

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 24/06/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

MESTRADO

***DNA Barcoding* na identificação de espécies de tubarões  
exploradas comercialmente no litoral de São Paulo.**

Maíce Giovanini Ramos

Botucatu- SP

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

***Maíce Giovanini Ramos***

***DNA Barcoding* na identificação de espécies de tubarões  
exploradas comercialmente no litoral de São Paulo.**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *Campus* Botucatu, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas. Área de concentração: Zoologia.

***Orientador: Dr. Fábio Porto-Foresti***

Botucatu- SP

2016

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

Ramos, Maíce Giovanini.

DNA Barcoding na identificação de espécies de tubarões exploradas comercialmente no litoral de São Paulo / Maíce Giovanini Ramos. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

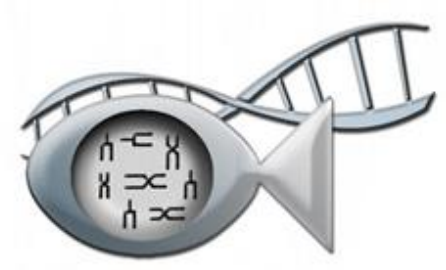
Orientador: Fábio Porto-Foresti

Capes: 20204000

1. Tubarão - Identificação. 2. Marcadores genéticos.  
3. Raia (Peixe) - Identificação. 4. Biodiversidade marinha - Conservação.

Palavras-chave: COI; Conservação genética; Elasmobrânquios; Identificação molecular; Marcadores moleculares.

Laboratório de  
Genética de Peixes  
Unesp Bauru



*Dedico esse trabalho à minha família,  
meu porto seguro.*

*“O homem é a mais insana das espécies. Adora um Deus invisível e mata a Natureza visível...sem perceber que a Natureza que ele mata é esse Deus invisível que ele adora.”*

*Hubert Reeves*

## *AGRADECIMENTOS*

*Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para que fosse possível completar essa jornada, em especial:*

*À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela bolsa de estudos e auxílio financeiros concedidos (processo: 2014/00552-6).*

*Ao CNPq pela bolsa de estudos no início do projeto.*

*Ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, ao Curso de Pós - graduação em Ciências Biológicas/Zoologia.*

*Ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Porto Foresti, por abrir as portas de seu laboratório, pela oportunidade oferecida de poder trabalhar junto todos esses anos, e também pelos incentivos, conselhos, dedicação e orientação. Principalmente nesses últimos meses, obrigada por acreditar em mim!*

*Ao Prof. Dr. Fausto Foresti por ser uma grande inspiração pelo amor que dedica a ciência. Ao Prof. Dr. Cláudio Oliveira por me socorrer todos os momentos em que tive dúvidas, seus ensinamentos me ajudaram a amadurecer meu trabalho. Ao Prof. Dr. Fernando Fernandes Mendonça, pela ajuda nas coletas de Santos e sua disponibilização em ajudar sempre, principalmente em ter aceitado ser meu co-orientador em nossa tentativa de Doutorado Direto. Obrigada!*

*Aos meus colegas de trabalho, a família LaGenPe, aos que já saíram do laboratório, Rosângela, Tati, Diogo, Dani, Milena, Raquel, e aos que ainda permanecem, Andrea, Aline, Bruna, Fernanda, Diego, Sandro, Manolo, Egberto, Will, Caio e a todo pessoal de iniciação científica, obrigada pelos momentos de descontração, pelas viagens, congressos, e mais ainda, pela ajuda que me deram durante meus anos no laboratório. Nada disso seria possível sem uma boa convivência, vocês foram minha segunda família e minha segunda casa durante todo esse tempo. Em especial a Bruna, que se tornou uma grande amiga, obrigada pelo carinho, amizade, pelas conversas, conselhos e por nunca me deixar sozinha!*

*Aos técnicos e amigos do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista -*

*UNESP, Câmpus de Botucatu, pela amizade e pelo auxílio em algumas etapas práticas imprescindíveis ao desenvolvimento deste trabalho. Principalmente a Dra. Cristiane Shimabukuro, pelos sequenciamentos e por me auxiliar nos momentos que precisei, muito obrigada!*

*Ao Prof. Dr. Paulino Martínez Portela da Facultad de Veterinária de la Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, por ter concedido a oportunidade de poder conhecer seu laboratório e me receber tão bem. Ao prof. Dr. Manuel Vera Rodríguez por estar sempre disposto a ajudar, por sua preocupação no período em que permaneci na Espanha. À Dra. Fernanda Dotti do Prado, pela amizade e por me acolher em sua casa na minha breve permanência em Lugo. À todos que fizeram de Lugo uma experiência incrível e única!*

*Às minhas irmãs de república, Gabi Tibúrcio, Gabrielle, Ariadne e Marina, obrigada por fazer de Bauru a melhor época da minha vida, o 1304 será eterno, assim como vocês!*

*Aos meus amigos de faculdade, Livia, Wesley, Gabi Neubern, Aneli (Japa), Aline, Naty Gallo, Naty Lopes, Naty (Bartira), Gabi Erazo, Stéphanie, Danilo e André vou levar vocês pro resto da vida comigo!*

*Aos meus amigos de Porto Ferreira, Pirassununga, Ribeirão Preto, pois mesmo longe, vocês nunca me abandonaram. Em especial à Carol, Naná, Gabizinha, Prika, Marcela, minhas amigas de infância. Ninguém caminha sozinho e vocês estarão comigo em cada nova etapa.*

*À minha mestra Marina Engler e aos colegas de yoga, por todos os ensinamentos, práticas e por me ajudar a ser mais forte e compreender melhor o meu caminho. Namastê!*

*À minha família, Giovanini, Ramos e Fadel, obrigada por sempre estarem por perto. Aos meus avôs, sei que onde estiverem, hoje devem estar muito felizes por mais essa conquista. Em especial: a minha avó Maria e ao meu avô Ricardo que foram meus segundos pais, sempre me incentivando a seguir em frente com meus estudos. Ao meu tio Renan, por seus conselhos que me ajudaram a enfrentar a pós-graduação, ele bem sabe que não é nada fácil! À minha tia Kuka por ter me acompanhado e me ajudado em uma das coletas mais exaustiva. Eu amo muito cada um de vocês!*

*À minha irmã Leticia, por sempre estar por perto e que junto com meu querido cunhado, João, ter me dado um dos maiores presentes, meu sobrinho Joaquim. É por sermos tão diferentes, que nos completamos, sister! Aos meus irmãos, César e André, que sempre serão meus pequeninos, amo vocês.*

*E, finalmente, aos meus pais, Neure, Rui, Fadel, vou ser eternamente grata ao apoio, incentivo, dedicação e o amor que sempre tiveram por mim. Obrigada por me permitir sempre... A estrada ainda vai ser longa, mas sei que ela brilhará enquanto caminharem comigo!*

*Enfim...*

*...“Quando uma porta se fecha, outra se abre; quando um caminho termina, outro começa. Nada é estático no Universo, tudo se move sem parar e tudo se transforma sempre para melhor. Habitue-se a pensar desta forma: tudo que chega é bom, tudo que parte também. É a dança da vida...” André Luiz.*

*Obrigada à todos!*

## **RESUMO**

Atualmente estamos em uma corrida entre a descrição da biodiversidade da Terra e sua extinção. Estima-se que a maior parte dessa biodiversidade está sendo extinta antes mesmo de ser descrita. Dentre essa grande diversidade, os peixes são os vertebrados de maior sucesso evolutivo, caracterizando uma diversidade impressionante. Os tubarões, por exemplo, caracterizam em predadores do topo de cadeia alimentar, sendo descritas atualmente aproximadamente 500 espécies, e cada vez mais novas descobertas são feitas com relação a novas espécies. Porém as populações de tubarões estão em declínio devido ao consumo desenfreado de suas nadadeiras pelo mercado e comércio asiático. Soma-se a isso a grande dificuldade na identificação morfológica que é associada à prática de remoção da cabeça e de partes do corpo. A descaracterização pode dificultar, ou no caso de algumas espécies, até mesmo impossibilitar sua identificação. Portanto a necessidade de identificar as espécies de forma mais rápida e eficiente levou ao desenvolvimento de marcadores moleculares, que pudessem servir de respaldo para o monitoramento e controle do comércio desses animais. Uma dessas ferramentas é o DNA Barcode, o qual foi utilizado nesse trabalho para a identificação de nadadeiras coletadas no mercado de peixe de algumas cidades como Santos, Ubatuba e Cananéia do estado de São Paulo. O sequenciamento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I foi realizado. Posteriormente foram analisadas as sequências no site do *System BOLD* para identificação das espécies. Com isso foi possível a identificação de 13 espécies distintas, algumas delas no Anexo II da CITES, na lista vermelha da IUCN e na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção do Ministério do Meio Ambiente, observando a grande necessidade de uma fiscalização maior com relação a suas capturas. Também foi feita uma comparação para saber quais espécies eram mais coletadas e que atualmente não são mais, inferindo assim que pode ter havido a sobrepesca de algumas dessas espécies. Por fim, além da caracterização da exploração pesqueira regional, a utilização de técnicas moleculares de identificação pode viabilizar estatísticas mais abrangentes determinando os níveis de exploração por espécie e permitindo a aplicação de planos de manejo e a ordenação da exploração pesqueira.

## **ABSTRACT**

Nowadays we are in a race between the description of the Earth's biodiversity and extinction. It is estimated that most of this biodiversity is being extinguished before being described. Among this great diversity, fishes are vertebrate's greatest evolutionary success, featuring a striking diversity. Sharks, for example, are characterized as top predators of the food chain. There are 500 described species of them and more and more new discoveries are made with respect to new species. However, shark populations are declining due to unbridled consumption of their fins by the market and Asian trade. Moreover, the practice of removing the head and body part adds great difficulty in morphological identification. The mischaracterization can make it difficult or, in the case of some species, even impossible identification. Therefore, the need to identify species faster and more efficiently led to the development of molecular markers that can serve as support for the monitoring and control of trading of these animals. One such tool is the DNA barcode. It was used in this work for fins identification collected at fish markets in some cities such as Santos, Ubatuba and Cananéia from São Paulo State. Firstly, the sequencing of the mitochondrial gene Cytochrome Oxidase subunit I was made. Afterwards the sequences were analyzed in the System BOLD site for species identification. It was possible to identify 13 different species, some of them in Appendix II of CITES, IUCN red list and the official list of endangered species of the Ministry of Environment. Observing the great need for greater oversight regarding their catch. A comparison was also made to identify which species were more collected and are no longer, inferring over-fishing of some of the remaining species. Finally, besides the characterization of regional fisheries exploitation, molecular identification techniques may enable more comprehensive statistics to determine the right exploration levels per species and allowing the implementation of management plans and organization of fisheries exploitation.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.2 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.2 BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO.....	2
1.2.1 Enfoque na conservação dos elasmobrânquios.....	4
1.3 EXPLORAÇÃO PESQUEIRA.....	8
1.4 TÉCNICAS MOLECULARES NA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES.....	11
1.4.1 DNA Barcoding.....	11
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
2. 1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
3.1 COLETA DE DADOS.....	19
3.2 METODOLOGIA.....	20
3.2.1 Extração do DNA.....	20
3.2.2 Amplificação e sequenciamento do gene mitocondrial COI.....	22
3.2.3 Purificação das amostras amplificadas.....	23
3.2.4 Reação de sequenciamento.....	23
3.2.5 Preparação das amostras amplificadas por precipitação em EDTA/acetato de sódio/etanol.....	24
3.2.6 Sequenciamento de DNA.....	25
3.2.7 DNA Barcode na identificação das espécies.....	25
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
4.1 Capítulo – Identificação pelo método de DNA Barcode, de tubarões explorados pela pesca artesanal e industrial do Litoral de São Paulo – Brasil.....	27
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>42</b>
<b>6 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>58</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>60</b>

# *INTRODUÇÃO*

## **1 INTRODUÇÃO**

### **1.1 INTRODUÇÃO GERAL**

A classificação das espécies é um dos feitos mais antigos do intelecto humano (Bock 1973). A aplicação dessa habilidade aos seres vivos remonta à própria origem, sendo encontrada em todas as culturas humanas, civilizadas ou não (Diamond 1966, Hunn 1982). Surgindo vários conceitos para delimitar ou reconhecer espécies, que foram delimitados ao longo da história.

No processo de reconhecimento do conceito de espécies, muitas vezes seus limites parecem estar condicionados a visão de mundo do próprio estudioso, deixando de lado, por vezes, o seu real significado biológico (Brothers 1983, Bezerra e Fernandes 1984, Mayr 1998, Judd *et al.* 2009).

Dois avanços marcaram a história da classificação de espécies, buscando uma unidade conceitual de significado biológico, um baseia-se na difusão das ideias darwinistas, que o conceito de espécies reflita sua evolução (Bock 1973). Outro, busca a necessidade de métodos objetivos para a inferência taxonômica (Holmes 1980). Estes dois aspectos foram contemplados na sistemática filogenética, originalmente proposta por Hennig (1966), que apesar das desvantagens, tem uma capacidade de recuperar a melhor explicação evolutiva (Wiley 1975).

Observando esses aspectos, estava pronto toda a estrutura para a utilização de técnicas moleculares, as quais são amplamente utilizadas nos últimos 30 anos na detecção de unidades biológicas. Sendo uma das principais ferramentas de reconstrução

filogenética, permitindo inferências evolutivas nos mais variados organismos e níveis hierárquicos (Hall 2001, Amorim 2002, Schneider 2003, Avise 1997, Judd *et al.* 2009).

Apesar de 250 anos de estudos taxonômicos, a grande maioria da diversidade biológica continua sem descrição ou sem ser descoberta, em parte devido à um menor número de taxonomistas, e em parte devido à natureza tediosa da pesquisa (Wilson, 2000). Portanto, algumas tentativas para quantificar a extensão da biodiversidade desconhecida têm sido feitas, por exemplo, Mora *et al.* (2011) sugerem que 86% das espécies do planeta e 91% das espécies nos oceanos ainda não foram descobertas.

Esta perturbação ambiental é cada vez mais evidenciada pela perda ou deterioração dos recursos e serviços relacionados com a biodiversidade, tentativas recentes e de longa data tentam destacar e solucionar o problema aos mais altos níveis internacionais, portanto as técnicas moleculares de descrição de espécies são de extrema importância para resolver a questão. Do total de espécies conhecidas, 25% corre sério risco de extinção nos próximos vinte anos (Bisby *et al.* 2010).

Mesmo com toda a evolução molecular e com toda a ação antrópica, a biodiversidade no mundo ainda se faz expressiva, não tendo sido identificado o número total das espécies existentes.

*CONSIDERAÇÕES*

*FINAIS*

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A atual Constituição Brasileira, promulgada em 1988, Art. 225, inclui um importante instrumento legal para a proteção das espécies que compõem a nossa biodiversidade. Determina como responsabilidade do Poder Público "proteger a fauna e a flora, vedadas, na forma da lei, as práticas que coloquem em risco sua função ecológica, provoquem a extinção das espécies ou submetam os animais à crueldade".

Para o cumprimento desses compromissos, tanto no âmbito externo quanto interno, o Brasil dispõe de uma série de mecanismos voltados à conservação e proteção da biodiversidade, com destaque para a elaboração de listas das espécies ameaçadas, monitoramento, planos de gestão e programas para recuperação de espécies ameaçadas.

Listas que, por exemplo, hoje incluem muitas espécies de tubarões. A pesca desenfreada dessas populações está levando essas espécies a uma queda drástica nos seus estoques pesqueiros, correndo um grande risco de extinção. Como a genética molecular nessas últimas décadas avançou bastante, hoje as amostras que antes seriam descartadas por não ser possível uma identificação morfológica tradicional, hoje pode ser possível fazer essa identificação a nível de espécies, sendo imprescindível para a correta avaliação dos estoques e para que haja um manejo adequado das mesmas.

Mesmo com a ampla gama de estudos que vem sendo feito para a conservação e identificação dessas populações, ainda não é o suficiente, pois, em escala mundial, o manejo dos estoques de elasmobrânquios é complicado pela falta de informações básicas sobre a dinâmica de suas populações. Nesse sentido torna-se fundamental conhecer para poder preservar, isto é, a ampliação do conhecimento sobre a

composição de recursos vivos e seus estoques genéticos nos vários ecossistemas existentes. A partir desse conhecimento é que serão gerados os subsídios para a preservação ou a utilização planejada e sustentável dos recursos naturais.

Com um crescente interesse na sustentabilidade da pesca no âmbito internacional começaram a ser desenvolvidos planos de manejo e conservação de elasmobrânquios, como por exemplo, o plano de ação para conservação de tubarões (*IPOA-Sharks - Plan of Action for the Conservation and Management of Sharks*), adotado pela “*United Nations Food and Agricultural Organization*” (FAO) com o intuito de incentivar os países a desenvolver seus próprios planos de manejo, conservação e sustentabilidade de tubarões e seus ecossistemas, dando especial atenção às espécies vulneráveis ou ameaçadas de extinção (FAO 1999).

Neste contexto, o presente trabalho foi desenvolvido para que complementasse dados sobre a pesca de elasmobrânquios no litoral do estado de São Paulo, que ainda hoje são muito defasados. O método de identificação empregado no presente trabalho, o DNA Barcode, se mostrou eficiente na identificação de espécies protegidas, pela legislação vigente no período da coleta, irregularmente comercializadas.

Podendo portanto verificar que os dados estatísticos de pesca atuais não corroboram com os dados obtidos, subestimando a importância das espécies que estão sendo sobre-exploradas de populações de tubarões.

Outro ponto importante é que os dados obtidos no presente trabalho, mostrou que há 13 espécies sendo desembarcadas no litoral de São Paulo, entretanto apenas uma está sendo exportada/importada com o Nomenclatura Comum do Mercosul (NCM), específica, sendo o restante comercializada com o NCM geral. Conseqüentemente, a partir dessas constatações, surgem questionamentos, como: "Se

*apenas uma espécie tem um código específico de importação e exportação, o que acontece com as outras 12 espécies encontradas no presente trabalho, estão sendo vendidas de forma geral como cação?*", *"Está havendo uma fraude, venda trocada no comércio dessas espécies?"*, *"Quais serão os dados reais de espécies comercializadas internamente e externamente de tubarões?"*. Questões essas que podem ser respondidas utilizando métodos moleculares, que demonstraram em vários trabalhos serem ferramentas extremamente eficazes no desenvolvimento de hipóteses abrangentes na área.

Desse modo, para que ações de conservação sejam efetivas no âmbito nacional e internacional do ambiente marinho, torna-se fundamental e de grande urgência que haja uma precisa identificação de seus estoques e a elaboração de estatísticas rigorosas que quantifiquem a exploração possibilitando o manejo biológico adequado das populações em conjunto com fiscalizações rigorosas em pontos de desembarque. Estas medidas de monitoramento ambiental poderão ao longo do tempo estabilizar a taxa de mortalidade a um nível sustentável, para que as populações de tubarões possam um dia estar em equilíbrio.

# *REFERÊNCIAS*

## 6 REFERÊNCIAS

- ABDO Z e GOLDING B (2007) A step toward barcoding life: a model-based, decision-theoretic method to assign genes to preexisting groups. *Syst. Biol.*, 56, 44-56.
- ALVES-GOMES JA, ORTÍ G, HAYGOOD M, MEYER M *et al.* (1995) Phylogenetic analysis of the South American electric fishes (Order Gymnotiformes) and the evolution of their electrogenic system: A synthesis based on morphology, electrophysiology, and mitochondrial sequence data. *Molecular Biology Evolution* 12(2): 298-318.
- AMORIM AF e ARFELLI CA (1992) The shark fishery in South and Southeastern Brazil. *Chondros*, 3(3): 1-4.
- AMORIM AF, ARFELLI CA, BACILIERI S (2002) Shark data from Santos longliners fishery off southern Brazil (1971-2000). *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 54(4): 1341-1348.
- ARFELLI CA (1996) Estudo da Pesca e Aspectos da Dinâmica Populacional de Espadarte *Xiphias gladius* L. 1758, no Atlântico Sul. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, Brasil. 175p.
- AVISE TC, GIBLIN-DAVIDSON C, LAERM J *et al.* (1979) Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographic population of the pocket gopher, *Geomys pinelis*. *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.* 76: 6694-6698.
- AVISE JC e WOLLENBERG K (1997) Phylogenetics and the origin of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94: 7748-7755.
- BARBUTO M, GALIMBERTI A, FERRI E, LABRA M, MALANDRA R, GALLI P, CASIRAGHI M (2010). DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products:

The Italian case of “palombo” (*Mustelus* spp.). *Food Research International* 43: 376–381.

BAKER CS, DALEBOUT ML, LENTO GM, *et al.* (2002) Gray whale products sold in commercial markets along the Pacific Coast of Japan. *Marine Mammal Science*, 18: 295–300.

BAUM JK, MYERS RA, KEHLER DG, WORM B, HARLEY SJ, DOHERTY PA (2003) Collapse and Conservation of Sharks Populations in the Northwest Atlantic. *Science*, 299: 389–391.

BAUM JK e MYERS RA (2004) Shifting baselines and the decline of pelagic sharks in the Gulf of Mexico. *Ecol Lett* 7: 135-145.

BEZERRA P, FERNANDES A (1984) *Fundamentos de taxonomia vegetal*. Fortaleza, Ed. Universidade Federal do Ceará.

BISBY FA, ROSKOV YR, ORRELL TM, NICOLSON D, PAGLINAWAN LE, BAILLY N, KIRK PM, BOURGOIN T, BAILLARGEON G, eds (2010) *Species 2000 e ITIS Catalogue of Life: 2010 Annual Checklist*. Digital resource at <http://www.catalogueoflife.org/annualchecklist/2010>. Species 2000: Reading, UK.

BOCK WJ (1973) Philosophical foundations of classical evolutionary classification. *Systematic Zoology*, 22: 375-392.

BORNATOWSKIA H, BRAGA RR, VITULEB JRS (2014) Threats to sharks in a developing country: The need for effective and simple conservation measures. *NAT CONSERVACAO*, 12(1): 11-18.

BROTHERS EB, WILLIAMS DMcB e SALE PF (1983) Length of larval in twelve families of fishes at “One Tree Lagoon”, Great Barrier Reef, Australia. *Marine Biology* 76: 319-324.

- BROWN WM, GEORGE MJR, WILSON AC (1979) Rapid evolution of animals mitochondrial DNA. Proc Natl Acade Sci USA 76: 1967-1971.
- CALIXTO JB (2003) Biodiversidade como fonte de medicamentos. Cienc. Cult. [online], 55, 3: 37-39. ISSN 2317-6660.
- CAMHI MS, FOWLER J, MUSICK A, BRAUTIGAM AND FORDHAM S (1998) Sharks and their relatives: ecology and conservation. Occasional paper 20. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.
- CAMHI M (1999) Sharks on the Line II: An Analysis of Pacific State Shark Fisheries. Living Oceans Program, National Audubon Society, Islip, New York. 116p.
- CARVALHO CBV, FREITAS JM (2013) The use of DNA barcoding to identify illegally traded shark fins in Brazil. Saúde, Ética & Justiça, 18(Ed. Especial): 50-4.
- CARVALHO DC, PALHARES RM, DRUMMOND MG, FRIGO TB (2014) DNA Barcoding identification of commercialized seafood in South Brazil: A governmental regulatory forensic program. Elsevier. Food Control 50: 784-788.
- CASTRO JI (1987) The Position of Sharks in Marine Biological Communities an Overview. In: Cook, S. (edit). Sharks. An Inquiry into Biology, Behavior, Fisheries and Use. Proc. Of a Conf. Portland. Oregon, State University Extension Service: 11-17.
- CASTRO J, PARDO BG, SÁNCHEZ L AND MARTÍNEZ P (1999) rDNA RFLPs as genetic markers for resource management in brown trout. J Fish Biol 55: 221-225.
- CHAN RWK, DIXON PI, PEPPERELL JG, REID DD (2003) Application of DNA-based for the identification of whaler sharks (*Carcharhinus* spp.) caught in protective beach meshing and by recreational fisheries off the coast of New South Wales. Fishery Bulletin, 101: 910-914.

- COMPAGNO LJV (1973) Interrelationships of living elasmobranchs. In P.H. Greenwood, R.S. Miles and C. Patterson, eds. Interrelationships of fishes. Zoological Journal of the Linnean Society Supplement 1, 53: 15–61.
- COMPAGNO LJV (1990) Alternative life history styles of cartilaginous fishes in time and space. Environmental Biology of Fishes 28: 33–75.
- COMPAGNO LJV, EBERT DA e COWLEY PD (1991) Distribution of offshore demersal cartilaginous fish (Class Chondrichthyes) off the west coast of southern Africa, with notes on their systematics, South African Journal of Marine Science, 11, 1: 43-139.
- COMPAGNO LJV (2000) An overview of chondrichthyan systematics and biodiversity in southern Africa. Transactions of the Royal Society of South Africa. 54(1): 75–120.
- COMPAGNO LJV (2001) FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. No. 1. Sharks of the World: An Annotated and Illustrated Catalogue of the Shark Species Known to Date. Vol. 2. Bullhead, Mackerel and Carpet Sharks (Heterodontiformes, Lamniformes and Orectolobiformes). FAO, Rome, Italy, 269 p.
- COMPAGNO LJV (2005) Checklist of living chondrichthyes. In Hamlett W.C. (ed.) Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyes: sharks, batoids, and chimaeras. Enfield, New Hampshire: Science Publishers, Inc, 501–548.
- COSTA L e CHAVES PTC (2006) Elasmobrânquios capturados pela pesca artesanal na costa sul do Paraná e norte de Santa Catarina, Brasil. Biota Neotropica, 6 (3): 1-10.
- CORTEZ E (2000) Life History Patterns and Correlations in Sharks. Rev. Fish. Sci., 8, 4: 299-344.
- COX AJ E HEBERT PDN (2001) Colonization, extinction and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. Mol. Ecol. 10: 371–386.

- DENTINGER BM, MARGARITescu S, MONCALVO JM (2010) Rapid and reliable high-throughput methods of DNA extraction for use in barcoding and molecular systematic of mushrooms. *Mol Ecol Resour* 10: 628–633.
- DIAMOND JM (1966) A rapid method for determining voltage-concentration relations across membranes. *J. Physiol*, 183: 83-100.
- DULVY NK, ROGERS SI, JENNINGS S, STETZENMILLER V, DYE SR, SKJOLDAL HR (2008) Climate change and deepening of the North Sea fish assemblage: a biotic indicator of warming seas. *J Appl Ecol* 45:1029–1039.
- EBERT DA e COMPAGNO LJV (2007) Biodiversity and systematics of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). *Environ Biol Fish* (2007) 80: 111–124.
- ELIAS M, HILL RI, WILLMOTT KR, DASMAHAPATRA KK, BROWER AVZ, MALLETT J, JIGGINS CD (2007) Limited performance of DNA barcoding in a diverse community of tropical butterflies. *P. Roy. Soc. BBiol. Sci.*, 274: 2881–2889.
- FERRETTE BLS, MENDONÇA FF, COELHO R, OLIVEIRA PGV, HAZIN FHV, ROMANOV EV, OLIVEIRA C, SANTOS MN, FORESTI F (2015) High Connectivity of the Crocodile Shark between the Atlantic and Southwest Indian Oceans: Highlights for Conservation. *PLoS ONE* 10(2): e0117549.
- FIELDS AT, ABERCROMBIE DL, ENG R, FELDHEIM K, CHAPMAN DD (2015) A Novel Mini-DNA Barcoding Assay to Identify Processed Fins from Internationally Protected Shark Species. *PLoS ONE* 10(2): e0114844.
- FRANCIS CM, BORISENK AV, IVANOVA NV, EGER JL, LIM BK, GUILLEN-SERVENT A, KRUSKOP SV, MACKIE I, HEBERT PDN (2010) The role of DNA barcode in understanding and conservation of mammal diversity in southeast Asia. *PLoS ONE* 5(9):e12575.

- FRANK DN, AMAND ALS, FELDMAN RA, BOEDEKER EC, HARPAZ N, PACE NR (2007) Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *PNAS*, 104, 34: 13780–13785.
- FRANKHAM R (2010) Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological Conservation*, 143: 1919–1927.
- FRÉZAL L e LEBLOIS R (2008) Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Inf. Gen. Evo.*, 8: 727-736.
- GADIG OBF (2001) Tubarões da Costa Brasileira. Tese de Doutorado, Unesp, Campus de Rio Claro, São Paulo, 343.
- GALIMBERTI A, MATTIA FD, LOSA A, BRUNI I, FEDERICI S, CASIRAGHI M, MARTELLOS S, LABRA M (2013) DNA barcoding as a new tool for food traceability. *Food Research International* 50 (2013) 55–63.
- GIL LA (2007) PCR-based methods for fish and fishery products authentication. *Trends in Food Science and Technology*, 18: 558–566.
- GRAVES JE (1998) Molecular insights into the population structure of cosmopolitan marine fishes. *Journal of Heredity*, 89: 427-437.
- GROGAN ED e LUND R (2004) Origin and relationships of early Chondrichthyes. PP. 3-31. IN J. C. CARRIER, J. A. Musick, and M. R. Heithaus (eds), *Biology of Sharks and Their Relatives*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- GRUBER SH (1990) Life style of sharks In: Gruber SH (ed.) *Discovering sharks*. American Litoral Society, Special Publication Nº 14.
- HALL BG (2001) *Phylogenetics trees made easy. How to manual for molecular biologists*. Sunderland, Sinauer Associates.

- HAJIBABAEI M, SINGER GAC, HEBERT PND, HICKEY DA (2007) DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetic and population genetics. *V* 23, 4: 167-172.
- HOENIG IP, GRUBER SH (1990) Life History Patterns in the Elasmobranchs: Implications for Fisheries Management. NOAA Technical Report 90.
- HOLMGREN S e NILSSON S (1999) Digestive system. In: *Sharks, Skates and Rays: the biology of elasmobranch fishes*. Hamlett, W. C. (ed.). Baltimore, The John Hopkin University Press. 144 - 173.
- HEBERT PDN, RATNASINGHAM S, DEWAARD JR (2003a) Barcoding animal life: cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270: 96-99.
- HEBERT PDN, CYWINSKA A, BALL SL, WARD JR (2003b) Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. B*, 270: 313-322.
- HEBERT PDN, STOECKLE MY, ZEMLAK TS e FRANCIS CM (2004b) Identification of birds through DNA barcodes. *Plos Biol.*, 2: 01-06.
- HEBERT PDN, GREGORY TR (2005) The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Syst Biol* 54(5): 852-859.
- HENNIG W (1966) *Phylogenetic systematics*. Urbana, Univ. Illinois Press. In: *Tese- O uso de um fragmento do marcador matK como sequência DNA Barcode em Araceae (Luciano Coêlho Milhomens Cemin)*.
- HEIST EJ e GOLD JR (1999b) Genetic Identification of Sharks in the U.S. Atlantic large coastal Shark Fishery. *Fishery Bulletin*, 97: 53-61.
- HEITHAUS MR, FRID A, WIRSING AJ, WORM B (2008) Predicting ecological consequences of marine top predator declines. doi:10.1016/j.tree.2008.01.003.

- HOLMES EB (1980) Reconsideration of some systematic concepts and terms. *Evolutionary Theory*, 5: 35-87.
- HOLMES BH, STEINKE D, WARD RD (2009) Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research* 95: 280–288.
- HOGG ID, HEBERT PDN (2004) Biological identification of springtails (Collembola: Hexapoda) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes. *Can J Zool.*, 82: 749-754.
- HUNN E (1982) The utilitarian factor in folk biological classification. *American Anthropological Association*, 84: 830-847.
- KERR KCR, STOECKLE MY, DOVE CJ, WEIGT LA, FRANCIS CF e HEBERT PDN (2007) Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. *Mol.Ecol. Notes*, 7: 535-543.
- KRISHNAMURTHY PK, FRANCIS RA (2012) A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. *Biodivers Conserv.*, 21:1901–1919 DOI 10.1007/s10531-012-0306-2.
- JUDD WS, CAMPBELL CS, KELLOGG EA, STEVENS PF e DONOGHUE MJ (2009) *Sistemática Vegetal – Um enfoque filogenético*. São Paulo, Artmed.
- LAMENDIN R, MILLER K, WARD RD (2015) Labelling accuracy in Tasmanian seafood: An investigation using DNA barcoding. *Elsevier. Food Control* 47: 436- 443.
- LESSA R, SANTANA FM, RINCÓN G, GADIG OBF, EL-DEIR ACA (1999) Biodiversidade de elasmobrânquios do Brasil. In: *Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da zona costeira e marinha*, Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, Recife.

- LESSA RPT, VOOREN CM, ARAÚJO MLG, KOTAS JE, ALMEIDA PC, RINCÓN G, SANTANA FM, GADIG OBF, SAMPAIO C (2005) Plano Nacional de ação para a conservação de o manejo dos estoques de peixes elasmobrânquios no Brasil. Recife, 100.
- LI R, DAO Z (2011) Identification of *Meconopsis* species by a DNA barcode sequence: the nuclear internal transcribed spacer (ITS) region of ribosomal deoxyribonucleic acid (DNA). *Afr J Biotechnol* 10(70): 15805–15807.
- LOCKLEY AK, BARDSLEY RG (2000) DNA-based methods for food authentication. *Trends in Food Science and Technology*, 11: 67–77.
- MARKO PB, LEE SC, RICE AM *et al.* (2004) Fisheries: mislabelling of a depleted reef fish. *Nature*, 430: 309–310.
- MAYR EE (1998) O desenvolvimento do pensamento biológico – Diversidade, evolução e herança. Brasília – Ed. Universidade de Brasília.
- MAZZOLENI RC e SCHWINGEL PR (1999) Elasmobranch species landed in Itajaí Harbor Southern Brazil. *Notas Téc. FACIMAR*, 3: 111-118.
- MELO BF, BENINE RC, MARIGUELA TC E OLIVEIRA C (2011) A new species of *Tetragonopterus Cuvier*, 181 (Characiformes: Characidae: Tetragonopterinae) from the rio Jari, Amapá, northern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 9 (1): 49-56.
- MENDONÇA FF, OLIVEIRA C, GADIG OBF, FORESTI F (2011) Phylogeography and genetic population structure of Caribbean sharpnose shark *Rhizoprionodon porosus*. *Rev Fish Biol Fisheries*. 21:799–814. DOI 10.1007/s11160-011-9210-1.
- MENDONÇA FF, USSAMI LHF, HASHIMOTO DT, PEREIRA LHG, PORTO-FORESTI F, OLIVEIRA C, GADIG OBF, FORESTI F (2012) Identification and characterization of polymorphic microsatellite loci in the blue shark *Prionace glauca*, and cross-amplification in other shark species. *Journal of Fish Biology*, 80: 2643–2646.

- MENESES de LIMA JH, KOTAS JE, LIN CF (2000) A historical review of the Brazilian long-line fishery and catch of swordfish. Collective Volume of Scientific Papers, ICCAT, 51 (36): 1329 – 1358.
- MENEZES TS, SANTOD FN e CHAVES LCT (2003) Ocorrência da raia-viola, *Rhinobatus percellens* Walbaum, 1792 (Chondrichthyes; Rhinobatidae) no litoral de Sergipe. Anais da Semana da Pesquisa da Universidade Tiradentes, Aracajú.
- MENEZES NA (2011) Checklist dos peixes marinhos do Estado de São Paulo, Brasil. Biota Neotropica, 11: 1-14.
- MORA C, TITTENSOR DP, ADL S, SIMPSON AGB, WORM B (2011) How Many Species Are There on Earth and in the Ocean?. Plos One, 9, 8.
- MORITZ C, CICERO C (2004) DNA barcoding: promise and pitfalls. PLoS Biol, 2: 1529-1531.
- MYERS RA, BAUM JK, SHEPERD TD, POWERS SP, PETERSON CH (2007) Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean. Science 315: 1846-1850.
- ORTIZ MF (2010). Validação do DNA Barcoding como identificador de espécies: um estudo de ampla amostragem com o gênero *pseudoplatystoma* (siluriformes; pimelodidae) na Amazônia. Instituto Nacional de pesquisas da Amazônia programa de pós-graduação em genética, conservação e biologia evolutiva. Dissertação, 73p.
- PEQUEÑO G e LAMILLA J (1997) Las pesquerías de condriictios en Chile: primer análisis. Revista Biología Pesquera, 26: 13-24.
- PESTANO J, BROWN RP (1999) Geographical structuring of mtDNA in *Chalcides sexlineatus* within the island of Gran Canaria. Proceedings of the Royal Society of London, Series B, 266: 815–823.

- PILGRIM EM, JACKSON SA, SWENSON S, TURCSANYI I, FRIEDMAN E, WEIGT L, BAGLEY MJ (2011) Incorporation of DNA barcoding into a large-scale biomonitoring program: opportunities and pitfalls. *J N Am Benthol Soc* 30(1): 217–231.
- QUAGGIO ALC, KOTAS JE e HOSTIM M (2008) As capturas do tubarão-azul, *Prionace glauca* Linnaeus (Elasmobranchii, Carcharhinidae), na pescaria de espinhel de superfície (monofilamento), sediada em Itajaí (SC), Brasil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(1): 61-74.
- RACH J, DESALLE R, SARKAR IN, SCHIERWATER B e HADRYS H (2008) Character- based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in Odonata. *Proc. R. Soc. B.*, 275: 237-247.
- ROSA RS e LIMA FCT (2008) Peixe. In. MACHADO ABM, DRUMMOND GM, PAGLIA AP. Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção. Brasil, DF: MMA. v.2.
- RUBINOFF D (2006) Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation. *Conserv. Biol.*, 4: 1026-1033.
- SAITOU N e NEI M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406-425.
- SAITOH K, MIYA M, INOUE JG, ISHIGURO NB, NISHIDA M (2003) Mitochondial genomes of ostariophysan fishes: Perspectives on phylogeny and biogeography. *J Mol Evol.* 56: 464-472.
- SBEEL (2005) Plano Nacional para Conservação e Manejo dos Estoques de Peixes Elasmobrânquios no Brasil. Recife: Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobrânquios - SBEEL. 100p.
- SCHNEIDER H (2003) Métodos de análises filogenética: um guia prático – Ribeirão Preto. Ed. Holos.

- SEMBIRING A, PERTIW NPD, MAHARDINI A, WULANDARI R, KURNIASIH EM, KUNCORO AW, CAHYANI NKD, ANGGORO AW, ULFA M, MADDUPPA H, CARPENTER KE, BARBER PH, MAHARDIKA GN (2015) DNA barcoding reveals targeted fisheries for endangered sharks in Indonesia. *Fisheries Research*, 164: 130–134.
- SMITH MA, FISHER BL e HEBERT PDN (2005) DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 360: 1825–1834.
- SMITH PJ, MCVEAGH SM, STEINKE D (2008) DNA barcoding for the identification of smoked fish products. *J Fish Biol.*, 72: 464-471.
- SNELSON FF, ROMAN BL e BURGESS GH (2008) The reproductive biology of pelagic elasmobranchs. In: *Sharks of the Open Ocean: Biology, Fisheries and Conservation* (eds. Camhi MD, Pikitch EK & Babcock EA). Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- SHIVJI MS, CLARKE S, PANK M, NATANSON L, KOHLER N, STANHOPE M (2002) Genetic Identification of Pelagic Shark Body Parts for Conservation and Trade Monitoring. *Conservation Biology*, 16: 1036-1047.
- TAUTZ D, ARCTANDER P, MINELLI A, THOMAS RH, VOGLER AP (2003) A plea for DNA taxonomy. *Trends Ecol Evol*, 18:70–74.
- TELETSCHEA F, MAUDET C, HANNI C (2005) Food and forensic molecular identification: update and challenges. *Trends in Biotechnology*, 23 (7): 359-366.
- THACKER CE (2003) Molecular phylogeny of the gobioid fishes (Teleostei: Perciformes: Gobioidae). *Mol Phylogenet Evol*, 26: 354-368.
- TOMÁS ARG, GOMES UL, FERREIRA BP (2010) Distribuição temporal dos elasmobrânquios na pesca de pequena escala da Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Bol. Inst. Pesca*, 36(4): 317-324.

- WARD RD, ZEMLAK TS, INNES BH, LAST PR, HEBERT PDN (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B*, 360: 1847–1857.
- WARES JP E CUNNINGHAM CW (2001) Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution* 12: 2455–2469.
- WETHERBEE BM e CORTÉS E (2004) Food consumption and feeding habits. In: *Biology of Sharks and Their Relatives*. Carrier, J. C.; Musick, J. A. & Heithaus, M. R. (eds.). Boca Raton, CRC Press. 225 - 246.
- WILEY EO (1975) KARL RP, Systematics, and classification: a reply to Walter bock and other evolutionary taxonomists. *Systemtic Zoology*, 24: 233-243.
- WILSON EO (2000) A global map of biodiversity. *Science* 289:2279.
- YAO H, SONG JY, MA XY, LIU C, LI Y, XU HX, HAN JP, DUAN LS, CHEN SL (2009) Identification of *Dendrobium* species by a candidate DNA barcode sequence: the chloroplast psbA-trnH intergenic region. *Planta Med* 75: 667–669.