidade genética de pequenas populações e, em alguns casos, deixam assinaturas detectáveis na genética da população (DeWoody and Avise, 2000; Ward et al., 2005). Devido a populações de peixes marinhos serem relativamente grandes, as torna mais resilientes aos processos que influenciam sua diversidade genética (Waples et al., 2009).

Os estudos genéticos estão sendo utilizados principalmente para inferir sobre o manejo e conservação da pesca em elasmobrânquios, principalmente por tal grupo de peixes se encontrar sujeito a alta pressão de pesca (Dulvy et al., 2014; O’Leary et al., 2015). Portanto, o interesse em elucidar os padrões genéticos e conectividade demográfica de diferentes grupos de indivíduos ou populações, bem como as distribuições de variação genética dentro e entre populações (Waples and Gaggiotti, 2006; Ovenden, 2013) se torna necessário para identificar geneticamente populações distintas e

preservar a diversidade genética, abordando fatores que ameaçam as populações de elasmobrânquios (Domingues et al., 2018).

#### **1.4. Genética Populacional do tubarão azul**

Com a evolução do conhecimento sobre marcadores de DNA e o desenvolvimento recente da biotecnologia, estudos genéticos estão sendo incorporados ao manejo e conservação das espécies de forma prática e eficiente. Para o setor pesqueiro, a identificação e manutenção de estoques diferenciados são elementos fundamentais por sua relação direta com a produtividade total e uso sustentável dos recursos (Carvalho & Hauser, 1995), constituindo-se o conhecimento da variabilidade genética das populações e a estrutura destas entidades biológicas, os objetivos básicos estabelecidos em programas de controle e conservação das espécies (Lindenmayer & Lacy, 1995).

Já há algum tempo, os padrões de diversificação do DNA mitocondrial (mtDNA) vêm sendo reconhecidos como ferramentas potencialmente importantes nos estudos de linhagens comerciais de peixes, possibilitando a distinção de populações geográficas com grande eficiência através da identificação de haplótipos (Garg and Mishra, 2018; Li et al., 2017; Weiwen Li et al., 2016).

Dentre os marcadores comumente utilizados para entender a estruturação populacional e diversidade genética em elasmobrânquios, está a região controle do DNA mitocondrial (RC), reconhecida por conter os maiores trechos de DNA não codificante e exibir a maior taxa de substituição (Heist, 2004). Para avaliar o status genético e nível de conectividade demográfica de *Carcharhinus falciformis*, Clarke et al., (2015) analisou a região controle de DNA mitocondrial de 276 indivíduos capturados nos oceanos Atlântico, Indo-Pacífico e no Mar Vermelho observando que pelo menos cinco populações foram identificadas globalmente e que apesar do tamanho populacional

historicamente grande, *C. falciformes* parece estar isolado em escalas espaciais relativamente pequenas, ressaltando a importância dos esforços para a conservação e manejo.

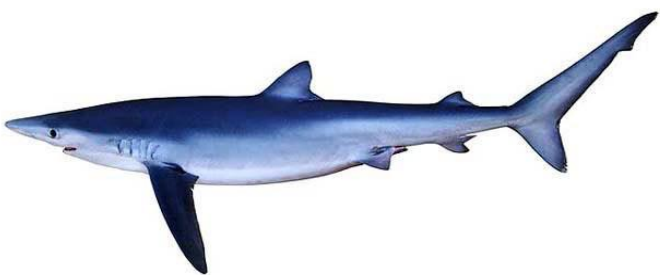
da Silva Ferrette et al., (2015) estudando a dinâmica populacional do tubarão crocodilo, *Pseudocarcharias kamoharai*, em regiões dos Oceanos Atlântico e Índico, mostrou alto grau de fluxo gênico e um estoque genético único com reduzida variabilidade populacional. Ao avaliar a estrutura populacional e a conectividade em todo o Oceano Pacífico da espécie *Carcharhinus galapagensis*, (Pazmiño et al., 2017), usando polimorfismos de nucleotídeo único em todo o genoma e sequências da região de controle mitocondrial, identificou-se três populações, delineando quatro unidades de conservação ao longo do Pacífico com o intuito de facilitar a implementação de medida de manejo para a conservação da espécie na região.

Estes e diversos outros estudos sobre a diversidade genética e estrutura populacional de tubarões mostram que parece não haver um padrão, mesmo comparando hábitos de vida semelhantes ou espécies do mesmo gênero. Assim, é imperativo a realização de avaliações aprofundadas para cada uma das espécies, sobretudo as já fortemente exploradas pelo homem.

Sendo o tubarão azul uma espécie altamente migratória e de distribuição circunglobal, torna-se ainda mais desafiador o mapeamento de seu fluxo gênico e a caracterização de sua estrutura genética populacional (Leone et al., 2017). Tentativas anteriores de elucidar tais questões para a espécie apoiaram a teoria de fluxo gênico irrestrito entre bacias, no Atlântico Norte (Queiroz et al., 2012), em todo o Atlântico Norte e Sul e Pacífico (Veríssimo et al., 2017) e no Atlântico Norte, Mediterrâneo e Pacífico (Bailleul et al., 2017). Apenas Leone et al., (2017) aponta para sinais significativos de estruturação geográfica entre o Mediterrâneo e o Atlântico.

Ao utilizar o marcador Cyt B do mtDNA e nove marcadores microssatélites em 200 amostras provenientes do Mar Mediterrâneo, Atlântico Norte e Pacífico, Bailleul et al. (2017) detectou resquícios de gargalos populacionais, porém com homogeneidade genética em toda a região estudada. Verissimo et al. (2017) analisando a região controle do mtDNA e 12 marcadores microssatélites evidenciou a homogeneidade genética no oceano Atlântico e a alta conectividade genética entre os indivíduos de tubarão azul no Atlântico e no Indo-Pacífico. A diferenciação genética muito baixa ou nula observada em grande escala espacial sugere fluxo gênico suficiente entre áreas distantes, o que resulta em uma homogeneidade nas frequências alélicas, que podem ter ocorrido recentemente, não havendo tempo para diferenças genéticas detectáveis entre as áreas.

Considerando a importância do conhecimento da dinâmica populacional do tubarão azul, sob o ponto de vista genético e, as lacunas de informação sobre a espécie, apresentamos uma avaliação global a respeito da diversidade genética e distribuição geográfica dos haplótipos de DNA mitocondrial que compõem os estoques genéticos desta espécie, extremamente relevante para as pescas mundiais e saúde dos mares.



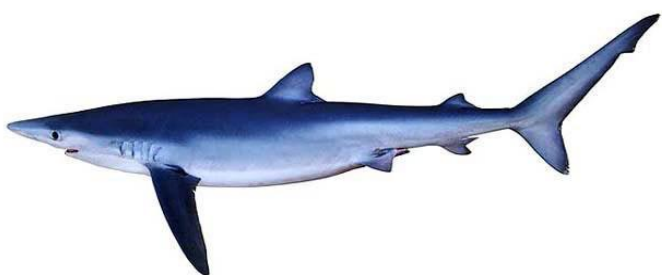
---

## OBJETIVOS

Gerar informações sobre a dinâmica populacional do tubarão-azul, *Prionace glauca*, na totalidade de sua distribuição, englobando os Oceanos Atlântico, Índico e Pacífico, utilizando como marcador molecular a região controle do DNA mitocondrial. Para o desenvolvimento do trabalho, foram listados os seguintes objetivos específicos:

- Avaliação de Panmixia como hipótese nula
- Evidencia de áreas berçários
- A caracterização da diversidade genética total e avaliação das divergências existentes entre os grupos amostrais;
- Identificação do número e a distribuição geográfica dos haplótipos que formam as populações estudadas.





## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1.5. Coleta das amostras

Amostras de tecidos foram coletadas de forma oportuna durante as operações de pesca, retirando pequenos fragmentos de músculo ou da nadadeira que foram posteriormente armazenados em etanol a 95% e congelados. As amostragens da pesca portuguesa foram realizadas pelo Instituto Português do Oceano e Atmosfera (IPMA), Portugal, no âmbito do Quadro Europeu de Recolha de Dados (PNAB / DCF), sob licença da ICCAT para amostragem biológica de espécies de tubarão no Atlântico (ICCAT (13/10) e IOTC para amostragem biológica no Oceano Índico (Resolução IOTC 13/06). As amostras provenientes do Pacífico, Indonésia e Austrália ocidental foram cedidas pela pesquisadora Jennifer Ovenden da Universidade de Queensland – Austrália. Sequências dos pontos amostrais da África do Sul e São Paulo, foram cedidas pela pesquisadora Ana Veríssimo. Os pontos mostrais onde os exemplares de *Prionace glauca* foram capturados estão representados na Figura 2.

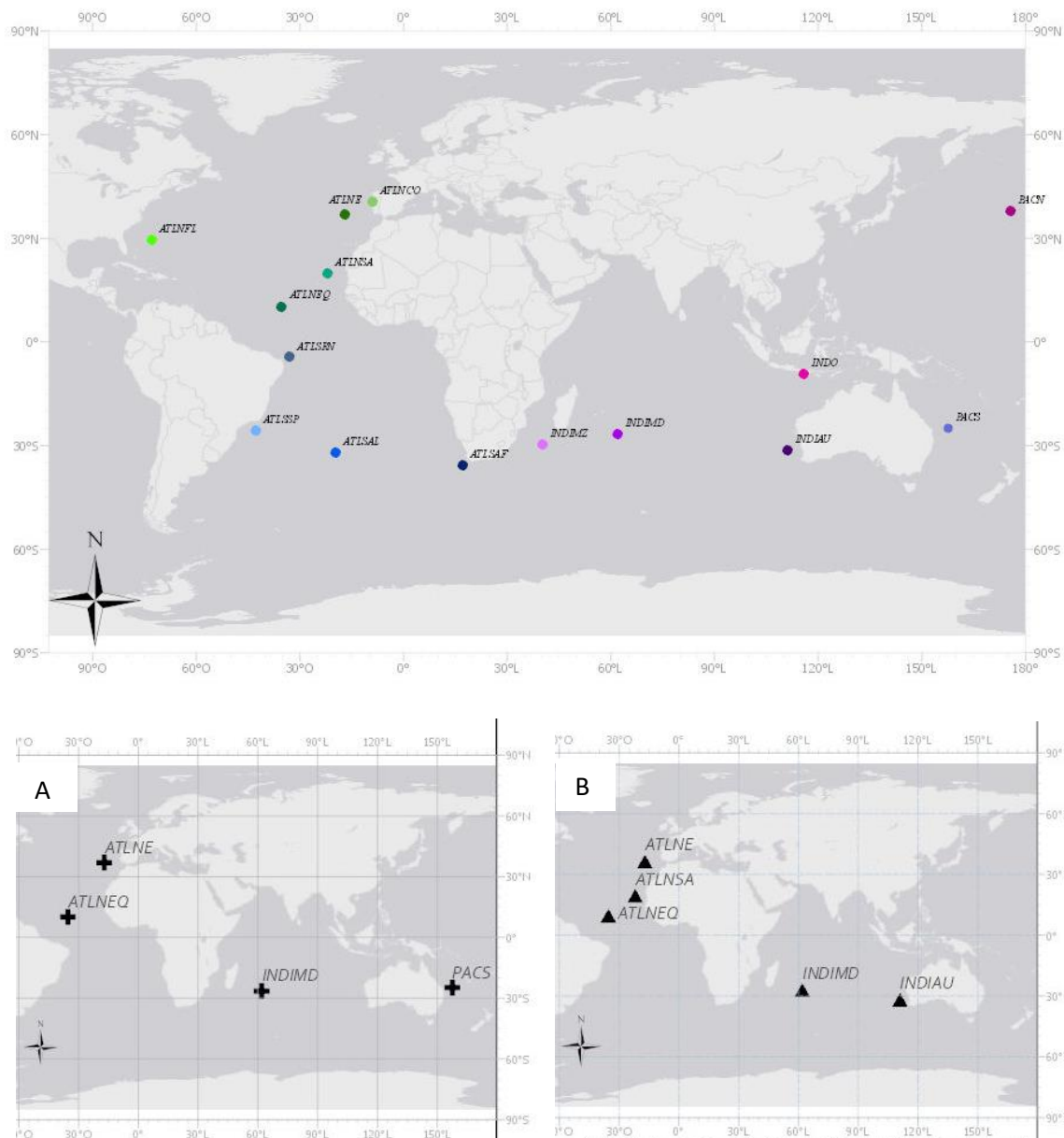


Figura 2 - Localização das amostras coletadas e tamanhos das amostras em parênteses do tubarão azul (*Prionace glauca*) ao longo das três bacias Oceânicas. Tubarões adultos são representados no mapa A, e os juvenis são representados no mapa B. PACN – Pacífico Norte, Japão; PACS – Pacífico Sul, Austrália; INDO – Indonésia; INDIAU – Índico, Austrália; INDIMD – Índico, Madagascar; INDIMZ – Índico, Moçambique; ATLSAF – Atlântico Sul, África; ATLSAL - Atlântico Sul, Meso oceânica; ATLSSP – Atlântico Sul, São Paulo; ATLSRN - Atlântico Sul, Rio Grande do Norte; ATLNEQ – Atlântico Norte, Equador; ATLNSA, Atlântico Norte, África; ATLNE – Atlântico Norte, Açores; ATLNCO – Atlântico Norte, Portugal; ATLNFL – Atlântico Norte, Flórida.

### **1.6. Extração do DNA genômico.**

O DNA genômico foi extraído seguindo o protocolo do kit de extração NucleoSpin® Tissue (Macherey-Nagel). Após a extração, as amostras foram avaliadas quanto sua integridade e concentração de DNA e comparadas com o marcador molecular Low DNA Mass (Invitrogen), utilizando eletroforese com gel de agarose 0,8% em tampão TAE 1X (0,04M Tris-acetato, 0,001M EDTA) e coradas com corante para ácidos nucleicos Blue Green Loading Dye I (LCG Biotecnologia), fotografados sob luz UV, para confirmação da concentração de DNA. As amostras extraídas foram devidamente catalogadas e armazenadas em freezer -20°C até a sua utilização.

### **1.7. Amplificação e sequenciamento da região controladora do DNAm (RC)**

A amplificação foi realizada pelo método de PCR (Polymerase Chain Reaction) utilizando iniciadores específicos da região controladora do DNA mitocondrial (D-loop F 5'-CTC CCA CCA AGA AAG TTC TG-3 e D-loop R 5'-GGC CGC TTA TGT AGG CTT CTT GG-3') descritos por Mendonça et al., (2009). Cada solução de amplificação foi realizada com 25µl de solução contendo 0,5 mM de cada iniciador descrito, 0,8 mM de dNTP; 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; tampão da enzima Taq DNA polimerase (Tris-HCl 20 mM pH 8,4 e 50 mM KCl); e uma unidade da enzima Taq polimerase (Invitrogen).

As amplificações foram realizadas sob as seguintes condições: denaturação inicial de 95°C por 3 minutos, seguido de 35 repetições com denaturação a 95°C a 30 segundos, hibridação a 57°C por 45 segundos e extensão a 72°C por 45 segundos, e finalizadas com extensão a 72°C por 7 minutos. Os segmentos de DNA amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, utilizando o corante BlueGreen sob luz UV.

Posteriormente foi realizada a purificação enzimática do produto de PCR usando o kit *ExoSAP-IT*®, seguindo as recomendações do fabricante. Para a reação de sequenciamento (Sanger et al. 1977) os produtos de PCR purificados foram submetidos a uma PCR de sequenciamento, em termociclador, seguindo os protocolos do BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fischer Scientific™). As sequências de DNA são geradas na plataforma de sequenciamento automático ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer.

### **1.8. Análise das sequências**

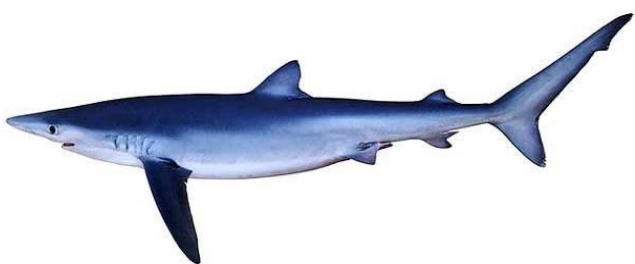
A avaliação dos eletroferogramas de cada indivíduo e as edições e alinhamentos das sequências nucleotídicas foram realizadas utilizando o programa Geneious 4.8.5 (Kearse et al., 2012). A composição relativa de nucleotídeos, número de sítios polimórficos, diversidade de haplótipos ( $h$ ), diversidade de nucleotídeos ( $\pi$ ) e número de diferenças de nucleotídeos entre populações foram calculados usando o software ARLEQUIN 3.5.1.3 (Excoffier & Lischer, 2010) e o programa DnaSP Sequence Polymorphism (Rozas et al. 2003). Para testar a hipótese nula de panmixia, e a estrutura genética das populações foi usando um análogo da estatística  $F$  de Wright, o  $\Phi_{ST}$  (Wright, 1943). Este coeficiente  $ST$  mede a razão entre a deriva genética e o fluxo gênico e o modo como esta razão influencia a estrutura populacional quando se consideram os processos, sendo esta uma das medidas de estrutura populacional mais utilizadas na genética evolutiva. (Templeton, 2011). Os valores de  $F_{ST}$  entre 0 e 0,05 indicam uma baixa estruturação genética, entre 0,05 e 0,15 estruturação moderada, entre 0,15 e 0,25 alta e acima de 0,25 uma forte estruturação genética.

Para determinar o índice de fixação global, bem como uma possível estruturação entre agrupamentos de populações determinados a priori, foi realizada uma Análise de

Variância Molecular (AMOVA) (Excoffier et al., 1992). Esta análise gera estatísticas  $\Phi$  ( $\Phi_{ST}$ ,  $\Phi_{SC}$ ,  $\Phi_{CT}$ ), sendo a significância estatística dada considerando-se 10.000 permutações utilizando o software ARLEQUIN 3.5.1.3, para verificar o melhor modelo de substituição de nucleotídeos e os valores de parâmetros para as sequências alinhadas foram selecionados pelo software jmodeltest (Posada, 2008). Os valores de significância foram ajustados usando a taxa de descoberta falsa (FDR) (Benjamini & Hochberg, 1995). Diferentes agrupamentos foram testados, considerando (I) a proximidade geográfica dos pontos de coleta entre os oceanos (II) usando a correlação entre os valores do  $\Phi_{ST}$  par a par e em (III) tentando explicar possíveis relações entre juvenis e adultos entre as bacias oceânicas. Para realizar a separação entre os tamanhos de classes foram utilizados parâmetros de acordo com a média de tamanho de imaturos e maduros (Tabela 1). A rede de haplótipos foi elaborada com critério de parcimônia estatística utilizando o programa POPART (Leigh & Bryant, 2015).

Tabela 1- Valores utilizados para a separação de adultos (maturo) e juvenis (imaturos) de tubarão azul para cada oceano estudado.

Oceano	Maturidade (cm)		Autor
	Fêmeas	Machos	
Índico	194	201	Anon., 2015
Pacífico	170	190	Manning, 2005
Atlântico Norte	182	197	Anon., 2014
Atlântico Sul	174	175	



---

## RESULTADOS

## Resultados

Foram sequenciadas 539 amostras de tubarão azul de 15 localidades distribuídas ao longo dos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico, utilizando fragmentos da região controladora do DNA mitocondrial com 445 pares de base (pb). Foram encontrados 43 haplótipos gerados a partir de 32 regiões polimórficas. O valor de diversidade nucleotídica global encontrado foi de  $\pi=0,005$  e de diversidade haplotípica de  $Hd= 0,778$ . A posição dos sítios polimórficos e a variação em cada haplótipo podem ser visualizadas na Tabela 1. Dentre os pontos amostrais analisados, a maior diversidade encontrada foi no Oceano Índico na localidade próxima a Austrália, intitulada como IND\_AU, com a diversidade haplotípica de  $Hd = 0,905$  e nucleotídica de  $\pi = 0,006$ . Os menores valores foram encontrados no ponto amostral localizado no Oceano Atlântico Sul no ponto intitulado como ATL\_RN com diversidade haplotípica de  $Hd = 0,672$  e diversidade nucleotídica de  $\pi = 0,004$ . (Tabela 1).

Para a análise de adultos foram utilizados 50 indivíduos de 4 localidades distribuídas nos três oceanos. Foram observados 12 haplótipos gerados a partir de 11 sítios polimórficos em adultos, com valores de diversidade haplotípica de  $Hd= 0,708$  e nucleotídica de  $\pi = 0,004$ . (Tabela 2). Ao analisar os 70 indivíduos categorizados como juvenis obtidos nos Oceanos Índico e Atlântico, foram encontrados 10 haplótipos gerados a partir de 8 sítios polimórficos. A diversidade haplotípica foi de  $Hd= 0,735$  e nucleotídica de  $\pi = 0,004$ .



Tabela 2 – Índices de diversidade genética para cada ponto amostral de tubarão azul. n, número de indivíduos; S, sítios polimórficos; h, número de haplótipos; Hd, diversidade haplotípica;  $\pi$ , diversidade nucleotídica. Os códigos de localização podem ser encontrados na Figura 2.

Localização	n	S	h	Hd	$\pi$
PACN	17	7	7	0.853	0.005
PACS	15	9	8	0.848	0.006
INDO	38	8	9	0.798	0.005
INDIAU	21	8	11	0.905	0.006
INDIMD	31	8	8	0.735	0.004
INDIMZ	42	10	10	0.774	0.005
ATLSAF	70	9	12	0.778	0.005
ATLSAL	28	10	11	0.849	0.006
ATLSSP	63	10	15	0.718	0.005
ATLSRN	15	7	6	0.648	0.004
ATLNEQ	57	12	14	0.783	0.005
ATLNSA	48	10	12	0.780	0.005
ATLNE	73	7	9	0.672	0.006
ATLNCO	16	4	4	0.742	0.004
ATLNFL	5	0	-	-	-
<b>Juvenis</b>	70	8	10	0.735	0.004
<b>Adultos</b>	50	11	12	0.708	0.004
INDIAN	94	10	18	0.792	0.003
PAC	70	11	15	0.813	0.003
ATL	350	18	35	0.756	0.005

A rede de haplótipos global revelou dois haplótipos comuns, representando 65% do total de amostras, dezoito haplótipos corresponderam a 31% do total dos indivíduos amostrados, sendo os 4% restantes compostos por vinte haplótipos representados por apenas um indivíduo cada, sendo excluídos da montagem da rede de haplótipos para uma visualização mais precisa entre os haplótipos compartilhados entre os tubarões amostrados. Predominantemente o haplótipo 2 está associado ao Oceano Indo-Pacífico, enquanto o haplótipo 4 é mais representativo com o Oceano Atlântico (Figura 3).

Ao analisar a rede haplotípica de adultos, 48% dos organismos compõem o haplótipo 2 e 26% compõem o haplótipo 1, já os 8 haplótipos únicos estão divididos entre o oceano Índico (1 haplótipo – INDMD), oceano Atlântico (3 haplótipos ATLNEQ e 1 haplótipo ATLNSA), oceano Pacífico (3 haplótipos – PACS). Nos juvenis 41,4% dos organismos compõem o haplotipo 1, enquanto 30% compõem o haplotipo 2. Dos 4 haplótipos únicos encontrados 2 estão presentes apenas no oceano Índico (1 no INDAU e 1 no INDMD), enquanto os outros 2 estão no Atlântico (1 no ATLNNE e 1 no ATLNEQ) (Figura 4).

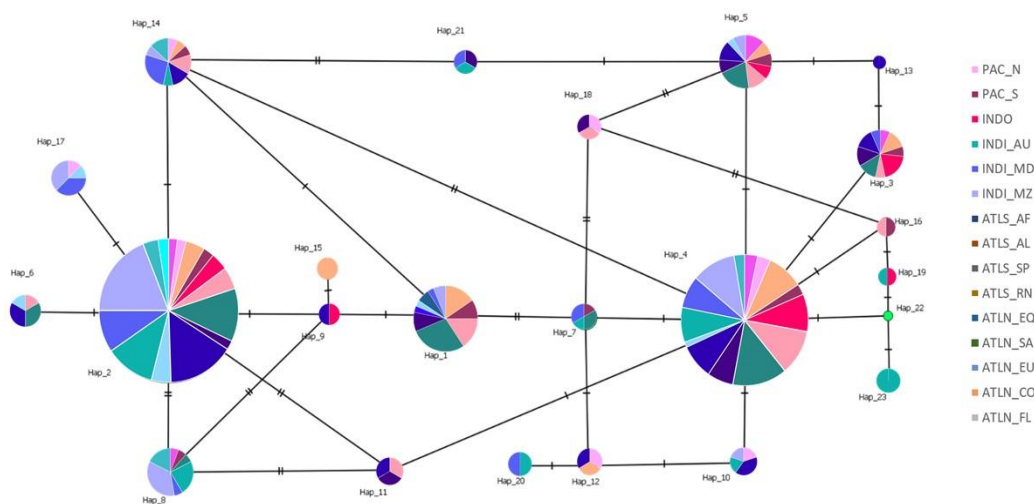


Figura 3 - Rede de haplótipos global do tubarão azul *P. glauca*. Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao número de indivíduos representados. O número de marcas nas linhas entre os círculos é proporcional ao número estimado de etapas mutacionais entre os haplótipos. Vinte haplótipos representados por apenas um indivíduo cada, sendo excluídos da montagem da rede de haplótipos para uma visualização mais precisa entre os haplótipos que compartilham diferentes amostras.

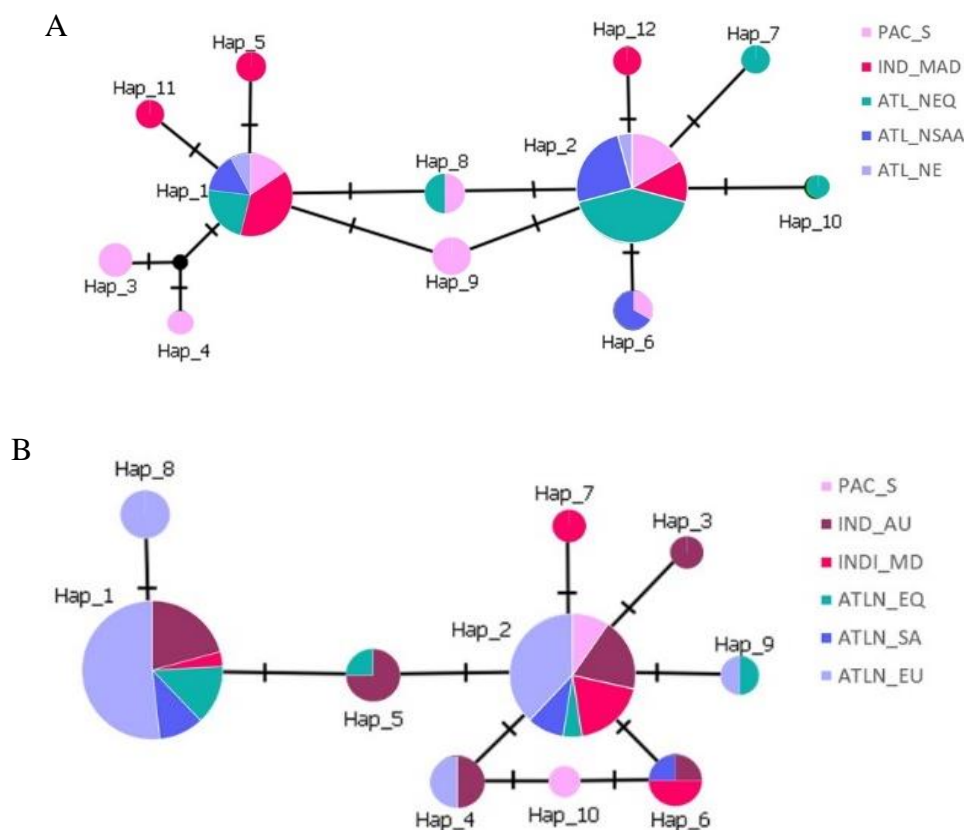


Figura 4- Rede de haplótipos de tubarão azul. Adultos (A) e juvenis (B). Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao número de indivíduos representados. O número de marcas nas linhas entre os círculos é proporcional ao número estimado de etapas mutacionais entre os haplótipos.

Para a verificação da estruturação populacional entre os pontos amostrais e da hipótese nula de panmixia da população, foram medidos os valores de  $\Phi_{ST}$  par a par. Evidências de estruturação genética moderada na população de tubarão azul foram observadas em três pontos amostrais, dos 15 pontos estudados, resultando em sete valores moderados e significativos estatisticamente ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). A região da Flórida no Oceano Atlântico (ATLNFL) apresentou valores altos de estruturação populacional. Tais resultados foram associados ao pequeno número amostral utilizado para análise desta localidade (5 amostras). As amostras localizadas no Atlântico Sul – África do Sul (ATLSAF) tiveram valores baixos e significativos do  $\Phi_{ST}$  quando comparadas com as outras localidades do Atlântico. A localidade em Rio Grande do Norte – Brasil

(ATLSRN) apresentou valores moderados de estrutura populacional, porém destes valores apenas três localidades comparadas foram significativas, dentre elas, Indonésia (INDO) com  $\Phi_{ST} = 0,120$ , Madagascar (INDIMD) com  $\Phi_{ST} = 0,257$  e África do Sul (ATLSAF) com  $\Phi_{ST} = 0,085$ . A localidade no sudeste do Brasil (ATLSSP) apresentou valores moderados e significativos quando comparada a uma região próxima a Moçambique (INDIMZ) com  $\Phi_{ST} = 0,056$  e Madagascar (INDIMD) com  $\Phi_{ST} = 0,09$ . As amostras coletadas nas localidades do Atlântico Norte (ATLNEU) possuem um valor moderado e significativo quando comparadas com amostras de indivíduos do Oceano Índico próximo a Moçambique (INDIMZ) com  $\Phi_{ST} = 0,113$  e Madagascar (INDIMD) com valores de  $\Phi_{ST} = 0,166$  e Indonésia (INDO) com  $\Phi_{ST} = 0,07$ . Ao analisar os valores de  $\Phi_{ST}$  par a par entre os 3 oceanos, não houve a existência de estruturas populacionais (Tabela 4).

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) revelou diferenças moderadas e significativas em quatro simulações das dez simulações realizadas (Tabela 4). A correlação entre os oceanos revelou o valor moderado de  $\Phi_{ST}$  entre as amostras separadas entre os três oceanos, variando de  $\Phi_{ST} = 0,036$  a  $0,060$ . Por outro lado, a correlação que gerou maior valor de estruturação foi a da hipótese I (amostras ATLSAF e ATLSAL, foram combinadas com as amostras do Oceano Índico e Pacífico – Figura 5) resultando no valor de  $\Phi_{ST} = 0,06726$  ( $P = 0,0000$ ). Na estrutura populacional com juvenis e adultos os valores indicaram alta diferença genética, porém sem valor significativo em juvenis  $\Phi_{ST} = 0,0834$  ( $P = 0,111$ ) e em adultos  $\Phi_{ST} = 0,0931$  ( $P = 0,082$ ).

Tabela 3 - Valores estimados de  $\Phi_{ST}$  par a par. 15 locais de coleta amostrados nos oceanos Índico, Pacífico e Atlântico. Os valores de  $\Phi_{ST}$  estão abaixo da linha diagonal e os valores de p são representados acima da diagonal (os valores em negrito indicam diferença estatisticamente significativa com valor de  $p < 0,05$ ). Códigos de localização podem ser encontrados na Figura 2.

	PAC NOR	PAC SOU	IND O	INDI AU	INDI MD	INDI MZ	ATL SAL	ATL SAF	ATL SRN	ATL SSP	ATL NEQ	ATL NSA	ATL NEU	ATL NCO	ATL NFL
PAC NOR	-	0.902	0.902	0.965	0.760	0.902	0.902	0.902	0.309	0.309	0.420	0.420	0.309	0.502	0.104
PAC SOU	0.043	-	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.544	0.515	0.658	0.658	0.515	0.658	0.271
IND O	0.024	0.016	-	0.606	0.606	0.937	0.606	0.823	0.032	0.066	0.087	0.151	0.029	0.168	0.029
INDI AU	0.021	0.014	0.029	-	0.251	0.500	0.612	0.564	0.247	0.251	0.392	0.392	0.193	0.392	0.049
INDI MD	0.008	0.014	0.028	0.053	-	0.577	0.171	0.484	0.037	0.037	0.057	0.101	0.032	0.118	0.025
INDI MZ	0.032	0.021	0.012	0.009	0.006	-	0.475	0.791	0.014	0.044	0.044	0.213	0.014	0.116	0.011
ATL SAL	0.028	0.013	0.012	0.021	0.000	0.001	-	0.213	0.161	0.213	0.213	0.213	0.114	0.213	0.082
ATL SAF	0.004	0.002	0.012	0.027	0.055	0.003	0.044	-	0.006	0.008	0.024	0.035	0.004	0.041	0.002
ATL SRN	0.183	0.135	<b>0.120</b>	0.082	<b>0.257</b>	0.178	0.231	<b>0.085</b>	-	0.783	0.540	0.540	0.568	0.540	0.540
ATL SSP	0.057	0.023	0.030	0.012	<b>0.092</b>	<b>0.056</b>	0.111	<b>0.014</b>	0.024	-	0.357	0.357	0.636	0.357	0.357
ATL NEQ	0.025	0.008	0.015	0.002	0.061	0.032	0.060	<b>0.012</b>	0.067	0.011	-	0.693	0.649	0.693	0.164
ATL NSA	0.048	0.017	0.019	- 0.001	0.088	0.043	0.092	<b>0.007</b>	0.028	-0.009	0.000	-	0.338	0.691	0.123
ATL NEU	0.117	0.078	<b>0.073</b>	0.044	<b>0.166</b>	<b>0.113</b>	0.177	<b>0.046</b>	0.000	0.005	0.020	0.003	-	0.109	0.109
ATL NCO	0.090	0.064	0.047	0.015	0.160	0.095	0.147	<b>0.027</b>	0.001	-0.002	0.006	-0.006	-0.028	-	0.08
ATL NFL	0.365	0.307	<b>0.269</b>	<b>0.235</b>	<b>0.436</b>	<b>0.349</b>	0.378	<b>0.233</b>	-0.001	0.151	0.183	0.156	0.108	0.152	-

Tabela 4- Valores estimados de  $\Phi_{ST}$  par a par. Separação realizada entre as 3 bacias oceânicas (Índico, Pacífico e Atlântico). Os valores de  $\Phi_{ST}$  estão abaixo da linha diagonal e os valores de p são representados acima da diagonal (valores em negrito indicam diferença estatisticamente significativa com valor de  $p < 0,05$ ).

	INDI	PAC	ATL
INDI	-	0,720	0,102
PAC	- 0,007	-	0,001
ATL	0,028	<b>0,045</b>	-

Tabela 5- Valores de  $\Phi$  calculados pela AMOVA. Quatro simulações realizadas: (I) correlação entre os oceanos, (II) correlação entre pontos com base nos resultados obtidos no  $\Phi_{ST}$  par a par e (III) relações entre bacias em juvenis e adultos. PAC - Pacífico, INDI - Indiano, ATL - Atlântico. Estruturação  $\Phi_{ST}$ - estruturação global,  $\Phi_{CT}$  - estruturação entre grupos,  $\Phi_{SC}$  - estruturação entre populações dentro de grupos (valores em negrito indicam diferença estatisticamente significativa com valor de  $p < 0,05$ ).

Simulações		$\Phi_{ST}$	P valor	$\Phi_{CT}$	P valor	$\Phi_{SC}$	P value
I	PAC x INDI x ATL	<b>0.054</b>	0.0000	<b>0.026</b>	0.0296	<b>0.027</b>	0.0019
	PAC + INDI x ATL	<b>0.060</b>	0.0001	<b>0.035</b>	0.0080	<b>0.025</b>	0.0026
II	Hipoteses 1	<b>0.067</b>	0.0000	<b>0.047</b>	0.0013	<b>0.015</b>	0.0333
Adults							
III	PAC x INDI x ATL	0.082	0.0931	0.110	0.301	-0.03	0.596
	Juveniles						
	INDI x ATL	0.091	0.0834	0.105	0.196	0.012	0.341

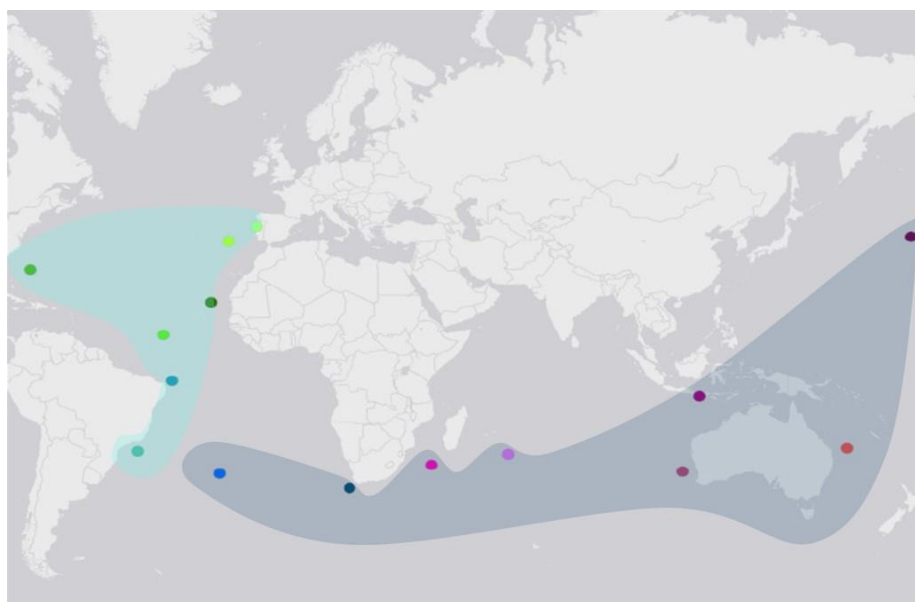
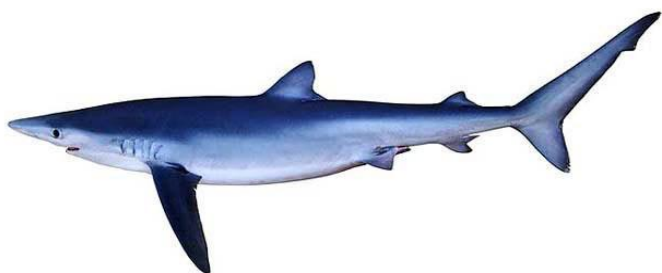


Figura 5 - Mapa ilustrativo sobre o agrupamento dos pontos amostrais para a hipótese I - amostras ATLSAF e ATLSAL foram combinadas com as amostras do Oceano Índico e Pacífico



---

DISCUSSÃO

## Discussão

### *Diversidade genética*

Este estudo realizou uma extensa amostragem englobando localidades antes não estudadas, como dois pontos no oceano Índico, podendo intitular este estudo como o primeiro a analisar globalmente a espécie de tubarão azul em três grandes bacias oceânicas e com n amostral abrangente, cobrindo a totalidade da área de distribuição das espécies.

A diversidade genética global detectada na RC do DNA mitocondrial para tubarão azul para este estudo foi de  $\pi=0.005$  e  $Hd= 0.778$ . Apesar do nosso estudo ter encontrado valores de diversidade haplotípica menores e valores de diversidade nucleotídica maiores do que os valores apresentados por Leone et.al (2017),  $\pi=0.004$   $Hd= 0.951$ , Verissimo et al. (2017),  $\pi=0.003$   $Hd= 0.9$  e Bailleul et. al (2017)  $\pi=0.0017 - 0.26$  e  $Hd= 0.62- 0.82$ , nossos dados corroboram com a afirmativa de grande diversidade para a espécie. Espécies de tubarões pelágicos têm maior diversidade de espécies de tubarões costeiros (Karl et al., 2011), além de altos valores de diversidade genética que são geralmente relacionados ao grande tamanho populacional (Frankham, 1996). Desta forma, assim como Leone et al. (2017), é possível afirmar que a alta diversidade genética aqui encontrada, indica o grande tamanho populacional da espécie *P. glauca*.

O tubarão azul é provavelmente a espécie de tubarão com maior migração no mundo (Stevens et al., 2010; Leone et al., 2017). Pesquisas utilizando marcadores mitocondriais e nucleares têm se esforçado para encontrar estrutura genética em escala interoceânica (Bailleul et al., 2017; King et al., 2015; Leone et al., 2017; Li et al., 2017; Verissimo et al., 2017) mesmo sendo alto o nível de fluxo gênico, o que dificulta a definição clara de unidades populacionais de tubarão azul (Leone et al. 2017).



A verificação da estrutura genética populacional foi feita por meio da estimativas de  $\Phi_{ST}$  par a par nos pontos amostrais deste estudo, no intuito de corroborar com dados pretéritos que indicam nenhuma estrutura genética significativa em amostras de tubarão azul distantes geograficamente (Ovenden et al., 2009; King et al., 2015; Li et al., 2017; Veríssimo et al., 2017). Obtivemos valores que apontam para a diferenciação genética moderada do tubarão azul em alguns pontos amostrais das regiões do Indo-Pacífico e do Atlântico. Os valores de  $\Phi_{ST}$  em pontos do Atlântico Sul próximos ao Rio Grande do Norte (ATLSRN), São Paulo (ATLSSP) e no Atlântico Norte próximo ao (ATLNEU), quando comparados aos pontos localizados no oceano Índico, apresentaram valores moderados e significativos, que podem indicar um padrão sutil de diferenciação genética.

Ao realizar esta mesma análise separando os 15 pontos amostrais em 3 oceanos, obtivemos valores baixos/moderados estatisticamente significativos (0.045  $P=0.001$ ) entre os oceanos Atlântico e Pacífico. E valores baixos e não significantivos estatisticamente entre Índico x Pacífico e Índico x Atlântico. Os organismos presentes nos Oceanos Índico e Pacífico não possuem tanta variação e efetuam maiores trocas de gene. Verissimo et al. (2017) afirma que no Oceano Pacífico a falta de estrutura pode ser o resultado da combinação de alto potencial de migração e a falta de barreiras efetivas ao fluxo gênico. (Ovenden et al., 2009; Taguchi et al., 2015; Li et al., 2017).

Para testar a hipótese de nula de Panmixia, utilizamos o teste de AMOVA e obtivemos valores moderados e significativos, indicando moderada estruturação genética entre os grupos populacionais do oceano Índico, Pacífico e Atlântico (PAC x INDI x ATL = 0.054  $P= 0.0001$  e PAC + INDI x ATL= 0.060  $P= 0.0001$ ), assim como sugerido na hipótese 1 deste trabalho ( Figura x e tabela 3), foi possível verificar a possível correlação entre as localidades, indicando a conexão entre os oceanos Índico, Pacífico e o Oceano Atlântico e a possível predileção dos tubarões em se manter nesta área. A não

homogeneidade e aleatoriedade nos padrões de movimentos e preferências por locais indica que a espécie parece apresentar preferências que podem influenciar o movimento dos indivíduos e criar variações moderadas entre grupos de indivíduos associados a diferentes localidades. Embora a rede de haplótipos não tenha conseguido evidenciar uma estrutura geográfica clara entre os oceanos aqui estudados, a homogeneidade genética generalizada do tubarão azul em grande escala não é totalmente apoiada neste trabalho.

Estudos anteriores utilizando o teste de AMOVA com a verificação da variação da região de controle do DNA mitocondrial, mostrou uma significativa variância entre os grupos formados pelo tubarão azul do Atlântico Norte coletados em Portugal e Açores e pela África do Sul e em um ponto na costa brasileira (Veríssimo et al., 2017). Leone et al., (2017) rejeita a ausência de estrutura geográfica no Mediterrâneo e no Atlântico Norte.

Assim, a região próxima da África do Sul - ATLSAF, foi considerada nesse estudo como uma região importante para a migração do tubarão azul, responsável por fazer a ligação entre o oceano Atlântico e o Índico-Pacífico, devido as águas quentes da corrente Agulhas e posterior conectividade com a corrente de Benguela. O Sudeste da África é reconhecido como um hotspot de biodiversidade global para tubarões (Lucifora et al., 2011). A relação entre os oceanos Atlântico e Índico tem sido descrita para as espécies *Cetorhinus maximus* (Hoelzel et al., 2006), *Pseudocarcharias kamoharai* (da Silva Ferrette et al., 2015) e *Carcharhinus longimanus* (Camargo et al., 2016).

A análise da  $\Phi_{ST}$  das localidades ATLSAF e ATLNSA (Oceano Atlântico Norte – próximo ao Saara) permite supor que os organismos migrem com maior frequência usando rotas ligadas à fatores oceanográficos, como correntes oceânicas. O que permite inferir sobre a diferenciação genética encontrada na localidade ATLSRN, próxima da região equatorial. Mejuto et al., (2005), considera que movimentos longitudinais de

grande escala são frequentes nesta espécie. No entanto, parece haver movimento limitado através do Equador. Estudos desenvolvidos com transmissores em fêmeas de *P. glauca* indicam a preferência destes animais por regiões de alta produtividade, caracterizadas por frentes térmicas (Queiroz et al., 2012). Ao reconhecer esta premissa, podemos considerar que a distribuição e conectividade da população global pode ser influenciada pelo movimento de grandes correntes oceânicas e pela produtividade primária e secundária que influenciam diretamente a riqueza e a abundância/biomassa da fauna local.

Os resultados aqui apresentados revelaram valores significativos de variância molecular entre o Indo-Pacífico e o Atlântico, possivelmente esta diferença tenha se dado pela inclusão de pontos do Índico leste que até o momento não haviam sido analisados em estudos anteriores. A alta diversidade genética em espécies abundantes é provavelmente devido a uma combinação de fatores demográficos, como tamanho da população local, tempos de geração rápida e altas taxas do fluxo gênico com outras populações (Hague and Routman, 2016). Além disso, caracteres biológicos como o grande tamanho das ninhadas, a baixa taxa de substituição de nucleotídeos comparada a outros vertebrados (Martin et al., 1992), o alto potencial de migração e o alto fluxo gênico entre populações geográficas distantes, pode ter afetado a relação entre diversidade genética e tamanho da população, mascarando o potencial gargalo populacional das últimas três décadas, sem erosão genética. (Leone et al., 2017)

#### *Regiões berçários*

Ao analisar os resultados de juvenis e adultos da espécie *P. glauca*, nosso trabalho identificou uma maior concentração de juvenis em pontos amostrais localizados em regiões mais litorâneas do Noroeste do Atlântico e/ou perto de áreas com montanhas submersas, enquanto os adultos tiveram pontos de amostragem mais frequentes no Índico próximo a Austrália (INDAU N= 17) e no Pacífico Sul (PACS n=29).

Estudos anteriores relataram a presença de juvenis em áreas costeiras a noroeste da Espanha (Mejuto et al., 2005) e apontaram para a existência de viveiros na área do arquipélago dos Açores e área composta por montanhas submersas do Atlântico Norte (Vandeperre et al., 2014). Áreas de viveiro também foram observadas no Pacífico Norte (Nakano, 1994; Bustamante & Bennett, 2013) e no Mar Mediterrâneo como área de acasalamento e berçário (Megalofonou et al., 2009), além da hipótese de que a Convergência Subtropical pode ser uma parte da área de viveiro de tubarões azuis no Atlântico Sudoeste (Montealegre-Quijano & Vooren, 2010).

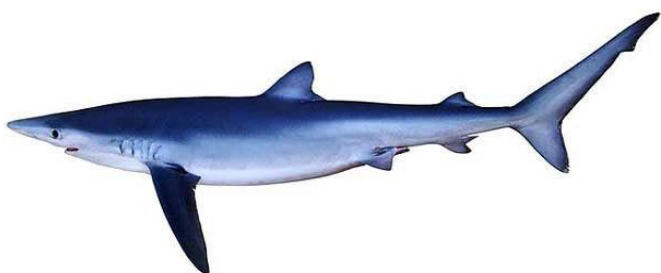
Regiões de convergência oceânica geralmente estão relacionadas a alta produtividade, o que facilitaria a permanência de juvenis na área por um período prolongado devido à disponibilidade de presas. (Nakano and Stevens, 2008). Desta forma, áreas berçários podem desempenhar um papel importante em espécies oceânicas em ambientes oligotróficos (Vandeperre et al., 2014) e fornecer ao tubarão azul juvenil condições de crescimento e recursos alimentares amplos associados à montanhas e ilhas, como também processos oceanográficos (Morato et al., 2008)

#### *Implicações para conservação*

Assim como da Silva et al., (2010), nosso estudo sugere que o "estoque" de tubarão-azul no Atlântico Norte é contínuo com o Oceano Índico e Pacífico e deve ser gerenciado conjuntamente pelas duas organizações regionais de manejo pesqueiro - ICCAT e Comissão do Atum do Oceano Índico - IOTC. Apesar da estruturação genética moderada relatados neste estudo, não descartamos a possibilidade de o tubarão azul pertencer a uma única população global.

Mesmo todos os estudos com uma estrutura populacional do tubarão azul indicarem fluxo intenso em escala global (Leone et al., 2017; Veríssimo et al., 2017),

devemos ter cautela nesta afirmação, pois o tamanho populacional grande pode fornecer robustez a espécie em caso de esgotamento local, como também pode causar um grande impacto caso o esgotamento ocorra em algum local considerado importante para espécie, Bailleul D. et al., (2017) sugere esta cautela com a espécie principalmente na região do mar mediterrâneo. Sobretudo quando se considera que os estoques oceânicos genéticos podem ser mantidos com contribuições de apenas alguns migrantes de longa distância por geração e permitem a existência de várias participações demográficas relevantes para avaliação e manejo de estoques (Palsbøll et al., 2007).

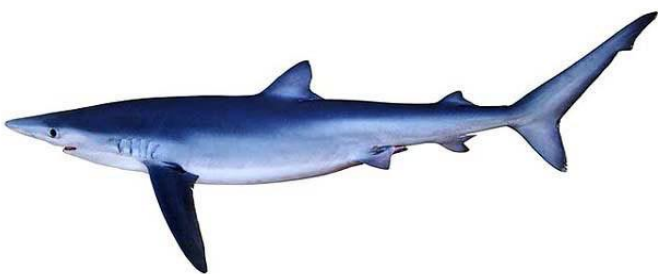


---

CONCLUSÃO

## **Conclusão**

Este trabalho procurou não se limitar apenas ao estudo genético, tentou-se avaliar esta informação à luz de uma perspectiva ecológica para o movimento dos indivíduos que compõem essa população e apoiar o planejamento adequado de medidas de mitigação de impactos, como também fortalecer a hipótese já sugerida por outros autores sobre a existência de áreas berçários, embora sejam necessárias mais pesquisas para esclarecer sua correta localização. Pretendemos contribuir para o mapeamento da genética populacional global nesta espécie, possibilitando o desenvolvimento contínuo de informações. Espera-se que, aumentando a cobertura do sequenciamento para acessar a varredura do genoma de alta densidade, seja possível interpretar padrões de diferenciação genética e facilitar a compreensão de possíveis formas de restrição de fluxo gênico entre bacias.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



- Aires-da-Silva, A, Taylor, I., Punt, A., Gallucci, V., Kohler, N., Briggs, R., Hoey, J. 2005. A framework for estimating movement and fishing mortality rates of the blue shark, *Prionace glauca*, in the North Atlantic from tag-recapture data. Collective Volume of Scientific Papers ICCAT. 58.
- Aires-da-Silva, A.M., Hoey, J.J., Gallucci, V.F., 2008. A historical index of abundance for the blue shark (*Prionace glauca*) in the western North Atlantic. *Fish. Res.* 92, 41–52.
- Anon. 2014. Report of the Inter-Sessional meeting of the sharks species group. Piriapolis, Uruguay, March 10 to 14 2014. International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas. 11 pp + annexes.
- Anon. 2015. Status of the Indian Ocean blue shark (BSH: *Prionace glauca*): Supporting information. IOTC Executive summary for blue shark. Indian Ocean Tuna Commission. 8 pp.
- Bailleul D., Mackenzie Alicia, Sacchi Olivier, Poisson François, Bierne Nicolas, Arnaud-Haond Sophie, 2017. Large-scale genetic panmixia in the blue shark (*Prionace glauca*): A single worldwide population, or a genetic lag-time effect of the “grey zone” of differentiation? *Evol. Appl.* 11, 614–630.
- Barreto, R., Ferretti, F., Flemming, J.M., Amorim, A., Andrade, H., Worm, B., Lessa, R., 2016. Trends in the exploitation of South Atlantic shark populations. *Conserv. Biol.* 30, 792–804.
- Benjamini, Y., Hochberg, Y., 1995. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Methodol.* 57, 289–300.
- Bustamante, C., Bennett, M.B., 2013. Insights into the reproductive biology and fisheries of two commercially exploited species, shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) and

- blue shark (*Prionace glauca*), in the south-east Pacific Ocean. *Fish. Res.* 143, 174–183.
- Camargo, S.M., Coelho, R., Chapman, D., Howey-Jordan, L., Brooks, E.J., Fernando, D., Mendes, N.J., Hazin, F.H.V., Oliveira, C., Santos, M.N., Foresti, F., Mendonça, F.F., 2016. Structure and Genetic Variability of the Oceanic Whitetip Shark, *Carcharhinus longimanus*, Determined Using Mitochondrial DNA. *PLoS One* 11, e0155623.
- Camhi, D. M., Pikitch, E. K., Babcock E. A., 2008. *Sharks of the Open Ocean: Biology, Fisheries and Conservation*
- Campana SE, Joyce W, Manning MJ, 2009. Bycatch and discard mortality in commercially caught blue sharks *Prionace glauca* assessed using archival satellite pop-up tags. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 387, 241–253.
- Carvalho, F.C., Murie, D.J., Hazin, F.H.V., Hazin, H.G., Leite-Mourato, B., Burgess, G.H., 2011. Spatial predictions of blue shark (*Prionace glauca*) catch rate and catch probability of juveniles in the Southwest Atlantic. *ICES J. Mar. Sci.* 68, 890–900.
- Carvalho, Gary & Hauser, Lorenz. 1995. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Rev Fish Biol Fish.* 4. 55-79.
- Clarke, C.R., Karl, S.A., Horn, R.L., Bernard, A.M., Lea, J.S., Hazin, F.H., Prodöhl, P.A., Shivji, M.S., 2015. Global mitochondrial DNA phylogeography and population structure of the silky shark, *Carcharhinus falciformis*. *Mar. Biol.* 162, 945–955.
- Clarke Shelley C., Harley Shelton J., Hoyle Simon D., Rice Joel S., 2012. Population Trends in Pacific Oceanic Sharks and the Utility of Regulations on Shark Finning. *Conserv. Biol.* 27, 197–209.

- Clarke Shelley C., McAllister Murdoch K., Milner-Gulland E. J., Kirkwood G. P., Michielsens Catherine G. J., Agnew David J., Pikitch Ellen K., Nakano Hideki, Shivji Mahmood S., 2006. Global estimates of shark catches using trade records from commercial markets. *Ecol. Lett.* 9, 1115–1126.
- Coelho R., Mejuto J., Domingo A., Yokawa K., Liu K., Cortés E., Romanov E. V., Silva C., Hazin F., Arocha F., Mwilima A. W., Bach P., Ortiz Z.V., Roche W., Lino P.G., García-Cortés B., Ramos-Cartelle A. M., Forselledo R., Mas F., Ohshimo S., Courtney D., Sabarros P. S., Perez B., Wogerbauer C., Tsai W., Carvalho F., Santos M. N., 2017. Distribution patterns and population structure of the blue shark (*Prionace glauca*) in the Atlantic and Indian Oceans. *Fish Fish.* 19, 90–106.
- Compagno, 1984. *Sharks of the World. An annotated and illustrated catalogue of Shark species know to date.*, FAO Fisheries Synopsis.
- Cortés, E., 2000. Life History Patterns and Correlations in Sharks. *Rev. Fish. Sci.* 8, 299–344.
- da Silva, C., Kerwath, S.E., Wilke, C.G., Mejer, M., Lamberth, S.J., 2010. First documented southern transatlantic migration of a blue shark *Prionace glauca* tagged off South Africa. *Afr. J. Mar. Sci.* 32, 639–642.
- da Silva Ferrette, B.L., Mendonça, F.F., Coelho, R., de Oliveira, P.G.V., Hazin, F.H.V., Romanov, E.V., Oliveira, C., Santos, M.N., Foresti, F., 2015. High Connectivity of the Crocodile Shark between the Atlantic and Southwest Indian Oceans: Highlights for Conservation. *PLoS ONE* 10
- DeWoody, J.A., Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *J. Fish Biol.* 56, 461–473.

- Domingues, R.R., Hilsdorf, A.W.S., Gadig, O.B.F., 2018. The importance of considering genetic diversity in shark and ray conservation policies. *Conserv. Genet.* 19, 501–525.
- Dulvy, N.K., Fowler, S.L., Musick, J.A., Cavanagh, R.D., Kyne, P.M., Harrison, L.R., Carlson, J.K., Davidson, L.N., Fordham, S.V., Francis, M.P., Pollock, C.M., Simpfendorfer, C.A., Burgess, G.H., Carpenter, K.E., Compagno, L.J., Ebert, D.A., Gibson, C., Heupel, M.R., Livingstone, S.R., Sanciangco, J.C., Stevens, J.D., Valenti, S., White, W.T., 2014. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife* 3, e00590.
- E. Kohler, N., A. Turner, P., 2009. Stock Structure of the Blue Shark (*Prionace Glauca*) in the North Atlantic Ocean Based on Tagging Data.
- Ebert, D., Fowler, S., Compagno, L., 2013. *Sharks of the World: A Fully Illustrated Guide*.
- Excoffier, L., Lischer, H.E.L., 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 10, 564–567.
- 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, 479–491.
- Fowler, S., Cavanagh, R.D., Camhi, M., Burgess, G., Cailliet, G., Fordham, S.V., Simpfendorfer, C., Musick, J., 2005. *Sharks, Rays and Chimaeras: The Status of the Chondrichthyan Fishes*.
- Frankham, R., 1996. Relationship of Genetic Variation to Population Size in Wildlife. *Conserv. Biol.* 10, 1500–1508.

- Garg, R.K., Mishra, V., 2018. Molecular insights into the genetic and haplotype diversity among four populations of *Catla catla* from Madhya Pradesh revealed through mtDNA cyto b gene sequences. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 16, 169–174.
- Hague, M.T.J., Routman, E.J., 2016. Does population size affect genetic diversity? A test with sympatric lizard species. *Heredity* 116, 92–98.
- Heist E.J. “Genetics: stock identification.”, in: Musick J.A., Bonfil R., Elasmobranch fisheries management techniques. Singapore: APEC Fisheries Working Group, IUCN; 2004.
- Henderson, A., Flannery, K., Dunne, J., 2005. Observations on the biology and ecology of the blue shark in the North-east Atlantic. *Journal of Fish Biology*, 58: 1347-1358.
- Hoelzel, A.R., Shivji, M.S., Magnussen, J., Francis, M.P., 2006. Low worldwide genetic diversity in the basking shark (*Cetorhinus maximus*). *Biol. Lett.* 2, 639–642.
- Manning, M., 2005. Age and growth of blue shark (*Prionace glauca*) from the New Zealand Exclusive Economic Zone.
- James, M.K., Armsworth, P.R., Mason, L.B., Bode, L., 2002. The structure of reef fish metapopulations: modelling larval dispersal and retention patterns. *Proc. Biol. Sci.* 269, 2079–2086.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., Drummond, A., 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28, 1647–1649.

- King, J.R., Wetklo, M., Supernault, J., Taguchi, M., Yokawa, K., Sosa-Nishizaki, O., Withler, R.E., 2015. Genetic analysis of stock structure of blue shark (*Prionace glauca*) in the north Pacific ocean. *Fish. Res.* 172, 181–189.
- Kohler, N.E., Turner, P.A., 2001. Shark Tagging: A Review Of Conventional Methods and Studies. *Environ. Biol. Fishes* 60, 191–224.
- Kohler, N.E., Turner, P.A., Hoey, J.J., Natanson, L.J., Briggs, R., 2002. Tag and recapture data for three pelagic shark species: Blue Shark (*Prionace glauca*), Shortfin Mako (*Isurus xyrinchus*), and Porbeagle (*Lamna nasus*) in the North Atlantic Ocean. *Collective Volume of Scientific Papers*, 54, 1231–1260.
- Leigh, J.W., Bryant, D., 2015. popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol. Evol.* 6, 1110–1116.
- Leone, A., Urso, I., Damalas, D., Martinsohn, J., Zanzi, A., Mariani, S., Sperone, E., Micarelli, P., Garibaldi, F., Megalofonou, P., Bargelloni, L., Franch, R., Macias, D., Prodöhl, P., Fitzpatrick, S., Stagioni, M., Tinti, F., Cariani, A., 2017. Genetic differentiation and phylogeography of Mediterranean-North Eastern Atlantic blue shark (*Prionace glauca*, L. 1758) using mitochondrial DNA: panmixia or complex stock structure? *PeerJ* 5, e4112.
- Li, W., Dai, X., Zhu, J., Tian, S., He, S., Wu, F., 2017. Genetic differentiation in blue shark, *Prionace glauca*, from the central Pacific Ocean, as inferred by mitochondrial cytochrome b region. *Mitochondrial DNA Part A* 28, 575–578.
- Lindenmayer, D.B., Lacy, R.C., 1995. A simulation study of the impacts of population subdivision on the mountain brushtail possum *Trichosurus caninus* Ogilby (Phalangeridae: Marsupialia) in south-eastern Australia. I. Demographic stability and population persistence. *Biol. Conserv., Applications of Population Viability Analysis to Biodiversity Conservation* 73, 119–129.

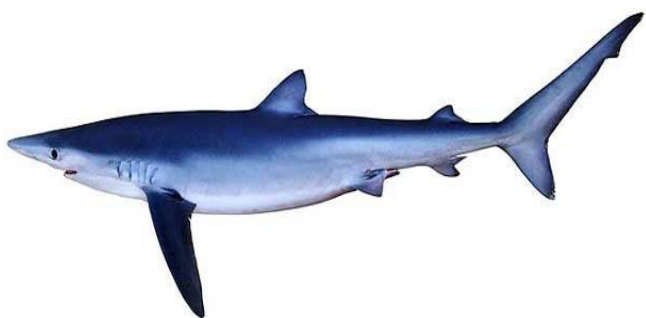
- Lucifora, L.O., García, V.B., Worm, B., 2011. Global Diversity Hotspots and Conservation Priorities for Sharks. PLOS ONE 6, e19356.
- Martin, A.P., Naylor, G.J., Palumbi, S.R., 1992. Rates of mitochondrial DNA evolution in sharks are slow compared with mammals. Nature 357, 153–155.
- Megalofonou, P., Damalas, D., Metrio, G. de, 2009. Biological characteristics of blue shark, *Prionace glauca*, in the Mediterranean Sea. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 89, 1233–1242.
- Mejuto J, Garcia-Cortes B, 2006. Reproductive and distribution parameters of the blue shark *Prionace glauca*, on the basis of on-board observations at sea in the Atlantic, Indian and Pacific Oceans Collective Volume of Scientific Papers ICCAT, 58, 951–973.
- Mendonça, F.F., Oliveira, C., Gadig, O.B.F., Foresti, F., 2009. Populations analysis of the Brazilian Sharpnose Shark *Rhizoprionodon lalandii* (Chondrichthyes: Carcharhinidae) on the São Paulo coast, Southern Brazil: inferences from mt DNA sequences. Neotropical Ichthyol. 7, 213–216.
- Montealegre-Quijano, S., Vooren, C.M., 2010. Distribution and abundance of the life stages of the blue shark *Prionace glauca* in the Southwest Atlantic. Fish. Res. 101, 168–179.
- Morato, T., Varkey, D., Damaso, C., Machete, M., Santos, M., Prieto, R., Pitcher, T., Santos, R., 2008. Evidence of a seamount effect on aggregating visitors. Mar. Ecol. Prog. Ser. 357, 23–32.
- Nakano, H., 1994. Age, reproduction and migration of blue shark in the North Pacific Ocean. Bull. Natl. Res. Inst. Far Seas Fish. 31, 141–256.
- Nakano, H., Stevens, J.D., 2008. The Biology and Ecology of the Blue Shark, *Prionace Glauca*, in: Sharks of the Open Ocean. Blackwell Publishing Ltd., pp. 140–151.

- O’Leary, S.J., Feldheim, K.A., Fields, A.T., Natanson, L.J., Wintner, S., Hussey, N., Shivji, M.S., Chapman, D.D., 2015. Genetic Diversity of White Sharks, *Carcharodon carcharias*, in the Northwest Atlantic and Southern Africa. *J. Hered.* 106, 258–265.
- Oliver, S., Braccini, M., Newman, S.J., Harvey, E.S., 2015. Global patterns in the bycatch of sharks and rays. *Mar. Policy* 54, 86–97.
- Ovenden, J.R., 2013. Crinkles in connectivity: combining genetics and other types of biological data to estimate movement and interbreeding between populations. *Mar. Freshw. Res.* 64, 201–207.
- Ovenden, J.R., Kashiwagi, T., Broderick, D., Giles, J., Salini, J., 2009. The extent of population genetic subdivision differs among four co-distributed shark species in the Indo-Australian archipelago. *BMC Evol. Biol.* 9, 40.
- Palsbøll, P.J., Bérubé, M., Allendorf, F.W., 2007. Identification of management units using population genetic data. *Trends Ecol. Evol.* 22, 11–16.
- Pazmiño, D.A., Maes, G.E., Green, M.E., Simpfendorfer, C.A., Hoyos-Padilla, M., Duffy, C.A.J., Meyer, C.G., Kerwath, S.E., Salinas-de-León, P., van Herwerden, L., 2017. Data from: Strong trans-Pacific break and local conservation units in the Galapagos shark (*Carcharhinus galapagensis*) revealed by genome-wide cytonuclear markers.
- Posada, D., 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25, 1253–1256.
- Preti, A., Soykan, C.U., Dewar, H., Wells, R.J.D., Spear, N., Kohin, S., 2012. Comparative feeding ecology of shortfin mako, blue and thresher sharks in the California Current. *Environ. Biol. Fishes* 95, 127–146.



- Queiroz, N., Humphries, N.E., Mucientes, G., Hammerschlag, N., Lima, F.P., Scales, K.L., Miller, P.I., Sousa, L.L., Seabra, R., Sims, D.W., 2016. Ocean-wide tracking of pelagic sharks reveals extent of overlap with longline fishing hotspots. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, 1582–1587.
- Queiroz, N., Humphries, N.E., Noble, L.R., Santos, A.M., Sims, D.W., 2012. Spatial Dynamics and Expanded Vertical Niche of Blue Sharks in Oceanographic Fronts Reveal Habitat Targets for Conservation. *PLOS ONE* 7, e32374.
- Sampaio, Í., 2013. Genetic Diversity and Population Structure of the Cosmopolitan Blue Shark *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) in the Atlantic Ocean.
- Silva, C. da, Kerwath, S.E., Wilke, C.G., Mejer, M., Lamberth, S.J., 2010. First documented southern transatlantic migration of a blue shark *Prionace glauca* tagged off South Africa. *Afr. J. Mar. Sci.* 32, 639–642.
- Stevens, J.D., Bradford, R.W., West, G.J., 2010. Satellite tagging of blue sharks (*Prionace glauca*) and other pelagic sharks off eastern Australia: depth behaviour, temperature experience and movements. *Mar. Biol.* 157, 575–591.
- Taguchi, M., King, J., Wetklo, M., E. Withler, R., Yokawa, K., 2015. Population genetic structure and demographic history of Pacific blue sharks (*Prionace glauca*) inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mar. Freshw. Res.* 66, 267.
- Templeton AR (2011) *Genética de Populações e Teoria Microevolutiva*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 705 p
- Vandeperre, F., Aires-da-Silva, A., Fontes, J., Santos, M., Serrão Santos, R., Afonso, P., 2014. Movements of Blue Sharks (*Prionace glauca*) across Their Life History. *PLoS ONE* 9, e103538.
- Veríssimo, A., Sampaio, Í., McDowell, J.R., Alexandrino, P., Mucientes, G., Queiroz, N., da Silva, C., Jones, C.S., Noble, L.R., 2017. World without borders—genetic

- population structure of a highly migratory marine predator, the blue shark (*Prionace glauca*). *Ecol. Evol.* 7, 4768–4781.
- Waples, R., Beechie, T., Pess, G., 2009. Evolutionary History, Habitat Disturbance Regimes, and Anthropogenic Changes: What Do These Mean for Resilience of Pacific Salmon Populations? *Ecol. Soc.* 14.
- Waples, R.S., Gaggiotti, O., 2006. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Mol. Ecol.* 15, 1419–1439.
- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., Hebert, P.D., 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 360, 1847–1857.
- Li W., Dai X., Zhu J., Tian S., He S., Wu F. 2017 Genetic differentiation in blue shark, *Prionace glauca*, from the central Pacific Ocean, as inferred by mitochondrial cytochrome b region, *Mitochondrial DNA Part A*, 28:4, 575-578
- Wright, S., 1943. Isolation by Distance. *Genetics* 28, 114–138.





Hap27	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Hap28	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap29	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	2	-	-	-
Hap30	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Hap31	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Hap32	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Hap33	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Hap34	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap35	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Hap37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
Hap38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	3	-	-
Hap39	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Hap40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Hap41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-
Hap42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Hap43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-

---