

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 24/01/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas
(Zoologia)

Departamento de Biologia Estrutural e Funcional

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

O papel das barreiras geográficas na estruturação genética de raias da espécie *Hypanus guttatus* (Bloch & Schneider, 1801) (Chondrichthyes: Dasyatidae) na costa do Brasil analisado com o uso de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*)

Pablo Henrique de Oliveira

Botucatu – SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Departamento de Biologia Estrutural e Funcional

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

O papel das barreiras geográficas na estruturação genética de raias da espécie *Hypanus guttatus* (Bloch & Schneider, 1801) (Chondrichthyes: Dasyatidae) na costa do Brasil analisado com o uso de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*)

Aluno: Pablo Henrique de Oliveira

Orientador: Dr. Fausto Foresti

Coorientadora: Dra. Flávia de Figueiredo Petean

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biotecnologia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia).

Botucatu - SP

2025

O48p

Oliveira, Pablo Henrique de

O papel das barreiras geográficas na estruturação genética de raias da espécie *Hypanus guttatus* (Bloch & Schneider, 1801) (Chondrichthyes: Dasyatidae) na costa do Brasil analisado com o uso de SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) / Pablo Henrique de Oliveira. -- Botucatu, 2025

63 p. : tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Fausto Foresti

Coorientadora: Flávia de Figueiredo Petean

~~1. Elasmobranchii. 2. Hypanus. 3. evolução. 4. marcador molecular.~~

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).
5. região costeira. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE PABLO HENRIQUE DE OLIVEIRA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 24 dias do mês de julho do ano de 2025, às 14h, na Sala da Pós-Graduação - Instituto de Biociências de Botucatu, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de PABLO HENRIQUE DE OLIVEIRA, intitulada “**O papel das barreiras geográficas na estruturação genética de raias da espécie *Hypanus guttatus* (Bloch & Schneider 1801) (Chondrichthyes: Dasyatidae) na costa do Brasil analisado com o uso de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*)**”. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof.Dr. FAUSTO FORESTI (Orientador) - Participação Presencial), do Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências de Botucatu Unesp; Prof. Dr. FREDERICO HENNING (Participação Virtual), do Departamento de Genética / Instituto de Biologia - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); Profa. Dra. ROSANGELA PAULA TEIXEIRA LESSA (Participação Virtual), do Departamento de Pesca e Aquicultura / Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); Prof. Dr. CLAUDIO DE OLIVEIRA (Participação Presencial), do Departamento de Biologia Funcional e Estrutural / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp e Doutor DIEGO PERES ALONSO (Participação Presencial), do IBTEC / Instituto de Biociências UNESP - Botucatu. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final **aprovado**. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo Presidente da Comissão Examinadora.

Prof.Dr. FAUSTO FORESTI

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: O papel das barreiras geográficas na estruturação genética de raias da espécie *Hypanus guttatus* (Bloch & Schneider 1801) (Chondrichthyes: Dasyatidae) na costa do Brasil analisado com o uso de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*).

AUTOR: PABLO HENRIQUE DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: FAUSTO FORESTI

COORIENTADORA: FLÁVIA DE FIGUEIREDO PETEAN

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia), pela Comissão Examinadora:

Prof.Dr. FAUSTO FORESTI (Participação Presencial)
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências de Botucatu Unesp

Prof. Dr. FREDERICO HENNING (Participação Virtual)
Departamento de Genética / Instituto de Biologia - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Profa. Dra. ROSANGELA PAULA TEIXEIRA LESSA (Participação Virtual)
Departamento de Pesca e Aquicultura / Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Prof. Dr. CLAUDIO DE OLIVEIRA (Participação Presencial)
Departamento de Biologia Funcional e Estrutural / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp

Doutor DIEGO PERES ALONSO (Participação Presencial)
IBTEC / Instituto de Biociências UNESP - Botucatu

Botucatu, 24 de julho de 2025

Willian Gabriel Miranda
Assistente Administrativo II da Seção Técnica de Pós-Graduação
Instituto de Biociências de Botucatu

Dedico essa tese aos meus pais, meu irmão, à música, e toda minha família e amigos. Obrigado por todo amor e apoio.

AGRADECIMENTOS

Até o dia de hoje, considero que o período do doutorado foi o mais desafiador de toda minha vida. Além de todos os desafios que essa etapa acadêmica exige, em diversos momentos enfrentei batalhas pessoais de todos os tipos. Não foi só uma vez que pensei em desistir (essa palavra serve para vários aspectos da minha vida). Entretanto, eu aprendi a cair, e aprendi a me reerguer, cada vez mais forte, cada vez com mais inteligência, e a cada queda aprendi um pouco mais sobre meu valor. Mas acima de tudo, nunca esqueci quem esteve ao meu lado nos momentos em que eu não tinha mais forças para caminhar sozinho.

Agradeço aos meus pais, Luciano e Marcia, pela vida e por sempre terem feito o possível e o impossível para me dar o bem mais precioso que existe: o conhecimento. Vocês foram meu alicerce para tudo, e eu espero que eu possa continuar retribuindo todo esse amor por vocês, dia após dia. E se um dia eu for metade dos pais que vocês foram pra mim, eu serei eternamente grato. Ao meu irmão, Patrick, por toda a parceria, toda as conversas, todos os rolês juntos, e por todo apoio e amor que você me deu. Você é uma das pessoas que mais tenho orgulho na vida. Aos meus tios, meus avós e meus amigos de vida, faculdade, laboratório, música, rolês, todos vocês são fundamentais na minha vida. À minha ex-companheira, Ana Cláudia Batista Mendes, por todo amor, carinho e companheirismo em todo o período que estivemos juntos, e por ter enfrentado junto comigo os meses que estive na Espanha, separados por um oceano inteiro, e com a saudade apertando o tempo todo. E à todos os bichinhos de estimação que estiveram e ainda estão presentes na minha vida, hoje representados pela nossa cachorrinha Babi, e pela nossa calopsita Jubileu. Sem vocês eu já teria enlouquecido nesse mundo. Obrigado por tudo, amo vocês!

Quero agradecer à todas as bandas que fiz parte durante esse período, as quais me permitiram me expressar da forma mais autêntica possível, através da música. Por ordem cronológica à partir do momento que entrei no doutorado, agradeço ao Dona Peu, Anacrônico, Ramonzera, Dubrô e Harvey. Todos vocês viraram meus irmãos de palco e de vida, e me permitiram viver e estar vivendo muitos sonhos que eu tinha quando adolescente. Vocês e nossa música me salvam e dão sentido e cor para minha vida.

Encarecidamente, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela bolsa de doutorado e pela bolsa de doutorado sanduíche concedida pelo programa CAPES PrInt, que me permitiu desenvolver parte do meu trabalho na Universidade de Santiago de Compostela - Espanha. Todo esse investimento fez elevar o nível da ciência produzida no Brasil. Agradeço aos meus supervisores durante meus meses na Espanha, Manuel Vera Rodriguez, Paulino Martinez Portela e Adrian Casanova Chiclana, por todo o aprendizado acadêmico e pessoal que tive com vocês.

Ao meu orientador Fausto Foresti, à minha coorientadora, Vanessa Paes da Cruz, ambos do Instituto de Biociências de Botucatu – IBB/UNESP, e à minha outra coorientadora, Flávia de Figueiredo Petean, pelo suporte dado a todo momento, por todo aprendizado, ensinamentos, vivências, congressos, e por me ajudarem a realizar esse trabalho tão lindo. Vocês foram e são essenciais.

Aos meus amigos do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, que se tornaram amigos de vida, muito obrigado a cada um de vocês, especialmente ao nosso grupinho da bancada 4, Giovana Ribeiro, Aisni Mayumi e Beatriz Boza, por toda amizade, troca de aprendizados, risadas e principalmente por sempre rirem das minhas piadas, afinal, elas são ótimas e não tem como não rir. Além deles, sou grato a cada um de vocês que me ajudaram em diversos momentos, e aqui deixo um espaço de agradecimento ao Lucas Lasmar, ou mais conhecido como Canarinho, por ter me acolhido em um momento muito difícil e por toda amizade.

Cada um que passou pela minha jornada tem um lugar no meu coração. São muitas pessoas que deixaram um pouquinho delas em mim, mas não posso finalizar essa sessão sem agradecer especialmente à minha querida amiga desde a graduação, e hoje uma pessoa que considero uma irmã, Giovana da Silva Ribeiro, que dividiu casa comigo nos nossos meses na Espanha. Vivemos muitas coisas sensacionais em todos esses anos de amizade, mas nos últimos anos, você foi o maior ombro que me amparou nos momentos mais difíceis da minha vida. Eu sempre serei eternamente grato por tudo, Xofana. Amo você! Lugoucura, Tim Tim!

Finalizo esses agradecimentos com um trecho de uma música chamada “Vitória”, da banda Dead Fish, que eu gosto muito. Essa letra diz muito sobre tudo que passei em todo esse período, principalmente nos últimos meses, e que pode nos amparar em muitos aspectos da vida:

“...permanecer de pé, de pé até o fim
não podem mais te derrubar...”

Do fundo do meu coração, meu eterno agradecimento à todos vocês!

RESUMO

A estruturação genética de espécies marinhas costeiras resulta da interação complexa entre fatores oceanográficos, ecológicos e históricos. Na costa brasileira, barreiras ambientais como a Pluma Amazonas-Orinoco (PAO), o complexo Vitória-Trindade, ressurgências e sistemas de correntes marinhas são reconhecidas como forças potencialmente estruturantes da diversidade genética. *Hypanus guttatus* é uma espécie de raia amplamente distribuída no Atlântico Ocidental, que apresenta duas linhagens genéticas na região da PAO, mas sua estrutura populacional ao longo da costa brasileira ainda não havia sido profundamente investigada com métodos genômicos e ecológicos integrados. Portanto, este estudo teve como objetivo investigar a estrutura genômica populacional de *H. guttatus* da foz do Rio Amazonas até a ocorrência mais ao sul da espécie e identificar áreas de habitat inadequado ao longo da costa brasileira que podem servir como barreiras geográficas ou que restringem a distribuição da espécie. Neste estudo, combinamos análises de modelagem de nicho ecológico (*Ecological Niche Modelling* - ENM) e dados genômicos obtidos via *double-digest Restriction Site-Associated DNA* (ddRADseq) de 33 indivíduos de quatro ecoregiões marinhas brasileiras (Amazonia = 9, Northeastern Brazil = 7, Eastern Brazil = 7 e Southeastern Brazil = 10) usando marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP). A biblioteca genômica foi construída usando a metodologia ddRAD e sequenciada pela plataforma Illumina. As leituras *paired-end* foram filtradas por qualidade e foram alinhadas com o genoma de referência de *Hypanus sabinus* (acesso ao GenBank: GCA_030144855.1) usando Bowtie 1.3.1. Após a genotipagem pelo Stacks 2.65 e as etapas de filtragem de qualidade dos SNPs (*i.e.* cobertura), 5,624 SNPs foram retidos para análises subsequentes. Utilizamos vários pacotes do R no RStudio (*i.e.* DiveRsity 1.9.90, Genepop 1.2.2, StaMPP 1.6.3) para analisar a diversidade genética e a diferenciação populacional. Para avaliar a estrutura populacional, realizamos uma análise discriminante de componentes principais (DAPC) com o pacote adegenet, obtendo as probabilidades de pertencimento de cada indivíduo aos grupos genéticos, que foram visualizadas por gráficos de composição e mapas de calor. A modelagem indicou uma leve redução da adequabilidade do habitat próxima à foz do Rio Amazonas, mas constante ao longo do restante da costa. Apesar disso, os dados genéticos revelaram uma estruturação populacional clara, com quatro unidades evolutivas distintas (ESUs) e valores de diferenciação populacional (F_{ST}) significativos entre elas (0,078 a 0,382), rejeitando a hipótese de panmixia. A integração da modelagem de nicho ecológico (ENM) com dados genômicos (ddRADseq) de *H. guttatus* revelou isolamento histórico significativo e fluxo gênico limitado entre as populações. Embora a ENM tenha mostrado adequada continuidade de habitat, os dados genéticos indicam forte estruturação populacional, principalmente entre as regiões da Amazônia e do Sudeste brasileiro. Esse padrão é possivelmente explicado por processos históricos, como o isolamento em refúgios costeiros durante o Último Máximo Glacial, e

por barreiras oceanográficas contemporâneas, incluindo correntes marítimas e ressurgências, que limitam a dispersão da espécie. A análise demográfica aponta que a população do Nordeste brasileiro apresenta baixa diversidade genética, alta endogamia e reduzido tamanho efetivo populacional, sinalizando vulnerabilidade, enquanto a população da Amazônia demonstra estabilidade genética e demográfica. O perfil ecológico de *H. guttatus*, com forte preferência por habitats estuarinos e intertidais, comportamento alimentar generalista e alta fidelidade ao local, aliado a fatores físicos e oceanográficos, possivelmente contribui para a manutenção da estruturação genética observada. Esses resultados têm implicações diretas para a conservação, indicando a necessidade de reconhecer e proteger as unidades evolutivas distintas para preservar a diversidade genética e a funcionalidade ecológica da espécie, especialmente diante da intensa pesca artesanal e das mudanças ambientais nos ecossistemas costeiros brasileiros.

Palavras chave: Elasmobranchii, *Hypanus*, evolução, marcador molecular, refúgio costeiro.

ABSTRACT

The genetic structuring of coastal marine species results from the complex interaction of oceanographic, ecological, and historical factors. Along the Brazilian coast, environmental barriers such as the Amazon-Orinoco Plume (PAO), the Vitória-Trindade seamount chain, upwelling systems, and marine currents are recognized as potential drivers of genetic diversity. *Hypanus guttatus* is a widely distributed stingray species in the Western Atlantic, which shows two genetic lineages in the PAO region. However, its population structure along the Brazilian coast had not yet been thoroughly investigated using integrated genomic and ecological methods. Therefore, this study aimed to investigate the genomic population structure of *H. guttatus* from the Amazon River mouth to the southernmost limit of its distribution and to identify areas of unsuitable habitat that may act as geographic or ecological barriers to its range. We combined ecological niche modeling (ENM) and genomic data obtained via *double-digest Restriction Site-Associated DNA sequencing* (ddRADseq) for 33 individuals from four Brazilian marine ecoregions (Amazonia = 9, Northeastern Brazil = 7, Eastern Brazil = 7, and Southeastern Brazil = 10), using single nucleotide polymorphism (SNP) markers. The genomic library was constructed using the ddRAD protocol and sequenced on the Illumina platform. Paired-end reads were quality filtered and aligned to the *H. sabinus* reference genome (GenBank accession: GCA_030144855.1) using Bowtie 1.3.1. After genotyping with Stacks 2.65 and filtering steps (e.g., coverage), 5,624 high-quality SNPs were retained for downstream analyses. We used several R packages in RStudio (e.g., DiveRsity 1.9.90, Genepop 1.2.2, StaMPP 1.6.3) to assess genetic diversity and population differentiation. To investigate population structure, we performed a Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) using the adegenet package, obtaining individual assignment probabilities, which were visualized using composition plots and heatmaps. ENM results revealed a slight reduction in habitat suitability near the Amazon River outflow, but consistently high suitability along the remainder of the coast. Nevertheless, genetic data revealed clear population structuring, with four distinct Evolutionarily Significant Units (ESUs) and significant population differentiation ($F_{ST} = 0.078$ to 0.382), rejecting the hypothesis of panmixia. The integration of ENM and genomic data revealed evidence of significant historical isolation and limited gene flow among *H. guttatus* populations. Although ENM suggested continuous suitable habitat, genetic data indicate strong structure, especially between the Amazonia and Southeastern Brazil regions. This pattern may be explained by historical processes such as coastal isolation during the Last Glacial Maximum, and by contemporary oceanographic barriers including marine currents and upwelling systems, which limit dispersal. Demographic analyses show that the Northeastern Brazil population has low genetic diversity, high inbreeding, and a critically reduced effective population size, indicating vulnerability. In contrast, the Amazonia population appears genetically and demographically stable. The ecological profile of

H. guttatus, with strong preferences for estuarine and intertidal habitats, generalist feeding behavior, and high site fidelity, combined with physical and oceanographic factors, possibly contributes to the maintenance of the observed genetic structuring. These findings have direct conservation implications, highlighting the need to recognize and protect distinct evolutionary units to preserve the species' genetic diversity and ecological function, especially in light of intense artisanal fishing pressure and ongoing environmental changes in Brazilian coastal ecosystems.

Keywords: Elasmobranchii, *Hypanus*, evolution, molecular marker, coastal refugium.

1. Introdução Geral

Compreender os processos que determinam a diferenciação genética de espécies marinhas é um dos principais desafios da biologia evolutiva, especialmente em ambientes costeiros e oceânicos onde não há barreiras físicas evidentes entre populações (Pampoulie *et al.*, 2004; Johannesson *et al.*, 2020). Nestes ambientes, estruturas oceanográficas como correntes, gradientes de temperatura, salinidade, estuários e aspectos geomorfológicos do litoral funcionam como barreiras ecológicas ou filtros seletivos, influenciando a dispersão e a conectividade das espécies (Da Silva *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2022; Legrand *et al.*, 2024).

A costa brasileira apresenta exemplos clássicos de tais barreiras. A Pluma Amazonas-Orinoco (PAO), formada pela descarga massiva de água doce e sedimentos dos rios Amazonas e Orinoco, modifica significativamente as propriedades físicas da água e funciona como divisória entre faunas marinhas do norte do Brasil e do Caribe (Rocha, 2003; Floeter *et al.*, 2008). Embora parcialmente permeável às espécies mais tolerantes, essa pluma é uma importante força estruturante, gerando padrões de endemismo e divergência genética (Rodrigues Filho *et al.*, 2020). Outras regiões, como a foz do rio São Francisco e a ecorregião Sudeste, também funcionam como barreiras potenciais, devido à combinação de influências fluviais, ressurgências e topografia submarina (Pinheiro *et al.*, 2018; Costa *et al.*, 2022).

Além das barreiras costeiras, as correntes oceânicas também possuem papel fundamental na dinâmica populacional dos componentes biológicos, uma vez que apresentam diferentes características físico-químicas que podem selecionar espécies com diferentes capacidades de adaptação a essas características, constituindo-se como fatores de diferenciação e de especiação. No Brasil, segundo Silveira *et al.* (2000), “a Corrente do Brasil (CB) é a corrente marinha de contorno oeste, associada ao Giro Subtropical do Atlântico Sul. Origina-se na região onde o ramo mais ao sul da Corrente Sul Equatorial (CSE) se bifurca ao sul (10°S), formando também a Corrente do Norte do Brasil (CNB). A CB então flui para sul, bordejando o continente sul-americano até a região da Convergência Subtropical (33-38°S), onde conflui com a Corrente das Malvinas e se separa da costa”. Além desse sistema, temos ainda no Brasil a influência da Corrente das Malvinas ou Falklands, que é uma corrente oceânica fria proveniente da região das Ilhas Malvinas, que banha toda a costa da Argentina, Uruguai e Sudeste e Sul do Brasil (Remeslo *et al.*, 2004). Embora ainda falem estudos conclusivos, é extensivamente reconhecido que existe uma fauna marinha endêmica da região subtropical do Atlântico Ocidental conhecida como Província Argentina, vivendo na região de influência da Corrente das Malvinas (Caires, 2014).

A ecorregião Sudeste caracteriza-se por águas com salinidade reduzida, resultante da interação entre a Corrente do Brasil e as águas costeiras continentais, somada à ressurgência da Água Central do Atlântico Sul — que contribui com temperaturas e salinidades mais baixas

(Rossi-Wongtshchowski *et al.*, 2006). Uma característica importante desta ecorregião é o complexo de Vitória-Trindade com a cadeia de montes submarinos e os recifes de corais de Abrolhos (Martins & Coutinho, 1981). Estes elementos formam uma barreira topográfica que modifica a direção e velocidade da Corrente do Brasil e contribui para uma série de fenômenos físicos, como os vórtices Vitória e São Tomé, bem como de ressurgência, como ocorre na região de Cabo Frio (Valentin, 2001), o que torna a hidrografia da região extremamente complexa (Castro & Miranda, 1998). Essas barreiras físicas e dinâmicas criam cenários ecológicos diversos ao longo da costa brasileira, com implicações diretas na forma como a diversidade genética se organiza entre as populações marinhas (Rocha, 2003; Floeter *et al.*, 2008).

3. Referências

- Allendorf F, Hohenlohe P, Luikart G (2010). Genomics and the future of conservation genetics. *Nature reviews genetics*, 697-709.
- Allendorf, F. W., Luikart, G. H., & Aitken, S. N. (2012). *Conservation and the genetics of populations*. John Wiley & Sons.
- Alvarado-Serrano, D. F., & Knowles, L. L. (2014). Ecological niche models in phylogeographic studies: applications, advances and precautions. *Molecular ecology resources*, 14(2), 233-248.
- Andrews KR, Good JM, Miller MR, Luikart G, Hohenlohe PA (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17(2), 81.
- Avise, J. C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard university press.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., ... & Saunders, N. C. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 489-522.
- Baird NA, Etter PD, Atwood TS, Currey MC, Shiver AL, Lewis ZA & Johnson EA (2008). Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PloS one*, 3(10), e3376.
- Batley J & Hayes PK (2003). Development of high throughput single nucleotide polymorphism genotyping for the analysis of *Nodularia* (Cyanobacteria) Population Genetics 1. *Journal of phycology*, 248-252.
- Benestan, L., Quinn, B. K., Maaroufi, H., Laporte, M., Clark, F. K., Greenwood, S. J., ... & Bernatchez, L. (2016). Seascape genomics provides evidence for thermal adaptation and current-mediated population structure in American lobster (*Homarus americanus*). *Molecular ecology*, 25(20), 5073-5092.
- Bernardo, C., de Lima Adachi, A. M. C., da Cruz, V. P., Foresti, F., Loose, R. H., & Bornatowski, H. (2020). The label “Cação” is a shark or a ray and can be a threatened species! Elasmobranch trade in Southern Brazil unveiled by DNA barcoding. *Marine Policy*, 116, 103920.
- Bohling J (2020). Evaluating the effect of reference genome divergence on the analysis of empirical RADseq datasets. *Ecology and evolution*, 10(14), 7585-7601.
- Borba GC, Costa FRC, Espirito-Santo HMV, Leitão, RP, Dias MS & Zuanon J (2020). Temporal changes in rainfall affect taxonomic and functional composition of stream fish assemblages in central Amazonia. *Freshwater Biology*, Version of Record online, 28 December 2020. <https://doi.org/10.1111/fwb.13675>
- Bornatowski H & Abilhoa V (2012). Tubarões e raias capturados pela pesca artesanal no Paraná: guia de identificação. Hori Consultoria Ambiental, Curitiba.
- Bornatowski, H., Braga, R. R., Kalinowski, C., & Vitule, J. R. S. (2015). “Buying a pig in a poke” the problem of elasmobranch meat consumption in Southern Brazil. *Ethnobiology Letters*, 6(1), 196-202.
- Borsa P (2017). *Neotrygon vali*, a new species of the blue-spotted maskray complex (Myliobatoidei: Dasyatidae). *bioRxiv*, 106682.
- Boeseman, M. (1948). On new, little known, or otherwise interesting species of Surinam fishes. *Proceedings of the Section of Sciences, Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, 51(3), 363-371.
- Broughton, R. E., & Reneau, P. C. (2006). Spatial covariation of mutation and nonsynonymous substitution rates in vertebrate mitochondrial genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 23(8), 1516-1524.
- Caires RA (2014). Biogeografia dos peixes marinhos do Atlântico Sul Ocidental: padrões e processos. *Arquivos de Zoologia*, 45, 5-24.

- Carlson J et al. (2020). *Hypanus guttatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T44592A104125629. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T44592A104125629.en>.
- Carroll J (2011). *Reading human nature: Literary Darwinism in theory and practice*. Suny Press.
- Carstens, B. C., Pelletier, T. A., Reid, N. M., & Satler, J. D. (2013). How to fail at species delimitation. *Molecular ecology*, 22(17), 4369-4383.
- Carvalho Neta, R. N. F., & de Almeida, Z. D. S. (2002). Aspectos alimentares de *Dasyatis guttata* (ELASMOBRANCHII, DASYATIDAE) na costa maranhense.
- Castro Filho, B. M. D., & Miranda, L. B. D. (1998). Physical oceanography of the western atlantic continental shelf located between 4 graus N and 34 graus S: Coastal segment (4, W). *The Sea*, vol. 11.
- Cerca J, Maurstad MF, Rochette NC, Rivera-Colón AG, Rayamajhi N, Catchen JM & Struck TH (2021). Removing the bad apples: A simple bioinformatic method to improve loci-recovery in de novo RADseq data for non-model organisms. *Methods in Ecology and Evolution*, 12(5), 805-817.
- Chan, L. M., Brown, J. L., & Yoder, A. D. (2011). Integrating statistical genetic and geospatial methods brings new power to phylogeography. *Molecular phylogenetics and evolution*, 59(2), 523-537.
- Coates, D. J., Byrne, M., & Moritz, C. (2018). Genetic diversity and conservation units: dealing with the species-population continuum in the age of genomics. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 165.
- Coelho, J. F. R., Lima, S. M. Q., & Petean, F. D. F. (2022). Threatened skates exhibit abiotic niche stability despite climate change in the southwestern Atlantic Ocean. *Canadian Journal of Zoology*, 100(4), 273-279.
- Coelho, J. F. R., Angeles-Gonzalez, L. E., Cahuich-López, M., Mariño-Tapia, I., & Queiroz Lima, S. M. (2024a). Larval dispersal and climate models provide insights into present and future distribution of a tropical sardine. *Marine Biology Research*, 1-14.
- Coelho, J. F. R., Mendes, L. D. F., Di Dario, F., Carvalho, P. H., Dias, R. M., Lima, S. M. Q., ... & Pereira, R. J. (2024b). Integration of genomic and ecological methods inform management of an undescribed, yet highly exploited, sardine species. *Proceedings of the Royal Society B*, 291(2018), 20232746.
- Cortés E (2000). Life history patterns and correlations in sharks. *Reviews in Fisheries Science*, v. 8, n. 4, p. 299-344.
- Costa, T. L., Petean, F. F., Berbel-Filho, W. M., Solé-Cava, A. M., Mendes, L. F., & Lima, S. M. (2022). Molecular testing of the São Francisco River as an ecological filter for the Brazilian large-eyed stingray *Hypanus marianae* (Dasyatidae, Myliobatiformes). *Hydrobiologia*, 1-14.
- Constance, J. M., Garcia, E. A., Pillans, R. D., Udyawer, V., & Kyne, P. M. (2024). A review of the life history and ecology of euryhaline and estuarine sharks and rays. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 34(1), 65-89.
- Cruz VP, Vera M, Pardo BG, Taggart J, Martinez P, Oliveira C & Foresti F (2016). Identification and validation of single nucleotide polymorphisms as tools to detect hybridization and population structure in freshwater stingrays. *Molecular Ecology Resources*. Doi 10.1111/1755-0998.12564.
- Cruz, V. P., Rotundo, M. M., Charvet, P., Boza, B. R., Souza, B. C., Cerqueira, N. N., ... & Foresti, F. (2023). Investigating an unknown biodiversity: evidence of distinct lineages of the endemic chola guitarfish *Pseudobatos percellens* Walbaum, 1792 in the Western Atlantic Ocean. *Diversity*, 15(3), 344.
- Da Silva Ferrette BL, Mendonça FF, Coelho R, de Oliveira PGV, Hazin FHV, Romanov EV & Foresti F (2015). High connectivity of the crocodile shark between the Atlantic and southwest Indian Oceans: highlights for conservation. *Plos One*, e0117549.
- Dedman, S., Moxley, J. H., Papastamatiou, Y. P., Braccini, M., Caselle, J. E., Chapman, D. D., ... & Heithaus, M. R. (2024). Ecological roles and importance of sharks in the Anthropocene Ocean. *Science*, 385(6708), adl2362.

- DiBattista, J. D., Saenz-Agudelo, P., Piatek, M. J., Wang, X., Aranda, M., & Berumen, M. L. (2017). Using a butterflyfish genome as a general tool for RAD-Seq studies in specialized reef fish. *Molecular Ecology Resources*, 17(6), 1330-1341.
- Domingues, R. D., De Amorim, A. F., & Hilsdorf, A. W. S. (2013). Genetic identification of *Carcharhinus* sharks from the southwest Atlantic Ocean (Chondrichthyes: Carcharhiniformes). *Journal of applied Ichthyology*, 29(4), 738-742.
- Domingues RR, Hilsdorf AWS & Gadig OBF (2017). The importance of considering genetic diversity in shark and ray conservation policies. *Conservation Genetics*, 1-25
- Dufresnes, C., Dutoit, L., Brelsford, A., Goldstein-Witsenburg, F., Clément, L., López-Baucells, A., ... & Goudet, J. (2023). Inferring genetic structure when there is little: population genetics versus genomics of the threatened bat *Miniopterus schreibersii* across Europe. *Scientific Reports*, 13(1), 1523.
- Dulvy NK, Fowler SL, Musick JA, Cavahagh RD, Kyne PM, Harrison LR, ... & White WT (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *Elife*, (3) e00590.
- Dulvy, N. K., Pacoureaux, N., Rigby, C. L., Pollom, R. A., Jabado, R. W., Ebert, D. A., ... & Simpfendorfer, C. A. (2021). Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. *Current Biology*, 31(21), 4773-4787.
- Elyasigorji, Z., Izadpanah, M., Hadi, F., & Zare, M. (2023). Mitochondrial genes as strong molecular markers for species identification. *The Nucleus*, 66(1), 81-93.
- Emerson KJ, Conn JE, Bergo ES, Randel MA, & Sallum MAM. (2015). Brazilian *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) clusters by major biogeographical region. *PLoS One*, e0130773.
- Eklblom, R., & Galindo, J. (2011). Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Heredity*, 107(1), 1-15.
- Félix-López, D. G., Rocha-Olivares, A., & Saavedra-Sotelo, N. C. (2024). Local adaptive variation in a highly migratory fish: The smooth hammerhead shark *Sphyrna zygaena*. *Ecological Genetics and Genomics*, 31, 100233.
- Ferrette, B. L. D. S., Domingues, R. R., Rotundo, M. M., Miranda, M. P., Bunholi, I. V., De Biasi, J. B., ... & Mendonça, F. F. (2019). DNA barcode reveals the bycatch of endangered batoids species in the southwest Atlantic: implications for sustainable fisheries management and conservation efforts. *Genes*, 10(4), 304.
- FishBase. (n.d.). Pictures summary for species ID 1248 [Photographs]. FishBase. Retrieved July 12, 2025, from <https://www.fishbase.se/photos/PicturesSummary.php?resultPage=2&ID=1248&what=species>
- Floeter SR, Rocha LA, Robertson DR, Joyeux JC, Smith-Vaniz WF, Wirtz P ... & Bernardi G (2008). Atlantic reef fish biogeography and evolution. *Journal of Biogeography*, 35(1), 22-47.
- Food and Agriculture Organization (FAO) (2018). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma: FAO. 250 pp
- Funk WC, McKay JK, Hohenlohe PA & Allendorf FW (2012). Harnessing genomics for delineating conservation units. *Trends in ecology & evolution*, 489-96.
- Gianeti MD, Santana FM, Yokota L, Vasconcelos JE, Dias JF & Lessa RP (2019). Age structure and multi-model growth estimation of longnose stingray *Hypanus guttatus* (Dasyatidae: Myliobatoidei) from north-east Brazil. *Journal of fish biology*, 94(3), 481-488.
- Gomes UL, Santos H, Gadig OBF, Signori C & Vicente MM (2019). Guia para identificação dos tubarões, raias e quimeras do Estado Rio de Janeiro (Chondrichthyes: Elasmobranchii e Holocephali). *Revista Nordestina de Biologia*, 27(1), 171-368.

- Grubbs RD, Carlson JK, Romine JG, Curtis TH, McElroy WD, McCandless CT, Cotton CF & Musick JA (2016). Critical assessment and ramifications of a purported marine trophic cascade. *Scientific Reports*, (6) 20970. doi: 10.1038/srep20970
- Haltiner, L., Spaak, P., Dennis, S. R., & Feulner, P. G. (2024). Population genetic insights into establishment, adaptation, and dispersal of the invasive quagga mussel across perialpine lakes. *Evolutionary applications*, 17(1), e13620.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, Dewaard JR (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B*, v. 270, p. 313-321.
- Hebert PDN, Ratanasingham S, Dewaard JR (2003b). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B*, v. 270 (Suppl.), p. S96-S99.
- Hoffmann, A. A., & Sgrò, C. M. (2011). Climate change and evolutionary adaptation. *Nature*, 470(7335), 479-485.
- Hohenlohe, P. A., Funk, W. C., & Rajora, O. P. (2021). Population genomics for wildlife conservation and management. *Molecular Ecology*, 30(1), 62-82.
- ICMBio (2024). Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE. Disponível em: <https://salve.icmbio.gov.br/>. Acesso em: 21 de out. de 2024.
- Johannesson, K., Le Moan, A., Perini, S., & André, C. (2020). A Darwinian laboratory of multiple contact zones. *Trends in Ecology & Evolution*, 35(11), 1021-1036.
- Knowles, L.L. (2009). Statistical phylogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40, 593.
- Knowles, L.L. and Maddison, W.P. (2002). Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, 11(12), pp.2623-2635.
- Kong, M. S., Hung, C. H., Hsu, L. L., Yuan, H. W., & Chen, W. J. (2024). Exploring genetic diversity and population structure of the Little Tern (*Sternula albifrons*) in Taiwan based on mtDNA and ddRAD sequencing data. *Conservation Genetics*, 25(2), 375-392.
- Krohn, A. R., Folt, B., Apodaca, J. J., Guyer, C., & Goessling, J. M. (2024). Using genomic data to estimate population structure of Gopher Tortoise (*Gopherus polyphemus*) populations in Southern Alabama. *Conservation Genetics*, 25(3), 755-770.
- Last PR, Naylor GJ & Manjaji-Matsumoto BM (2016a). A revised classification of the family Dasyatidae (Chondrichthyes: Myliobatiformes) based on new morphological and molecular insights. *Zootaxa*, 4139(3), 345-368.
- Last PR, Naylor GJ, Séret B, White WT, de Carvalho M & Stehmann M (Eds.). (2016b). *Rays of the World*. CSIRO publishing.
- Legrand M, Briand C, Buisson L, Besse T, Artur G, Azam D, Baisez A, Barracow D & Laffaille P (2020). Diadromous fish modified timing of upstream migration over the last 30 years in France. *Freshwater Biology*, Version of Record online, 15 November 2020. <https://doi.org/10.1111/fwb.13638>.
- Leitwein, M., Gagnaire, P. A., Desmarais, E., Berrebi, P., & Guinand, B. (2018). Genomic consequences of a recent three-way admixture in supplemented wild brown trout populations revealed by local ancestry tracts. *Molecular Ecology*, 27(17), 3466-3483.
- Lim KC, Lim PE, Chong VC & Loh KH (2015). Molecular and morphological analyses reveal phylogenetic relationships of stingrays focusing on the family Dasyatidae (Myliobatiformes). *PLoS One*, 10(4), e0120518.
- Martins, L. R., & Coutinho, P. N. (1981). The Brazilian continental margin. *Earth Sciences Reviews*, 17, 87–107.
- Martins, Nuno T. et al. (2022). Brazilian marine phylogeography: A literature synthesis and analysis of barriers. *Molecular Ecology*, v. 31, n. 21, p. 5423-5439.

- Mejía-Falla, P. A., Navia, A. F., Cardeñosa, D., & Tavera, J. (2025). New Species of the Genus *Hypanus* (Dasyatidae) from the Eastern Tropical Pacific Ocean. *Ichthyology & Herpetology*, 113(1), 44-60.
- Morin PA, Matien KK, Taylor BL (2009). Assessing statistical power of SNPs for population structure and conservation studies. *Molecular Ecology Resources*, 9 (1) 66-73.
- Moore AB, Last PR. & Naylor GJ (2020). *Hemistrygon yemenensis* sp. nov., a new species of stingray (Myliobatoidea: Dasyatidae) from the northwestern Indian Ocean. *Zootaxa*, 4819(2), zootaxa-4819.
- Moore, ABM, White, W. T., Ward, R. D., Naylor, G. J. P., & Peirce, R. (2011). Rediscovery and redescription of the smoothtooth blacktip shark, *Carcharhinus leiodon* (Carcharhinidae), from Kuwait, with notes on its possible conservation status. *Marine and Freshwater Research*, 62(6), 528-539.
- Naylor, G. J. P., Caira, J. N., Jensen, K., Rosana, K. A. M., White, W. T., & Last, P. R. (2012). A DNA sequence-based approach to the identification of shark and ray species and its implications for global elasmobranch diversity and parasitology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 367, 262.
- O'Keefe, M., Bengil, E. G., Palmer, J. L., Beton, D., Çağlar, Ç., Godley, B. J., ... & Broderick, A. C. (2023). Diversity and distribution of elasmobranchs in the coastal waters of Cyprus: using bycatch data to inform management and conservation. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1181437.
- Pampoulie, C., Gysels, E. S., Maes, G. E., Hellemans, B., Leentjes, V., Jones, A. G., & Volckaert, F. A. M. (2004). Evidence for fine-scale genetic structure and estuarine colonisation in a potential high gene flow marine goby (*Pomatoschistus minutus*). *Heredity*, 92(5), 434-445.
- Pavan-Kumar A, Kumar R, Pitale P, Shen KN & Borsa P (2018). *Neotrygon indica* sp. nov., the Indian Ocean blue-spotted maskray (Myliobatoidei, Dasyatidae). *Comptes rendus biologiques*, 341(2), 120-130.
- Petean FDF, Naylor GJ & Lima SM (2020). Integrative taxonomy identifies a new stingray species of the genus *Hypanus rafinesque*, 1818 (Dasyatidae, Myliobatiformes), from the Tropical Southwestern Atlantic. *Journal of Fish Biology*, 97(4), 1120-1142.
- Petean, F. F., Yang, L., Corrigan, S., Lima, S. M., & Naylor, G. J. (2024). How many lineages are there of the stingrays genus *Hypanus* (Myliobatiformes: Dasyatidae) and why does it matter?. *Neotropical Ichthyology*, 22, e230046.
- Peterson BK, Weber JN, Kay EH, Fisher HS, & Hoekstra HE (2012). Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS one*, e37135.
- Pinheiro, H. T., Rocha, L. A., Macieira, R. M., Carvalho-Filho, A., Anderson, A. B., Bender, M. G., ... & Floeter, S. R. (2018). South-western Atlantic reef fishes: Zoogeographical patterns and ecological drivers reveal a secondary biodiversity centre in the Atlantic Ocean. *Diversity and Distributions*, 24(7), 951-965.
- Price, T. D., Qvarnström, A., & Irwin, D. E. (2003). The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings. Biological sciences*, 270(1523), 1433–1440. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2372>.
- Primmer CR (2009). From conservation genetics to conservation genomics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, (1162) 357-68.
- Queiroz, A. P. N., Feitosa, L. M., Santana, F. M., & Lessa, R. P. T. (2024). Stable isotopes and vertebrae microchemistry reveal crucial habitats for three heavily fished coastal stingrays in the Western Atlantic Ocean. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 309, 108961.
- Razgour, O., Forester, B., Taggart, J. B., Bekaert, M., Juste, J., Ibáñez, C., ... & Manel, S. (2019). Considering adaptive genetic variation in climate change vulnerability assessment reduces species range loss projections. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(21), 10418-10423.

- Remeslo AV, Morozov EG, Neiman VG & Chernyshkov PP (2004). Structure and variability of the Falkland Current. In DOKLADY EARTH SCIENCES C/C OF DOKLADY-AKADEMIIA NAUK (Vol. 399, pp. 1156-1159). INTERPERIODICA PUBLISHING.
- Rocha LA (2003). Patterns of distribution and processes of speciation in Brazilian reef fishes. *Journal of Biogeography*, 30(8), 1161-1171.
- Rodrigues AFS, de Sousa Rangel B, Wosnick N, Bornatowski H, Santos JL, Moreira RG & de Amorim AF (2018). Report of injuries in batoids caught in small-scale fisheries: implications for management plans. *Oecologia Australis*, 23(1).
- Rodrigues Filho LFS, Feitosa LM, Nunes JLS, Palmeira ARO, Martins APB, Giarrizzo T, ... & de Luna Sales JB (2020). Molecular identification of ray species traded along the Brazilian Amazon coast. *Fisheries Research*, 223, 105407.
- Rossi-Wongtshchowski CLDB, Valentin JL, Jablonski S, Amaral AC, Hazin FH & ElRobrini M (2006). Capítulo 1. Ambiente marinho. In Programa REVIZEE. Avaliação do Potencial Sustentável de Recursos Vivos na Zona Econômica Exclusiva (pp. 21–78). Relatório Executivo. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- Scoble, J., & Lowe, A. J. (2010). A case for incorporating phylogeography and landscape genetics into species distribution modelling approaches to improve climate adaptation and conservation planning. *Diversity and Distributions*, 16(3), 343-353.
- Shafer, A. B., Wolf, J. B., Alves, P. C., Bergström, L., Bruford, M. W., Brännström, I., ... & Ziełiński, P. (2015). Genomics and the challenging translation into conservation practice. *Trends in ecology & evolution*, 30(2), 78-87.
- Silva, G. B. D., Viana, M. S. R., & Furtado-Neto, M. A. A. (2001). Morfologia e alimentação da Raia *Dasyatis guttata* (Chondrichthyes: Dasyatidae) na enseada do Mucuripe, Fortaleza, Ceará.
- Silveira ICAD, Schmidt ACK, Campos EJD, Godoi SSD & Ikeda Y (2000). A corrente do Brasil ao largo da costa leste brasileira. *Revista Brasileira de Oceanografia*, 48(2), 171-183.
- Supple, M. A., & Shapiro, B. (2018). Conservation of biodiversity in the genomics era. *Genome biology*, 19(1), 131.
- Svenning, J. C., Fløjgaard, C., Marske, K. A., Nógues-Bravo, D., & Normand, S. (2011). Applications of species distribution modeling to paleobiology. *Quaternary Science Reviews*, 30(21-22), 2930-2947.
- Valentin, J. L. (2001). The Cabo Frio upwelling system, Brazil. In *Coastal marine ecosystems of Latin America* (pp. 97-105). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR & Hebert PDN (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society, B: Biological Sciences*, 360, 1847–1857.
- Weigmann S (2016). Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. *Journal of Fish Biology*, 88(3), 837-1037.
- Yokota L & Lessa RP (2007). Reproductive biology of three ray species: *Gymnura micrura* (Bloch & Schneider, 1801), *Dasyatis guttata* (Bloch & Schneider, 1801) and *Dasyatis marianae* Gomes, Rosa & Gadig, 2000, caught by artisanal fisheries in northeastern Brazil. *Cahiers de Biologie Marine*, 48(3), 249.
- Zhang HW, Yin SW, Zhang LJ, Hou XY, Wang YY (2015). Development and validation of single nucleotide polymorphism markers in *Odontobutis potamophila* from transcriptomic sequencing.
- Zhao, Y. J., Yin, G. S., & Gong, X. (2023). RAD-sequencing improves the genetic characterization of a threatened tree peony (*Paeonia ludlowii*) endemic to China: implications for conservation. *Plant Diversity*, 45(5), 513-522.