UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ESTRUTURAL E FUNCIONAL

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

Dissertação de Mestrado

Estrutura genética populacional do tubarão *Squalus albicaudus* (*Chondrichthyes*: Squaliformes) no oceano Atlântico, com base em marcadores genéticos moleculares

Aisni Mayumi Corrêa de Lima Adachi

Botucatu-SP

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ESTRUTURAL E FUNCIONAL

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

Estrutura genética populacional do tubarão *Squalus albicaudus* (Chondrichthyes: Squaliformes) no oceano Atlântico, com base em marcadores genéticos moleculares

Aluna: Aisni Mayumi Corrêa de Lima Adachi

Orientador: Prof. Dr. Fausto Foresti

Coorientadora: Dra. Vanessa Paes da Cruz

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Botucatu - SP

2022

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

Adachi, Aisni Mayumi Corrêa de Lima.
Estrutura genética populacional do tubarão Squalus albicaudus (Chondrichthyes: Squaliformes) no oceano Atlântico, com base em marcadores genéticos moleculares / Aisni Mayumi Corrêa de Lima Adachi. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Fausto Foresti
Coorientador: Vanessa Paes da Cruz
Capes: 20406010

1. Elasmobrânquios. 2. Peixe - Populações. 3. Tubarão (Peixe). 4. Genética populacional. 5. Marcadores genéticos. 6. Polimorfismo de nucleotídeo único.

Palavras-chave: Elasmobrânquios; Genética populacional; Peixe; SNPs.

Dedico a minha mãe, que sempre apoia os meus sonhos.

Agradecimentos

Agradeço a minha família que me apoio durante a vida acadêmica, começando pela graduação, principalmente a minha mãe Noemi e minha Tia Roseli, a minha prima Aiesca e aos meus primos Branco e Ju, que foram meus exemplos para estudar.

Ao meu orientador Fausto Foresti, pelos conselhos, paciência e sabedoria não apenas acadêmicos mas também vivências e a minha coorientadora Vanessa, que se tornou uma amiga com os melhores conselhos.

Ao professor Cláudio, que apesar de não me orientar no papel sempre esteve ao meu lado dando suporte e auxílio.

A minha amiga Giovana e aos meus amigos Bruno e Pablo, que estão ao meu lado desde a graduação e fizeram parte da "Equipe dos Ics" e agora para a vida.

E aos meus amigos e amigas do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes: Ailton, Bia B., Bia D., Fabi, Gabi, Mari, Najila, Nana, Sil e aos agregados do laboratório Ana Ju, Vi , Ingrid e Helo, se eu cheguei até aqui também foi graças a vocês também.

Por fim, agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológica (Zoologia) da Unesp de Botucatu, ao Instituto de Biotecnologia (IBETEC- Unesp Botucatu), e ao órgão de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - Processo 2019/15148-0) no qual a minha bolsa de estudo foi concedida, e assim proporcionaram a realização do meu mestrado.

Resumo

A pesca excessiva acarretam mudanças na estratégia de vida das populações dos organismos, especialmente com relação aos tubarões e raias, organismos que compõem o grupo dos elasmobrânquios. Assim, compreender a estrutura das populações torna-se uma importante ferramenta de conservação e manejo dos estoques de peixes. O gênero *Squalus* (família Squalidae) é atualmente composto por 35 espécies de tubarões que são popularmente chamados de cação-bagre. Este gênero constitui um dos grupos de tubarões mais problemáticos taxonomicamente devido a grande similaridade morfológica entre as suas espécies. No oceano Atlântico existem cerca de 11 espécies do gênero *Squalus*; contudo, no litoral brasileiro essas espécies nunca tiveram suas populações analisadas. Em decorrência desses fatores e da escassez de dados sobre a espécie *Squalus albicaudus* que ocorre na região Nordeste e Sudeste do Brasil, estão atualmente classificados como "dados deficientes" na Lista Vermelha da IUCN (*International Union for Conservation of Nature)*. Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo principal rastrear marcadores do tipo SNPs (Polimorfismo de Nucleotídeo Único) para avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional da espécie *S. albicaudus* de ocorrência nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil . Uma biblioteca de *ddRADSeq* foi gerada a partir de 31 amostras de *S. albicaudus* obtidas em localidades do litoral de Pernambuco (n=14), Rio de Janeiro (n=4) e São Paulo (n=13). O rastreio dos marcadores foi realizado após o sequenciamento, sendo obtidos 455 SNPs. Os índices de diversidade genética foram baixos, tanto para a heterozigosidade observada quanto para a heterozigosidade esperada e o coeficiente de endogamia (F_{IS}) foi negativo em todas as localidades analisadas, indicando um excesso de heterozigotos; o F_{ST} *pairwise* variou de 0.0365 (Rio de Janeiro x São Paulo) a 0,0157 (Pernambuco x São Paulo), demonstrando ausência de estruturação populacional. As análises de STRUCTURE e DAPC indicaram que os indivíduos pertecem a um agrupamento genético que estão distribuídos nas mesmas proporções entre as localidades e que estão relacionados; sendo que um alto fluxo gênico foi detectado entre os indivíduos, calculado pela estimativa do número de migrantes. O tamanho efetivo populacional (Ne) foi baixo. Neste primeiro estudo de avaliação da diversidade genética e da estruturação populacional da espécie *S. albicaudus*, os resultados obtidos apresentam evidências da ocorrência de panmixia para as localidades analisadas. Considera-se, pois, as informações obtidas essenciais para o conhecimento do estoque desta espécie, além de ressaltar a necessidade de estudos para o manejo adequado e sua conservação.

Abstract

Overfishing causes changes in the life strategy of populations of organisms, especially in relation to sharks and rays, organisms that make up the group of elasmobranchs. Thus, understanding the structure of populations becomes an important tool for the conservation and management of fish stocks. The genus Squalus (family Squalidae) is currently composed of 35 species of sharks that are popularly called dogfish**.** This genus constitutes one of the most taxonomically problematic groups of sharks due to the great morphological similarity between their species**.** Besides the fact in the Atlantic Ocean there are about 11 species of the genus Squalus; however, these species of this group have never had their populations analyzed in the Brazilian coast. As a result of these factors and the scarcity of data on the species *Squalus albicadus* that occurs in the Northeast and Southeast regions of Brazil, they are currently classified as "data deficient" on the IUCN Red List (International Union for Conservation of Nature). In this context, the main objective of the present study is to track SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) markers to assess the genetic diversity and population structure of the species *S. albicaudus* occurring in the Northeast and Southeast regions of Brazil. A *dd*RADSeq library was generated from 31 samples of *S. albicaudus* obtained from coastal locations in Pernambuco (n=14), Rio de Janeiro (n=4) and São Paulo (n=13). Marker screening was performed after sequencing, and 455 SNPs were obtained. The genetic diversity indices were low for both observed and expected heterozygosity and the inbreeding coefficient (FIS) was negative in all analyzed locations, indicating an excess of heterozygotes; the pairwise FST ranged from 0.0365 (Rio de Janeiro x São Paulo) to 0.0157 (Pernambuco x São Paulo), demonstrating the absence of population structuring. The STRUCTURE and DAPC analyzes indicated that the individuals belong to a genetic grouping that are distributed in the same proportions among the localities and that they are related; and a high gene flow was detected between individuals, calculated by estimating the number of migrants. The effective population size (Ne) was low. In this first study to evaluate the genetic diversity and population structure of the species *S. albicaudus*, the results obtained show evidence of the occurrence of panmixia for the analyzed localities. Therefore, the information obtained is considered essential for the knowledge of the stock of this species, in addition to emphasizing the need for studies for proper management and conservation.

Sumário

1 INTRODUÇÃO 1
1.1 Informações gerais sobre os Elasmobrânquios 1
1.2 Família Squalidae, gênero *Squalus* 1
1.3 *Squalus albicaudus* 3
1.4 Genética molecular na conservação 4
1.5 Marcador molecular SNPs (Polimorfismo de Nucleotído Único) 4
2 OBJETIVOS 5
3 MATERIAL E MÉTODOS 6
Obtenção das amostras 6
4 MÉTODOS 7
4.1 Obtenção de DNA 7
4.2 Elaboração das biblioteca de SNPs 7
4.3 Análises dos SNPs 9
4.4 Diversidade genética 10
4.5 Estrutura populacional 10
4.6 Tamanho efetivo populacional e número efetivo de migrantes 11
5 RESULTADOS 11
5.1 SNPs 11
5.2 Diversidade genética 12
5.3 Estruturação populacional 13
5.4 Número efetivo populacional e número de migrantes 14
6 Discussão 15
Diversidade genética e conectividade 16
7 REFERÊNCIAS 19
APÊNDICE 1 28
APÊNDICE 2 29
APÊNDICE 3 30
APÊNDICE 4 31
APÊNDICE 5 33
Produção bibliográfica e científca, desenvolvida durante o mestrado 34

1 INTRODUÇÃO

1.1 Informações gerais sobre os Elasmobrânquios

Os tubarões, raias e quimeras, mais conhecidos como peixes cartilaginosos pertencem à classe Chondrichthyes (Compagno *et al.* 1990), apresentando algumas divisões como a infraclasse Elasmobranchii, que compreende os tubarões e as raias, com mais de 1160 espécies descritas e a subclasse Holocephali que engloba as quimeras (Nelson *et al*., 2016; Weigmann, 2016).

Muitas das espécies da infraclasse Elasmobranchii, apresentam um complexo histórico de vida, que se caracteriza por baixas taxas de crescimento populacional e sobrevivência, tornando-as mais sensíveis à mortalidade elevada determinada pela sobrepesca e por efeitos antrópicos no ambiente (Dulvy *et al.*, 2014). Dentre tais características destacam-se o crescimento lento, maturidade sexual tardia, expectativa de vida relativamente longa, baixa fecundidade e restrita frequência reprodutiva, além dos componentes deste grupo exibirem longos períodos de gestação e alguns dos mais altos níveis de investimento materno entre os vertebrados (Cortés, 2000), essas características podem variar para cada espécie, além disso, no oceano o risco de extinção tem aumentado com o crescimento das populações humanas e a intensificação da pesca associada a indústria e o rápido desenvolvimento das costas marinhas (Dulvy *et al*., 2021)

A redução populacional dos elasmobrânquios podem causar inúmeras consequências negativas ecológicas, como nas cascatas tróficas, que podem ter o efeito de cima para baixo (Myers *et al.*, 2007; Ferretti *et al.*, 2010; Dulvy *et al*., 2021; Pacoureau *et al*., 2021). Portanto, esses animais são essenciais para a regulação de todo o ecossistema, por serem predadores de topo de cadeia, auxiliam no equilíbrio em diversos níveis tróficos, auxiliando na manutenção da diversidade no ambiente marinho (Camhi *et al.*, 1998; Grubbs *et al*., 2016). A regulação nos níveis tróficos mais baixos da cadeia alimentar pode esta diretamente relacionada não apenas a uma espécie específica mas a diversas espécies.

1.2 Família Squalidae, gênero *Squalus*

Entre os tubarões, a família Squalidae Blainville, 1816 é composta por dois gêneros, *Squalus* Linnaeus, 1758 (gênero-tipo) e *Cirrhigaleus* Tanaka, 1912 (Bigelow &

Schroeder, 1957). Atualmente existem cerca de 64 espécies nominais disponíveis nesta família, cujas descrições originais em sua maioria são pouco informativas, existindo vários casos de identificação equivocada. Além disso, a perda do holótipo ou outros tipos primários de identificação das espécies nominais constituem empecilhos secundários para o estabelecimento das relações entre os componentes desta família, contribuindo ainda hoje para a utilização de sinônimos (Viana *et al.*, 2016; Fricke *et al.*, 2021).

O gênero *Squalus* é um dos grupos taxonomicamente mais problemáticos entre as espécies de tubarões, sendo que a complexidade taxonômica foi altamente potencializada pela alta sobreposição de caracteres morfológicos entre as espécies, já que a identificação das mesmas se dá muitas vezes por meio de caracteres limitados e insuficientemente consistentes, como contagem de vértebras e certas medidas corporais (Veríssimo *et al.*, 2017; Pfleger *et al.*, 2018). São reconhecidas atualmente 35 espécies válidas neste gênero, popularmente conhecidas como cações-bagre e, entre estas, podem ser citadas *Squalus acanthias* Linnaeus, 1758 (espécie-tipo); *S. blainvillei* (Risso, 1826); *S. suckleyi* (Girard, 1854); *S. megalops* (Macleay, 1881); *S. mitsukurii* Jordan & Snyder (1903); *S. japonicus* Ishikawa, 1908; *S. brevirostris* Tanaka, 1912; *S. griffini* Phillipps, 1931; *S. montalbani* Whitley, 1931; *S. cubensis* Howell-Rivero, 1936; *S. melanurus* Fourmanoir & Rivaton, 1979; *S. rancureli* Fourmanoir & Rivaton, 1979; *S. clarkae* (Pfleger *et al.*, 2018) e mais 13 espécies recentemente descritas nos oceanos Índico e Pacífico (Baranes, 2003; Last *et al.*, 2007; White, Iglésias, 2011). De maneira geral, as espécies de *Squalus* estão distribuídas nos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico, sendo considerados tubarões de pequeno porte que podem atingir tamanho de até 1,5 m (Compagno *et al.*, 2005).

Figura 1 - Exemplar da espécie *Squalus albicaudus* de ocorrência no oceano Atlântico. *Foto: Sarah Tházia Vianna de Figueiredo*.

As espécies de *Squalus* estão divididas em três complexos ou "grupos de espécies", de acordo com a similaridade morfológica, como o grupo *S. acanthias*, grupo *S. megalops* e grupo *S. mitsukurii*, podendo ou não representar grupos monofiléticos (Bigelow & Schroeder, 1957). Estudos taxonômicos regionais ou globais sobre o gênero ainda seguem esta divisão em complexos ou "grupos de espécies", refletindo claramente a dificuldade em se atribuir caracteres morfológicos eficientes para a identificação correta das espécies do grupo (Compagno *et al.*, 2005; Ebert *et al.*, 2010).

Segundo Pfleger *et al*. (2018), muitas espécies descritas morfologicamente que ocorrem nas regiões costeiras do Brasil podem ser as mesmas já descritas por outros pesquisadores, como *S. cubensis* (Howell-Rivero, 1936), *S. megalops* (Howell-Rivero, 1936) e agora reatribuído como *S. albicaudus* (Viana *et al*., 2016). Além disso, este status taxonômico incerto dos táxons de *Squalus* tem dificultado a coleta de informações em nível de população e espécie, até mesmo impedindo uma correta avaliação dos estoques para a conservação destas espécies (Veríssimo *et al*., 2017). Tais informações muito provavelmente refletem o atual status dos componentes deste grupo na lista vermelha de espécies ameaçadas da IUCN (*International Union for Conservation of Nature*), onde grande parte das espécies está listada como "dados deficientes".

1.3 *Squalus albicaudus*

Squalus albicaudus Viana, Carvalho & Gomes, 2016 foi recentemente descrito por Viana *et al*. (2016) em uma revisão realizada no gênero *Squalus*. Esta espécie apresenta distribuição delimitada entre as regiões da costa da Bahia até São Paulo, essa espécie de tubarão é dermersal que pode atingir profundidades entre 195 e 421m (Pollom *et al*., 2020). A espécie *S. albicaudus* tem como principal característica de identificação a coloração branca em sua barbatana caudal, sendo conhecido popularmente como cação–bagre da cauda branca ou *whitetail dogfish* (Viana *et al*., 2016). Contudo, mesmo apresentando uma característica marcante em relação a sua coloração a identificação morfológica dessa espécie ainda é dificultada, visto que a coloração apresentada as vezes não é visível. Assim, a possibilidade de identificação incorreta e a falta de informações precisas sobre a espécie e populações, são fatores que determinam seu atual status na IUCN listada como "dados deficientes" (Pollom *et al*., 2020).

Diante do exposto, é de grande relevância a realização de estudos que ampliem o entendimento sobre esta espécie, contribuindo assim para a sua conservação, uma vez que há pouco estudos sobre essa espécie e nenhum sobre sua diversidade genética.

1.4 Genética molecular na conservação

Os estudos genéticos reforçam a importância da aplicabilidade de ferramentas moleculares, na identificação de espécies (Hajibabaei *et al.*, 2007) , fluxo gênico e populacional (Green *et al*., 2019; Andrade *et al*., 2021), para auxiliar na gestão e conservação dos elasmobrânquios (Dudgeon *et al*., 2012; Domingues *et al*., 2018; Johri *et al*., 2019).

Portanto, o investimento no conhecimento sobre processos adequados de identificação e da estrutura populacional de tubarões e raias constitui a base para ações de conservação, bem como para determinar os métodos mais eficientes a serem aplicados neste processo (Domingues *et al*. 2018; Dimens *et al*., 2019; Hohenlohe *et al*., 2020; Bernard *et al*., 2021).

A abordagem genômica para resolver problemas de conservação já havia sido revisada por diversos autores como Primmer (2009) e Allendorf *et al*. (2010); contudo, só a partir dos trabalhos como o de Funk *et al*. (2012) é que foram propostas bases metodológicas concretas para o uso de dados genômicos objetivando a obtenção de resultados mais exatos na determinação de Unidades de Conservação (UCs). Atualmente, estudos sugerem a utilização da abordagem genômica como uma ferramenta que integra simultaneamente informações históricas e recentes, oferecendo acesso às bases genéticas da variação adaptativa dos organismos e conservação das espécies (Benestan *et al*., 2016; Fuentes-Pardo *et al*., 2017; Rossetto *et al*., 2021)

Essa mudança só foi possível atráves dos avanços das tecnologias NGS (*Next-Generation Sequencing*), em que permitiu aos pesquisadores uma mudança da pesquisa genética para genômica, sendo uma ferramenta mais resolutiva do que o uso de marcadores genéticos tradicionais, deste modo trazendo mais informações que antes não eram possíveis (Allendorf *et al*., 2010; Kumar *et al*., 2016; Kraft *et al*., 2020; Mamoozadeh *et al*., 2020).

1.5 Marcador molecular SNPs (Polimorfismo de Núcleotídeo Único)

Abordagens genômicas recentes, que utilizam sequenciamento de fragmentos de DNA associados a sítios de restrição (RADseq) e abordagens derivadas como o *dd*RADseq, no qual se utiliza duas enzimas de restrição (Baird *et al*., 2008, Peterson *et al*., 2012; Andrews *et al*., 2016), permitiram a identificação de milhares de marcadores neutros e não neutros amplamente distribuídos no genoma, ou seja, os marcadores do tipo SNPs, em organismos não-modelo, permitindo assim o aumento da robustez para os

parâmetros genéticos populacionais, identificação de processos adaptativos, diretamente relacionados com respostas a processos de mudanças ambientais (Allendorf *et al*., 2010; Kelley *et al*., 2016).

Esse marcador genético vem se mostrando resolutivo, tornando uma ferramenta genética eficiente e viável para a investigação dos efeitos das variações do genoma e seu papel nos programas de conservação das espécies (Morin *et al.*, 2009; Allendorf *et al*., 2010; Crawford & Oleksiak, 2016; Hohenlohe *et al*., 2021). Tais características identificam este tipo de marcador como sendo ideal para estudos de conservação (Funk *et al*., 2012) e de genética populacional (Zhang *et al*., 2015; Cruz *et al*., 2016, Di Battista *et al*., 2017; Colloca *et al.*, 2020; Cruz *et al*., 2021).

Apesar dos avanços na genômica, os elasmobrânquios constituem um grupo pouco estudado com relação aos aspectos genéticos (Domingues *et al*, 2018 ; Ovenden *et al*., 2018; Pearce *et al*., 2021). Os estudos que foram mais realizados com elasmobrânquios tiveram como alvo as espécies de maior importância econômica, como por exemplo os tubarões da família Carcharhinidae, sendo os mais representados na literatura (Pazmiño *et al*., 2018; Johri *et al*., 2019; Bernard *et al*., 2021). Portanto, quando comparado aos estudos com outras espécies de tubarões, o grupo representado pela família Squalidae tem recebido menos atenção.

Portanto, estudos genéticos tem um grande potencial para aumentar a nossa compreensão sobre a amplitude da biodiversidade, sobre o comportamento e conservação das espécies e populações (Oleksiak, M.F, 2016; Mamoozadeh *et al*. 2020; Pearce *et al*., 2021).

Desta forma, em relação a espécie *S. albicaudus* que não há estudos sobre as informações genético-populacionais, foi testada a hipótese de panmixia em *S. albicaudus*, a existência ou não de estrutura genética entre as populações dessa espécie nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil.

2 OBJETIVOS

Considerando-se a grande deficiência de dados moleculares disponíveis para os representantes do gênero *Squalus*, que se constituem ferramenta determinante para fornecer informações importantes em estudos populacionais e de conservação, no presente trabalho é proposto como principal objetivo a caracterização genética populacional da espécie de tubarão *S. albicaudus* que ocorre em localidades da sua distribuição na região

oeste do Oceano Atlântico. De modo específico, pretende se:

- identificar os limites geográficos de distribuição das possíveis populações desta espécie com a utilização de marcadores moleculares do tipo SNP (Polimorfismo de Nucleotídeo Único);

-verificar a diversidade genética e a estruturação populacional da espécie, utilizando os marcadores SNPs;

- testar a hipótese de panmixia;

3 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das amostras

No presente estudo foram analisadas amostras de *S. albicaudus* coletadas em três localidades nas regiões Nordeste e Sudoeste da costa brasileira. A coleção de tecidos do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes. Os fragmentos de tecido obtidos dos indivíduos coletados foram armazenados em frascos contendo álcool a 95%, conforme indicado na Figura 2, totalizando 31 amostras obtidas nas localidades de Recife-PE (N=14), Angra dos Reis-RJ (N=4) e Santos-SP (N=13).

Os indivíduos dos quais foram retiradas as amostras foram identificados morfologicamente pelos pesquisadores Dr. Fabio Hazin (UFRPE-Recife / PE), Dr. Marcelo Vianna (UFRJ- Rio de Janeiro/ RJ) e Dr. Mateus M. Rotundo (UNISANTA-Santos/SP), colaboradores deste projeto.

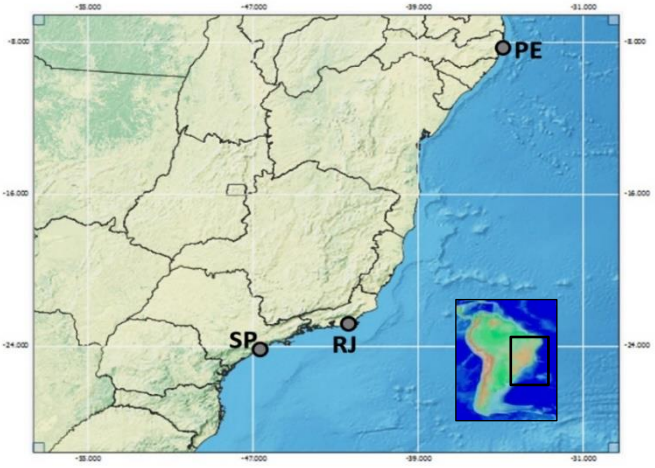

Figura 2. Mapa da costa brasileira indicando as regiões de coleta das espécies analisadas no presente estudo. Recife–PE (N=14), Angra dos Reis-RJ (N=4) e Santos-SP (N=13).

4 MÉTODOS

4.1 Obtenção de DNA

O DNA total das amostras foi extraído de fragmentos de tecido muscular preservado em etanol utilizando o kit Wizard ® Genomic DNA Purification (Promega, EUA), seguindo instruções do fabricante.

4.2 Elaboração das biblioteca de SNPs

Após a extração de DNA foram elaboradas as bibliotecas de SNPs com verificação na qualidade dos produtos, sendo, então, o DNA das amostras quantificado em um aparelho Qubit 4.0 Fluorometer (Invitrogen) utilizando o Qubit TM dsDNA BR Assay Kit. Após as etapas de quantificação, as amostras de DNA foram padronizadas para uma concentração final de 200ng/ul.

O protocolo utilizado para a preparação da biblioteca de *dd*RADSeq foi descrito por Peterson *et al.* (2012) e adaptado por Campos *et al.* (2017). Então, seguindo o protocolo adaptado para a reação de dupla digestão enzimática, foram utilizados 34ul de DNA (200ng/µl), 1 µl de cada enzima EcoRI (20U/µl – corte raro) e *MspI* (10U/µl – corte frequente) (Perteson *et al*., 2012), 4µl TANGO buffer (Cut Smart) e um volume final de 40µl, sendo o produto para digestão incubado por três horas a uma temperatura de 37°C.

O material digerido foram purificadas utilizando o kit de beads Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, USA), de acordo com o protocolo do fabricante. Somente fragmentos de tamanhos selecionados entre 150 e 500 pares de bases foram purificados. Depois da purificação do DNA, as amostras foram quantificadas no Qubit 4.0 Fluorometer (Invitrogen), com a finalidade de se obter a concentração de DNA que havia após a etapa de purificação.

Ligação dos adaptadores

Para a ligação dos adaptadores foram utilizados um par de adaptadores hibridados P1 (0,3 µM) e P2 (4,8 µM) que foram ligados ao produto de digestão, com volume da reação final de 40µl e composta de 2,0 µl do adaptador de cada uma das enzimas, 4µl de T4 Ligase Buffer 1X (Promega), 0,5µl da enzima T4 Ligase (Promega) e 31,5µl das

amostras digeridas. Em seguida, as amostras foram incubadas a uma temperatura a 23°C em 30 minutos, a 65°C por 10 minutos e a 63°C por 90 segundos, sendo que a temperatura foi diminuída de cada 2°C a cada 90 segundos, até alcançar 23°C. Em seguida, as amostras da reação de ligação aos adaptadores foram purificadas novamente utilizando o kit de beads Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, USA), de acordo com o protocolo do fabricante.

Indexação

Após as etapas de ligação dos adaptadores, foi realizada a reação de indexação, com inserção da sequência de complemento Nextera® Index Primers (Illumina, San Diego EUA) S500 e N700 (Nextera DNA CD Indexes – 96 indexes, 96 samples) em cada amostra, para realizar a indexação com o Nextera® DNA Sample Preparation Kit (Illumina) nos insertos ligados aos adaptadores. A reação de indexação contendo 15µl do produto de ligação, 5µl de cada index S500 e N700 para que cada amostra tivesse uma combinação única de index, 25µl de Phusion High -Fidelity PCR Master Mix (Thermo Scientific), para um volume final de 50µl. A reação de PCR para indexação foi seguindo etapas consecutivas, com um passo inicial a 72°C por 3 minutos e após, duas etapas de desnaturação a 95°C por 30 segundos, seguindo-se 16 ciclos a 95°C por 30 segundos, um passo de anelamento a 55°C por 30 segundos, um passo de extensão a 72°C por 30 segundos e a extensão final a 72°C por 5 minutos. Após a reação de PCR, os amplicons foram purificados com as *beads* Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, USA), de acordo com o protocolo do fabricante.

Pool das amostras

As amostras purificadas foram quantificadas no Qubit 4.0 Fluorometer (Invitrogen), para a padronização em uma concentração de aproximadamente a 10ng/µl para cada amostra e, em seguida, foi feito um pool dessas amostras purificadas com as beads Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, USA). O produto purificado foi então quantificado no Qubit 4.0 Fluorometer (Invitrogen).

Size selection e sequenciamento

Posteriormente à quantificação do *pool*, foi realizado o *size selection* com a finalidade de selecionar o tamanho dos fragmentos de interesse, utilizando o kit *Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega, EUA), em gel de agarose com a

concentração de 1%, após a solidificação do gel, aplicamos o pool das amostras no gel, após a eletroforese, com a seleção do fragmento de interesse entre 300 a 500 pb. Ao final, foi realizado a purificação do fragmento, seguindo instruções do fabricante. Em seguida, a biblioteca foi quantificada por PCR em tempo real (qPCR) e, desta forma, foi possível determinar a concentração da biblioteca para o sequenciamento.

A biblioteca resultante do *pool* de amostras foi normalizada com relação à concentração e, em seguida, carregadas no cartucho de reagente Illumina. A biblioteca foi sequenciada com leituras de extremidade única (*single-end*) de 150pb em uma faixa da plataforma NGS Illumina Nextseq550 (IBTEC– UNESP, campus Botucatu/SP), em colaboração com Prof. Dr. Paulo Eduardo M. Ribolla.

4.3 Análises dos SNPs

As *reads* (*raw data*) obtidas do sequenciamento foram analisadas previamente para verificar a qualidade utilizando dois programas, sendo eles o FastQC em que fornece informações para verificação do controle de qualidade das *reads*, que pode ser usado para uma impressão rápida de cada sequência (Andrews, 2010) (Disponível em bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/) e o MultiQC que resume os dados do FastQC, ou seja sumariza as sequências de todas as amostras em um único relatório (Ewels *et al*.,2016) (Disponível em github.com/ewels/MultiQC).

Os resultados gerados por meio destes programas permitem visualizar, através de gráficos, a qualidade das amostras, como a presença de sequências dos adaptadores usados na construção da biblioteca, *reads* que apresentam um *Phred Quality Score* (10-60) de qualidade e o tamanhos das *reads* em pares de base (pb). Posteriormente foram realizadas as filtragens de remoção dos adaptadores e, em seguida, *reads* com qualidade abaixo de *Phred Quality* < 20 (Q20) foram removidas e para essas duas filtragens, foram realizadas utilizando o programa TRIMMOMATIC v.o.32 (Bolger *et al*., 2014). Além disso, foi realizada a digestão *in silico* segundo Driller *et al.* (2020) para remoção de *reads* que apresentaram regiões de sítios enzimáticos e, ao final, as *reads* foram padronizadas com 140 pb utilizando novamente o programa TRIMMOMATIC v.o.32 (Bolger *et al*., 2014).

Como a espécie estudada nesta pesquisa não tem genoma de referência, a montagem do catálogo de marcadores e o rastreio de SNPs foram realizados utilizando a abordagem *de novo* e posteriormente o *ref map*, ambos com o uso da pipeline STACKS (Catchen *et al.*, 2011). A montagem do catálogo de marcadores em *S. albicaudus* foi desenvolvida

com indivíduos selecionados que apresentaram o maior número de *reads*, ou seja, os indivíduos mais bem representados dentro de cada amostragem. Para o rastreio de SNPs foi utilizado o parâmetro M=2, que controla o número de incompatibilidades permitidas entre os dois alelos de um determinado loci e o parametro m=3, que controla o número de leituras idênticas mínimas necessárias para iniciar um possível alelo.

Com o catálogo de marcadores desenvolvido foi construída a referência utilizando o software *Bowtie2* (v2.2.4). Ao final foi utilizada a pipeline *Ref map* do STACKS com a aplicação de três filtros de SNPs. Assim, primeiramente foram selecionados SNPs que ocorrem em pelo menos 70% dos indivíduos (r = 0,70) por população; em seguida foi aplicado um filtro com o qual foram excluídos SNPs que apresentaram valor de MAF (*Minor allele frequency*) <0,05 e, por último, realizamos a filtragem dos SNPs que tiveram a heterozigosidade máxima observada maior que 0.80, eliminando assim, sítios com níveis muito alto de heterozigosidade.

4.4 Diversidade genética

Os alelos privados foram calculados utilizando o programa *populations*, do STACKS. Para a investigação da diversidade genética foram analisados o coeficiente de endogamia (F_{IS}) e a probabilidade de desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE p-value) calculada através de teste exato. Esses parâmetros foram calculados utilizando o programa GENEPOP v4.1.0 (Rousset, 2008). A heterozigosidade observada (Ho) e Heterozigosidade esperada (He), foi utilizado o programa ARLEQUIN v3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010). Para avaliar os desvios do Equilíbrio de Hardy Weinberg (EHW), nos conjuntos de dados, foram realizados testes de Bartlett globais entre heterozigosidade observada e esperada no pacote adegenet v. 2.1.1 do programa R (Jombart, Ahmed, 2011).

4.5 Estrutura populacional

Para avaliar a diferenciação genética entre os locais de amostragem foram calculados os valores de F_{ST} *pairwise* no ARLEQUIN v.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010).

Para testar a partição das amostras em clusters genéticos foi utilizada a análise bayesiana através do software STRUCTURE (Pritchard *et al*., 2000), com k=1 a k=5 e com 1.000.000 de MCMC e burn-in de 10%, com 20 interações para cada K. A identificação do número de clusters genéticos (k) foi feita através do método Evanno (ΔK) (Evanno *et al*., 2005) e pelo método de Puechmaille (Puechmaille, 2016), usando o

Structure Selector (Li & Liu, 2018). Os gráficos foram visualizados no CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015).

Adicionalmente, uma análise discriminante de componentes principais (DAPC) proposta por Jombart *et al.* (2010) também foi realizada para estimar os clusteres genéticos. Esta análise foi implementada no pacote *adegenet* v. 2.1.1. do programa R (Jombart, Ahmed, 2011) e o número apropriado de *clusters* genéticos foi determinado utilizando critério de informação bayesiana (Bayesian Information Criterion – BIC).

4.6 Tamanho efetivo populacional e número efetivo de migrantes

Para os conjuntos de dados, NEESTIMATOR v. 2 (Do *et al.*, 2014) foi usado para calcular o tamanho efetivo populacional (Ne) sob desequilíbrio de ligação. As configurações no NESTIMATOR consideraram a triagem de alelos raros usando o valor de frequência do alelo crítico de Pcrit = 0,05, 0,02 e 0,01 (Waples & Do, 2010). Os limites superior e inferior dos intervalos de confiança de 95% para Ne foram calculados usando a opção jackknife, a fim de reduzir um potencial viés associado à estimativa da abordagem dos intervalos de confiança ao método de desequilíbrio de ligação. Para investigar a direção e a magnitude da migração entre os locais de amostragem foram calculadas as taxas de migração relativa direcional usando a função do divMigrate (Sundqvist *et al.*, 2016) no pacote R diveRsity (Keenan *et al.* 2013), fornecendo as estimativas do fluxo gênico com base no número de migrantes (Nm) com 1000 de bootstrap.

5 RESULTADOS

5.1 SNPs

A biblioteca de *dd*RAD para a espécie *S. albicaudus* de 31 indivíduos resultou em um total de 41.401.332 *reads*, variando de 788.342 a 2.696.970, por indíviduo. Após o processo de filtragem por bioinformática foram mantidas 29.612.986 *reads*, variando de 756.609 a 1.407.947 (Apêndice 1). A qualidade das sequências foi verificada com o uso do FastQC e MULTIQC antes e depois das filtragens (Apêndice 2).

O rastreio de marcadores resultou em um total de em 455 marcadores SNPs. A figura 3, demonstrada em um gráfico, representa a heterozigosidade esperada no eixo y e a heterosigosidade observada no eixo x, por locus, demonstrando a distribuição dos SNPs.

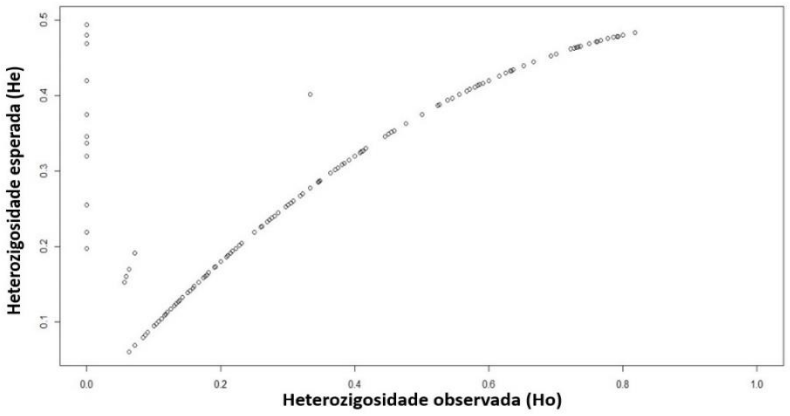

Figura 3. Gráfico demonstrando a heterozigosidade esperada como uma função da heterozigosidade observada por locus.

5.2 Diversidade genética

As análises dos dados moleculares foi realizada com 455 marcadores SNPs, os quais foram submetidos a análises estatísticas em 31 amostras de *S. albicaudus*, distribuídos nas localidades de Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo.

Para obtenção de dados populacionais, foi calculado o número de alelos privados, em cada localidade, com resultados que revelaram 30 alelos para Pernambuco, 2 para as amostras do Rio de Janeiro e 17 para as amostras de São Paulo. Em todas as localidades a heterozigosidade observada (Ho) apresentou um valor superior ao da heterozigosidade esperada (He), sendo que estes valores foram Ho=0,386 e He= 0,266 para Pernambuco, Ho=0,423 e He=0,377 para Rio de Janeiro, Ho=0,230 e He=0,212 para São Paulo. As diferenças entre as variações de heterozigosidade observada e esperada em todos as localidades de amostragem, são estatisticamente significativas (K-quadrado de Bartlett = 158,81, d.f. = 1, P = $2,2 \times 10^{16}$), onde Ho (Ho geral = 0,348) é estatisticamente diferente de He (He geral = 0,288), sugerindo que a população global se afasta de EHW.

Os valores de índice de fixação ou coeficiente de endogamia (F_{IS}) foram negativos para todas as localidades amostradas, indicando que não há presença de endogamia nesses grupos. Pernambuco apresentou o valor de -0,233, Rio de Janeiro de -0,245 e São Paulo de -0,227, sendo que estes valores indicam ausência de endogamia.

5.3 Estruturação populacional

A análise pairwise de F_{ST}, entre as localidades não identificou valores de diferenciação genética, sendo de 0,0282 (p value 0,153±0,033) entre Pernambuco e Rio de Janeiro, entre Pernambuco e São Paulo de 0,0157 (p value 0.009±0.009) e de 0,0365 (p value 0.441±0.043) entre Rio de Janeiro e São Paulo, demonstrando a ausência de estruturação populacional.

A análise bayesiana realizada no STRUCTURE com base nos dados de agrupamentos (K=1-5), demonstrou que a maior probabilidade de clusters foi de k =3 ((ln (P) D) −579624 ± 0,62679), segundo as estimativas dos métodos de Evannno e Puchmaille (Apêndice 3). Mas apesar das estimativas dos métodos, o melhor valor de K foi igual a 1, visto que em todos os agrupamentos de K (K= 1-5), nos indicam que não há estruturação genética (Apêndice 4).

A Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC), que também foi realizada para estimar os clusteres genéticos em que o número apropriado foi determinado utilizando o critério de informação bayesiana (Bayesian Information Criterion – BIC), em que K foi igual a 1 (Apêndice 5), identificou três agrupamentos (as três localidades) que estão relacionados (Figura 5).

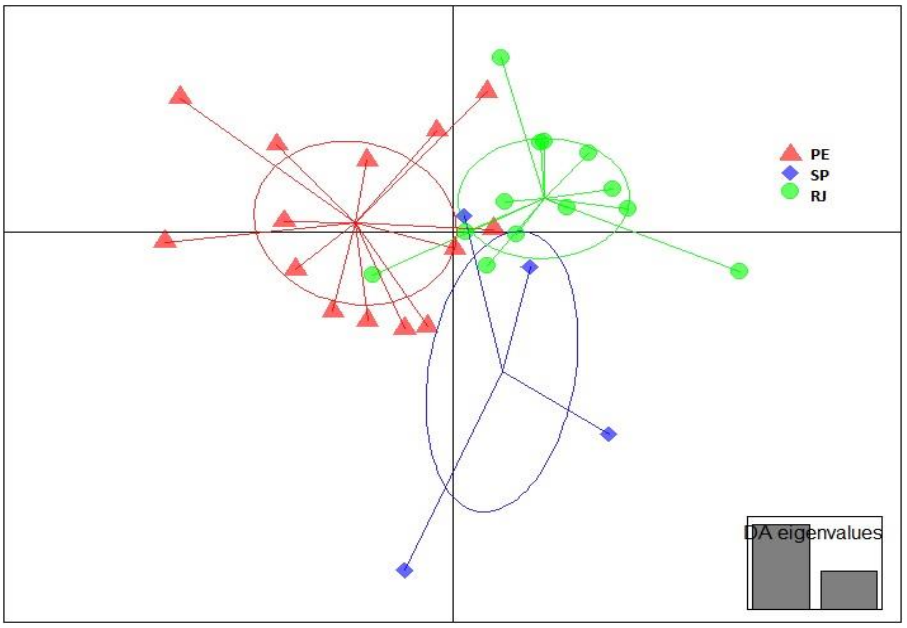

Figura 5. Gráfico do DAPC demonstrando os três agrupamentos que estão relacionados e indicado de acordo com as cores e símbolos da legenda. Elipses de inércia para cada agrupamento também estão demonstradas.

5.4 Número efetivo populacional e número de migrantes

Nas estimativas do tamanho efetivo populacional (Ne) houve diferenças obtidas com o NEESTIMATOR entre duas regiões Pernambuco e São Paulo, não foi possível calcular o Ne para a região do Rio Janeiro por causa do número de amostras analisas (n=4). As estimativas de Ne foram menores para a região PE (Ne = 69,9) e maior em SP (Ne = 140,5) (tabela 1), mas as populações demonstraram Ne baixo.

Tabela 1. Tamanho efetivo populacional (Ne), calculado através do programa NeEstimator, que utiliza a abordagem de desequilíbrio de ligação para as regiões deste estudo. Os valores de Ne são fornecidos para limiares de 0,05; 0,02 e 0,01 para a frequência alélica mais baixa usada. Os valores entre parênteses são os intervalos de confiança (IC) de 95% baseado em jackknifing em loci. n = tamanho da amostra. Valores 'infinitos' (∞) de Ne referem-se a casos em que não há evidência de variação da característica genética devido ao número finito de indivíduos parentais, ou pode ser explicado por erro de amostragem de acordo com Do *et al*, 2014.

		Menor frequência alélica		
Região	n	0,05	0,02	0,01
PE	14	69,9 (95% IC:17,6-42,6)	82,1 (95%IC: 20,3-49,5)	82,1(95%IC: 20,3-49,5)
RJ	4	∞	∞	∞
SP	13	140,5 (95%IC: 4,9-48,6)	180,3 (95%IC: 5,4-57,8)	180,3 (95%IC: 5,4-57,8)

As taxas de migração baseada em estimativas do número de migrante (Nm) entre as regiões analisadas demonstraram a existência de fluxo gênico entre as três localidades, com valores que variaram de 0,33 a 1,0 (Figura 6). Entre Pernambuco e Rio de Janeiro foi verificado que essas regiões mostraram um valor de fluxo gênico de 0,33 de migrantes de Pernambuco para Rio de Janeiro e de 0,77 de migrantes do Rio de Janeiro para o Pernambuco. Na mesma magnitude, verificou-se que o fluxo gênico observado entre as localidades de São Paulo e Rio de Janeiro mostrou valores de 0,44 migrantes do Rio de Janeiro para São Paulo e de 0,3 de migrantes de São Paulo para o Rio de Janeiro. Entre as localidades de Pernambuco e São Paulo foram demonstrados elevados valores de fluxo gênico, sendo de 0,83 de Pernambuco para São Paulo e de 1,0 de São Paulo para Pernambuco (Apêndice 5).

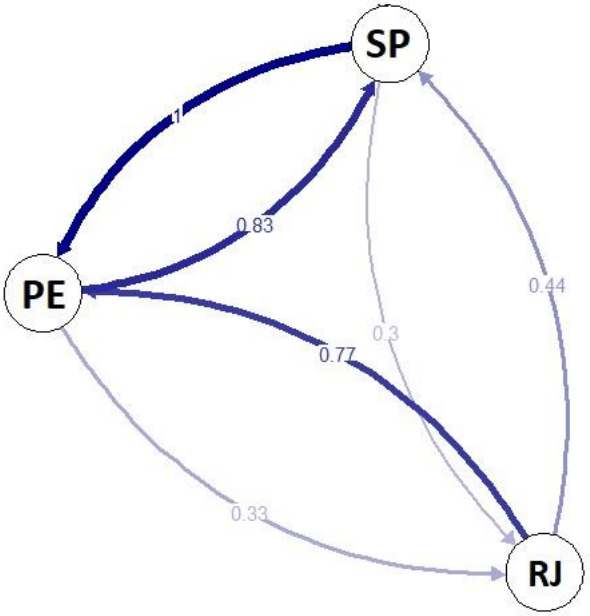

Figura 6. Rede de migração relativa entre as localidades abordadas no estudo das amostras de *Squalus albicaudus* coletadas em diferentes localidades da costa brasileira. As setas indicam a direção da migração, enquanto os números e a cor das setas em azul, indicam as taxas relativas de migração. Números mais altos e linhas mais grossas significam a intensidade do processo de migração.

6 Discussão

Este estudo apresenta a primeira avaliação de diversidade genética e estruturação populacional em *S. albicaudus* no Oceano Atlântico Sul Ocidental, na costa do Brasil. Com os resultados obtidos através dos marcadores SNPs foi possível detectar evidências de panmixia entre as regiões estudadas, abrangendo localidades do litoral dos estados de Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo. Foi identificada alta conectividade entre essas regiões através de análises de fluxo gênico e o Ne foi baixo, enfatizando a necessidade de atenção para a conservação dessa espécie, além disso, fornecendo informações importantes para ampliar o entendimento e distribuição da espécie, que ainda é pouco conhecido.

A falta de conhecimento sobre o cação-bagre *S. albicaudus* reflete sua atual classificação na lista vermelha de espécies ameaçadas da IUCN, que avaliou seu status populacional como “Dados Deficientes (DD)” (Pollom *et al*., 2020). Sua distribuição geográfica é descrita entre a costa dos Estados de São Paulo até a Bahia (Vianna *et al*., 2016 e IUCN 2021); contudo, este estudo analisou espécimes com ocorrência na costa

do Estado de Pernambuco, aumentando assim o conhecimento sobre a área de distribuição geográfica desta espécie.

Diversidade genética e conectividade

Squalus albicaudus é considerada uma espécie de tubarão residente da costa brasileira, contudo, sua pequena faixa de distribuição pode levar a uma maior sensibilidade intrínseca à superexploração. Essa atividade realizada de modo excessivo resulta em uma perda substancial de variação genética (Allendorf *et al.*, 2008) e consequentemente, aumenta a probabilidade da fixação de alelos deletérios na população, reduzindo a resiliência de espécies sobreexploradas (Hare *et al.*, 2011). Considera-se, que a diversidade genética é um dos índices importantes a serem considerados na gestão e realização de políticas de conservação neste grupo de organismos, uma vez que a sobrevivência a longo prazo de uma espécie é fortemente dependente dos níveis de diversidade genética dentro e entre as populações (Domingues *et al*., 2018; Hendricks *et al*., 2018; Hohenlohe *et al*., 2021; Rossetto *et al*., 2021).

As heterosigozidades identificadas neste estudo, indicam a presença de um excesso de heterozigotos em *S. albicaudus,* no qual os valores variaram de Hetersigozidade esperada (He) variou de 0,21 a 0,37 e a Heterozigosidade observada (Ho) variou de 0,23 a 0,42. Esta condição já foi observada em outros estudos realizados com o gênero *Carcharhinus* utilizando os marcadores do tipo SNP, sendo que na espécie *Carchahinus brachyurus* o valor de He variou de 0,23 a 0,29 e de Ho variou de 0,21 a 0,37. Na espécie *Carchahinus obscurus* o valor de He variou de 0,23 a 0,29 e o de Ho variou de 0,21 a 0,37 (Junge *et al.*, 2019). Os valores da diversidade genética encontrados na espécie em estudo foram parecidos, quando comparada em outras espécies de tubarões (Momigliano *et al*., 2017; Pazmiño *et al.*, 2018; Junge *et al*., 2019; Kraft *et al.*, 2020; Manuzzi *et al.*, 2021). Deve ser reforçado que o conhecimento sobre a diversidade genética é importante para futura ações de gestão da pesca, visto que apesar de não ter grande importância econômica, a espécie *S. albicaudus* sofre com a pressão pesqueira por *bycath* (Rincon *et al.*, 2017).

As informações sobre a conectividade das populações constituem aspectos importantes para estabelecer estratégias de conservação e de manejo das espécies e, entre os tubarões, o conhecimento de particularidades do comportamento das espécies podem ser um dos principais fatores que influenciam padrões de conectividade. *S. albicaudus* é uma espécie demersal, que vive em profundidades entre 50 e 400 metros,

segundo Vianna M. (*comunicação pessoal*), essa espécie habita e tem seu ótimo a uma profundidade em torno de 100 metros, com distribuição associada a águas frias, ou seja, essa espécie acompanha as águas mais frias que sobem do sul para as regiões ao norte do país, compondo principalmente as massas de água do talude continental. Além disso, já foi relatada a ocorrência de variação batimétrica entre os sexos em duas espécies deste gênero, *S. acanthias* e *S. megalops*, ou seja, machos e fêmeas se distribuem em profundidades distintas, sendo que os machos são capturados frequentemente em águas mais profundas do que as fêmeas em estado de maturação, causando assim uma suscetibilidade de um declínio populacional ainda maior com a pesca (Hazin *et al*., 2006; Jones *et al*., 2013; Shepherd *et al*., 2005).

Essas estratégias de vida podem aumentar a conectividade entre as regiões analisadas neste estudo, no qual o índice de fixação (F_{ST}) demonstraram ausência de estruturação genética entre as localidades. Na literatura, já é conhecido que tubarões que fazem longos movimentos oceânicos apresentam ausência ou baixa estrutura genética dentro do oceano ou em pequenas escalas entre regiões, como ocorre por exemplo com tubarões pelágicos como o tubarão-frade *Cetorhinus maximus*, o tubarão-baleia *Rhincodon typus* (Vignaud *et al*. 2014), o tubarão azul *Prionace glauca* (Veríssimo *et al*. 2017), tubarão boca grande *Megachasma pelagios* (Liu *et al*. 2018) e o tubarão tigre *Galeocerdo cuvier* (Bernard *et al*., 2021). Esta situação é diferente do que ocorre com tubarões costeiros que geralmente apresentam níveis de estruração populacional, como é o caso do tubarão-negro *Carcharhinus obscurus* (Benavides *et al*. 2011). Além disso, as análises de STRUCTURE e DAPC realizadas no presente estudo, também revelaram que os indivíduos correspondentes às amostras analizadas fazem parte de um agrupamento genético e que estão relacionados, corroborando com os demais indíces de estruturação.

A análise realizada com base no número de migrantes revelou a existência de fluxo gênico entre todas as localidades analisadas, demonstrando alta conectividade entre elas, sendo mais proeminente o número de indivíduos que estão imigrando para Pernambuco, nas comparações com as demais regiões. Uma estratégia de vida que poderia explicar o alto fluxo gênico entre os indivíduos e já identificada em *S. albicaudus* é o processo de reprodução poliândrica (Lamarca *et al*., 2020), definida como múltiplos machos fertilizando uma única fêmea e gerando uma ninhada mista (Daly-Engel *et al*., 2006). Os benefícios hipotéticos deste comportamento incluem a

manutenção ou aumento da diversidade genética de uma população (Hoekert *et al*., 2002), que pode determinar e aumentar o número de descendentes viáveis em uma única ninhada (Newcomer *et al*., 1999). Tal fato poderia interferir na probabilidade e risco de fertilização por espermatozóides geneticamente incompatíveis e também na diminuição da chance de depressão endogâmica (Chapman *et al*., 2004; Zeh & Zeh, 1997).

O Ne foi recentemente estimado para populações de vida selvagem devido á disponibilidade e refinamento dos estimadores genéticos (Waples, 2016). As estimativas observadas neste estudo foi um Ne baixo para as duas localidades: Pernambuco 69,9 a 82,1 e São Paulo 140,5 a 180,3 comparada com outros estudos de tubarão limão *Negaprion brevirostris* que entre as localidades estudadas variou de 11,5 (95% CI: 10.30–12.70) a 674,20 (95% CI: 157.30- ∞), o autor justifica que o menor valor de Ne foi provavelmente por causa do menor tamanho amostral e coletadas em tempo diferentes, em comparação as outras regiões (Postaire *et al.*, 2021). Entretanto, o Ne mínimo necessário para manter um potencial evolutivo de uma população tem sido assunto de muitos discussões, com limites de conservação proposto de 100 a 1000, utilizando o critério proposto por Frankham *et al* (2014), em que Ne = 100 é o mínimo para evitar uma depressão por endogamia a curto prazo e Ne = 1000 para manter o potencial evolutivo na perenidade. Mas o autor Frankham *et al* (2014), ressalta que as análises de viabilidade populacional precisam incorporar riscos genéticos mais realistas, para ser mais viável. O Ne deste estudo nos fornecem uma estimativa inicial do estado de conservação do *S. albicaudus*, em que pode ser informativo para as decisões de gestão e manejo futuro da espécie.

Posteriormente, a uma revisão taxonômica do gênero *Squalus*, no Oceano Atlântico sudoeste, o *Squalus cubensis* (Howell-Rivero, 1936) foi redescrito como *S. albicaudus* (Viana *et al*., 2016). Contudo, análise e descrição mais robusta sobre a sua distribuição são necessárias, de acordo com Rincon *et al*. (2017), onde foi realizado um levantamento científico em águas profundas como parte de um Programa Brasileiro de Avaliação dos Recursos Vivos da Zona Econômica Exclusiva (REVIZEE), uma provável espécime de *Squalus cf. albicaudus* foi capturado na encosta continental nordeste acima da costa da Bahia. Além disso, em outro estudo que realizou a identificação pelo método de modelagem de distribuição, identificou a espécie *S. albicaudus*, em regiões do Rio Grande do Sul, Uruguai e Argentina (Sabadin *et al*., 2020). As amostras do presente estudo na região de Pernambuco podem contruibuir para o conhecimento sobre a área de distribuição geográfica da espécie *S. albicaudus*.

A diversidade genética encontrada em *S. albicaudus* e a ausência de estruturação entre os grupos amostrados, com as evidências da existência de uma população panmítica, bem como suas características k estrategista dos elasmobrânquios e o Ne baixo, é preocupante tendo em vista que os valores de Ne nos indicam um potencial evolutivo limitado de longo prazo, então, será necessário uma ação eficaz de manejo e conservação de *S. albicaudus*. Além disso, a alta conectividade genética entre as localidades demonstraram que essas características podem estarem atribuídas ao alto potencial de dispersão e as estratégias de vida relacionada ao seu processo de reprodução.

7 REFERÊNCIAS

Allendorf FW, Hohenlohe PA & Luikart G. (2010). Genomics and the future of conservation genetics. Nature reviews genetics, 11(10), 697-709.

Allendorf, FW, England PR, Luikart G, Ritchie PA & Ryman N. (2008). Genetic effects of harvest on wild animal populations. Trends in Ecology & Evolution, 23(6), 327-337.

Andrade, FR, Afonso, AS, Hazin, F H, Mendonça, FF & Torres, RA. (2021). Population genetics reveals global and regional history of the apex predator *Galeocerdo cuvier* (Carcharhiniformes) with comments on mitigating shark attacks in north-eastern brazil. Marine Ecology, 42(2), e12640.

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), 81-92.

Andrews, S. (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Available from: http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc (March 18, 2021).

Baird NA, Etter PD, Atwood TS, Currey MC, Shiver AL, Lewis ZA, et al. (2008) Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. PLoS One 3: e3376.

Baranes A (2003). Sharks from the Amirantes Islands, Seychelles, with a description of two new species of squaloids from the deep sea. Israel Journal of Zoology, 49, 33–65.

Benavides MT, Feldheim KA, Duffy CA, Wintner S, Braccini JM, Boomer J, ... & Chapman, DD. (2011). Phylogeography of the copper shark (*Carcharhinus brachyurus*) in the southern hemisphere: implications for the conservation of a coastal apex predator. Marine and Freshwater Research, 62(7), 861-869.

Benestan, LM, Ferchaud, AL, Hohenlohe, PA, Garner, BA, Naylor, GJ, Baums, IB ... & Luikart, G. (2016). Conservation genomics of natural and managed populations: building a conceptual and practical framework.

Bernard, AM, Finnegan, KA, Pavinski Bitar, P, Stanhope, MJ & Shivji, MS. (2021). Genomic assessment of global population structure in a highly migratory and habitat versatile apex predator, the tiger shark (Galeocerdo cuvier). Journal of Heredity, 112(6), 497-507.

Bigelow HB & Schroeder WC (1957). A study of the sharks of the suborder Squaloidea. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College in Cambridge, 117 (1), 1–150.

Bolger AM, Lohse M & Usadel B. (2014) Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics 30, 2114–2120.

Camhi, M. (1998). Sharks and their relatives: ecology and conservation (No. 20). IUCN.

Campos, M, Conn, JE, Alonso, DP, Vinetz, JM, Emerson, KJ & Ribolla, PEM. (2017). Microgeographical structure in the major Neotropical malaria vector *Anopheles darlingi*using microsatellites and SNP markers. *Parasites & Vectors* 10, 76.

Catchen JM, Amores A, Hohenlohe P, Cresko W & Postlethwait JH. (2011). Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. G3: Genes, Genomes, Genetics, 1(3), 171-182.

Chapman DD, Prodohl PA, Gelsleichter J, Manire CA & Shivji MS. (2004). Predominance of genetic monogamy by females in a hammerhead shark, *Sphyrna tiburo*: implications for shark conservation. Mol Ecol. 13:1965–1974.

Compagno LJV, Dando M & Fowler S. (2005). Sharks of the World – Princeton Field Guides. Harper Collins Publishers Ltd., London, 368 pp.

Compagno, LJV. (1990). Alternative life-history styles of cartilaginous fishes in time and space. Environmental Biology of Fishes, 28, 33-75.

Cortés E. (2000). Life history patterns and correlations in sharks. Reviews in Fisheries Science, v. 8, n. 4, p. 299-344.

Crawford, DL & Oleksiak, MF. (2016). Ecological population genomics in the marine environment. Briefings in functional genomics, 15(5), 342-351.

Cruz VP, Adachi AM, Oliveira P H, Ribeiro GS, Paim FG, Souza BC ... & Foresti F. (2021). Genetic diversity in two threatened species of guitarfish (Elasmobranchii:

Rhinobatidae) from the Brazilian and Argentinian coasts: an alert for conservation. Neotropical Ichthyology, 19.

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.

Daly-Engel TS, Grubbs RD, Holland KN, Toonen R J & Bowen BW. (2006). Assessment of multiple paternity in single litters from three species of Carcharhinidae sharks in Hawaii. Environmental Biology of Fishes, 76(2), 419-424.

Dimens, PV, Willis, S, Grubbs, RD & Portnoy, DS. (2019). A genomic assessment of movement and gene flow around the South Florida vicariance zone in the migratory coastal blacknose shark, Carcharhinus acronotus. Marine Biology, 166(7), 1-11.

Di Battista JD, Saenz AP, Piatek MJ, Wang X, Aranda M & Berumen ML. (2017)a. Using a butterflyfish genome as a general tool for RADSeq studies in specialized reef fish. Molecular Ecology Resources. 17(6), 1330-1341.

Do, Chi *et al*. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. Molecular ecology resources, v. 14, n. 1, p. 209-214.

Domingues RR, Hilsdorf AWS & Gadig OBF (2018). The importance of considering genetic diversity in shark and ray conservation policies. Conservation Genetics, 19(3), 501-525.

Driller M, Vilaca ST, Arantes LS, Carrasco-Valenzuela T, Heeger F, Chevallier D, ... & Mazzoni CJ. (2020). Optimization of ddRAD-like data leads to high quality sets of reduced representation single copy orthologs (R2SCOs) in a sea turtle multi-species analysis. bioRxiv.

Dudgeon, CL, Blower, DC, Broderick, D, Giles, JL, Holmes, BJ, Kashiwagi, T, ... & Ovenden, JR. (2012). A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. Journal of fish biology, 80(5), 1789-1843.

Dulvy NK, Fowler SL, Musick JA, Cavahagh RD, Kyne PM, Harrison LR, Carlson JK, Davidson LNK, Fordham SV, Francis MP, Pollock CM, Simpfendorfer CA, Burgess GH, Carpenter KE, Compagno LJV, Ebert DA, Gibson C, Heupel MR, Livingstone SR, Sanciangco JC, Stevens JD, Valenti S & White WT. (2014). Extinction risk and

conservation of the world's sharks and rays. Elife, (3) e00590.

Dulvy, NK, Pacoureau, N, Rigby, CL, Pollom, RA, Jabado, RW, Ebert, DA, ... & Simpfendorfer, CA. (2021). Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. Current Biology, 31(21), 4773-4787.

Ebert DA, Fowler S & Compagno L. (2013). Sharks of the World. Wild Nature Press, Plymouth.

Ebert DA, White WT, Goldmann KJ, Compagno LJV, Daly-Engel TS & Ward RD (2010). Resurrection and redescriptions of *Squalus suckleyi* (Girard, 1854) from the North Pacific, with comments on the *Squalus acanthias* subgroup (Squaliformes: Squalidae). Zootaxa, 2612, 22–40

Evanno G, Regnaut S & Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. Molecular Ecology, 14:2611–2620.

Ewels P, Magnusson M, Lundin S & Käller M. (2016). MultiQC: Summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. Bioinformatics 32, 3047–3048.

Excoffier L & Lischer HE. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources. 10: 564-567.

Ferretti, F,Worm, B, Britten, GL, Heithaus, MR & Lotze, HK(2010). Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. Ecology Letters, 13: 1055–1071

Food and Agriculture Organization (FAO) (2018). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma: FAO.pp 250.

Frankham, R, Bradshaw, CJ & Brook, BW. (2014). Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. Biological Conservation, 170, 56-63.

Fricke, R, Eschmeyer, WN & R van der Laan (eds) 2021. Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References. (http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/ ishcatmain.asp). Electronic version accessed 2021.

Fuentes-Pardo, AP & Ruzzante, DE. (2017). Whole-genome sequencing approaches for conservation biology: Advantages, limitations and practical recommendations. Molecular ecology, 26(20), 5369-5406.

Funk WC, McKay JK, Hohenlohe PA & Allendorf FW. (2012). Harnessing genomics for delineating conservation units. Trends in Ecology & Evolution, 27 (9), 489-96.

Green, ME, Appleyard, SA, White, W, Tracey, S, Devloo-Delva, F & Ovenden, JR. (2019). Novel multimarker comparisons address the genetic population structure of silvertip sharks (*Carcharhinus albimarginatus*). Marine and Freshwater Research, 70(7), 1007-1019.

Grubbs RD, Carlson JK, Romine JG, Curtis TH, McElroyWD, McCandless CT, Cotton CF & Musick JA. (2016). Critical assessment and ramifications of a purported marine trophic cascade. Scientific Reports, (6) 20970.

Hajibabaei M, Singer GA, Hebert PD, Hickey DA. (2007). DNA barcode: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. Trends in Genetics, *23*(4), 167-172.

Hare MP, Nunney L, Schwartz MK, Ruzzante DE, Burford M, Waples RS, ...& Palstra F. (2011). Understanding and estimating effective population size for practical application in marine species management. Conservation Biology, 25(3), 438-449.

Hazin FH, Fischer AF, Broadhurst MK, Veras D, Oliveira PG & Burgess GH. (2006). Notes on the reproduction of Squalus megalops off northeastern Brazil. Fisheries Research, 79(3), 251-257.

Hendricks, Sarah *et al*. (2018). Recent advances in conservation and population genomics data analysis. Evolutionary Applications, v. 11, n. 8, p. 1197-1211.

Hoekert WEJ, Neufeglise H, Schouten AD & Menken SBJ. (2002). Multiple paternity and female-biased mutation at a microsatellite locus in the olive ridley sea turtle (*Lepidochelys olivacea*). Heredity, 89(2), 107-113.

Hohenlohe, PA, Funk, WC & Rajora, OP. (2021). Population genomics for wildlife conservation and management. Molecular Ecology, 30(1), 62-82.

IUCN 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-1. https://www.iucnredlist.org.

Johri, S, Doane, MP, Allen, L & Dinsdale, EA. (2019). Taking advantage of the genomics revolution for monitoring and conservation of Chondrichthyans populations. Diversity, 11(4), 49.

Jombart T & Ahmed I. (2011). Adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. Bioinformatics, 27(21), 3070-3071.

Jombart, T, Devillard, S & Balloux F. (2010). Discriminant analysis of principal

components: A new method for the analysis of genetically structured populations. BMC Genetics, 11(1), 94.

Jones LM, Driggers III WB, Hoffmayer ER, Hannan KM & Mathers AN. (2013). Reproductive biology of the Cuban dogfish in the Northern Gulf of Mexico. Marine and Coastal Fisheries, 5(1), 152-158.

Junge C, Donnellan SC, Huveneers C, Bradshaw CJ, Simon A, Drew M, ... & Gillanders BM. (2019). Comparative population genomics confirms little population structure in two commercially targeted carcharhinid sharks. Marine Biology, 166(2), 16.

Keenan K, McGinnity P, Cross TF, Crozier WW & Prodöhl PA. (2013). Diversity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. Methods in ecology and evolution, 4(8), 782-788.

Kelley, DR, Snoek, J & Rinn, JL. (2016). Basset: learning the regulatory code of the accessible genome with deep convolutional neural networks. Genome research, 26(7), 990-999.

Kopelman NM, Mayzel J, Jakobsson M, Rosenberg NA & Mayrose I. (2015). Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. Molecular Ecology Resources 15: 1179-1191.

Kraft, Derek W. *et al* (2020). Genomics versus mtDNA for resolving stock structure in the silky shark (*Carcharhinus falciformis*). PeerJ, v. 8, p. e10186.

Kumar, G & Kocour, M. (2017). Applications of next-generation sequencing in fisheries research: A review. Fisheries Research, 186, 11-22.

Lamarca F, Vianna M & Vilasboas A. (2020). The first reproductive parameters and evidence of multiple paternity in one new spiny dogfish species, *Squalus albicaudus* (Squaliformes, Squalidae). Journal of Fish Biology, 97(4), 1268-1272.

Last PR, White WT & Pogonoski JJ. (2007). Descriptions of new dogfishes of the genus *Squalus* (Squaloidea: Squalidae). CSIRO Marine and Atmospheric Research Paper, 14, 130 pp.

Li Yu-Long & Liu Jin-Xian. (2018). StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. Molecular ecology resources, v. 18, n. 1, p. 176-177.

Liu SYV, Joung SJ, Yu CJ, Hsu HH Tsai WP & Liu KM. (2018). Genetic diversity and connectivity of the megamouth shark (*Megachasma pelagios*). PeerJ, 6, e4432.

Mamoozadeh, NR, Graves, JE & McDowell, JR. (2020). Genome-wide SNPs resolve

spatiotemporal patterns of connectivity within striped marlin (Kajikia audax), a broadly distributed and highly migratory pelagic species. Evolutionary applications, 13(4), 677-698.

Manuzzi A, Jiménez-Mena B, Henriques R, Holmes BJ, Pepperell J, Edson J, ... & Nielsen EE. (2021). Retrospective genomics suggests the disappearance of a tiger shark (*Galeocerdo Cuvier*) Population of South-Eastern Australia.

Momigliano P, Harcourt R, Robbins WD, Jaiteh V, Mahardika GN, Sembiring A & Stow A. (2017). Genetic structure and signatures of selection in grey reef sharks (*Carcharhinus amblyrhynchos*). Heredity, 119(3), 142-153.

Morin PA, Martien KK & Taylor BL. (2009). Assessing statistical power of SNPs for population structure and conservation studies. Molecular Ecology Resources, 9(1), 66-73.

Myers, RA, Baum, JK, Shepherd, TD, Powers, SP & Peterson, CH. (2007). Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean. Science, 315: 1846–1850.

Nelson, JS, Grande, TC. & Wilson, MV. (2016). Fishes of the World. John Wiley & Sons.

Newcomer SD, Zeh JA & Zeh DW. (1999). Genetic benefits enhance the reproductive success of polyandrous females. Proceedings of the National Academy of Sciences, 96(18), 10236-10241.

Oleksiak, Marjorie F. (2016). Marine genomics: insights and challenges.

Ovenden, Jennifer R. *et al* (2018). Genetics and genomics for fundamental and applied research on elasmobranchs. Shark research: Emerging technologies and applications for the field and laboratory, p. 235-54.

Pacoureau N, Rigby CL, Kyne PM, Sherley RB, Winker H, Carlson JK ... & Dulvy NK. (2021). Half a century of global decline in oceanic sharks and rays. Nature, 589(7843), 567-571.

Pazmiño DA, Maes GE, Green ME, Simpfendorfer CA, Hoyos-Padilla EM, Duffy CJ, ... & Van Herwerden L. (2018). Strong trans-Pacific break and local conservation units in the Galapagos shark (*Carcharhinus galapagensis*) revealed by genome-wide cytonuclear markers. Heredity, 120(5), 407-421.

Pearce, J, Fraser, MW, Sequeira, AM & Kaur, P. (2021). State of Shark and Ray Genomics in an Era of Extinction. Frontiers in Marine Science, 8, 744986.

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, 7(5), e37135.

Pfleger MO, Grubbs RD, Cotton CF & Daly-Engel TS. (2018). *Squalus clarkae* sp. nov., a new dogfish shark from the Northwest Atlantic and Gulf of Mexico, with comments on the *Squalus mitsukurii* species complex. Zootaxa, 4444(2), 101-119.

Pollom R, Rincon G & Herman K. (2020). *Squalus albicaudus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2020: e.T129495269A129495382.

Postaire, BD, Feldheim, KA, Clementi, GM, Quinlan, J, van Zinnicq Bergmann, MPM, Brooks, EJ ... & Chapman, D. D. (2021). Small localized breeding populations in a widely distributed coastal shark species. Conservation Genetics, 1-11.

Primmer CR. (2009). From conservation genetics to conservation genomics. Annals of the New York Academy of Sciences, (1162) 357-68.

Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155(2), 945-959.

Puechmaille SJ. (2016). The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. Molecular ecology resources, 16(3), 608-627.

Rincon, G, Mazzoleni, RC, Palmeira, ARO & Lessa, RPT. (2017). Deep-water sharks, rays, and chimaeras of Brazil. In: Rodrigues-Filho, L.F. and De Luna Sales, J.B. (eds), Chondrichthyes: Multidisciplinary Approach, pp. 83–112. IntechOpen, London, UK.

Rossetto, M, Yap, JYS, Lemmon, J, Bain, D, Bragg, J, Hogbin, P ... & Wilson, TC. (2021). A conservation genomics workflow to guide practical management actions. Global Ecology and Conservation, 26, e01492.

Rousset F. (2008). Genepop'007: A complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. Molecular ecology resources, 8(1), 103-106.

Sabadin, DE, Lucifora, LO, Barbini, SA, Figueroa, DE & Kittlein, M. (2020). Towards regionalization of the chondrichthyan fauna of the Southwest Atlantic: a spatial framework for conservation planning. ICES Journal of Marine Science, 77(5), 1893-1905.

Shepherd TD & Myers RA. (2005). Direct and indirect fishery effects on small coastal elasmobranchs in the northern Gulf of Mexico. Ecology letters, 8(10), 1095-1104.

Sundqvist L, Keenan K, Zackrisson M, Prodöhl P & Kleinhans D. (2016). Directional

genetic differentiation and relative migration. Ecology and evolution, 6(11), 3461-3475.

Veríssimo A, Zaera-Perez D, Leslie R, Iglésias SP, Séret B, Grigoriou, P ... & Hernández S. (2017). Molecular diversity and distribution of eastern Atlantic and Mediterranean dogfishes *Squalus* highlight taxonomic issues in the genus. Zoologica Scripta, 46(4), 414- 428.

Viana ST, de Carvalho MR & Gomes UL. (2016). Taxonomy and morphology of species of the genus *Squalus* Linnaeus, 1758 from the Southwestern Atlantic Ocean (Chondrichthyes: Squaliformes: Squalidae). Zootaxa, 4133, 1–89.

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

Waples, RS & Do, CHI. (2010). Linkage disequilibrium estimates of contemporary Ne using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. Evolutionary applications, 3(3), 244-262.

Waples, RS. (2016). Making sense of genetic estimates of effective population size.

Weigmann S. (2016) Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with focus on biogeographical diversity. J Fish Biol 88:837–1037.

White WT & Iglésias SP. (2011). Squalus formosus, a new species of spurdog shark (Squaliformes: Squalidae) from the Western North Pacific Ocean. Journal of Fish Biology, pp. 1-15.

Zeh JA & Zeh DW. (1997). The evolution of polyandry II: Post–copulatory defenses against genetic incompatibility. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 264(1378), 69-75.

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. Genetics and Molecular Research, 14 (1), 2080-2085.

APÊNDICE 1

Tabela. Sumário do sequenciamento *ddRAD* e processamento das filtragens das *reads* em indivíduos da espécie *Squalus albicaudus* das localidades Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo.

Vouchers	Localidade	Raw data	Q20	Digestão *in silico*	%
100355	PE	1.242.053	1.237.622	*1.176.658	95%
100356	PE	2.006.439	1.993.560	1.028.208	51%
100336	PE	1.010.388	1.004.609	902.671	89%
100337	PE	969.158	962.274	860.154	89%
100338	PE	788.342	784.025	726.406	92%
100350	PE	1.165.363	1.143.825	855.955	73%
100351	PE	2.307.040	2.300.457	*1.280.595	56%
100352	PE	1.535.453	1.520.674	1.038.731	68%
100353	PE	1.657.569	1.637.048	1.041.918	63%
100354	PE	1.707.531	1.682.046	1.172.896	69%
100340	PE	1.548.720	1.548.720	1.036.009	67%
100339	PE	1.011.833	1.004.049	923.755	91%
100358	PE	1.306.547	1.300.659	894.268	68%
100349	PE	942.206	933.236	821.021	87%
89912	RJ	305683	292683	260644	85%
89914	RJ	759.479	754.405	719.310	95%
89915	RJ	1.159.086	1.151.077	*1.082.387	93%
89916	RJ	943.839	929.441	746.569	79%
104187	SP	2.635.595	2.595.521	*1.407.947	53%
104188	SP	2.696.970	2.632.154	*1.623.506	60%
104189	SP	1.428.049	1.396.095	775.995	54%
104190	SP	1.450.698	1.429.946	866.574	60%
104191	SP	1.281.242	1.268.132	1.112.014	87%
104192	SP	942.539	939.093	860.456	91%
104193	SP	1.197.674	1.186.028	856.752	72%
104194	SP	1.193.337	1.183.267	881.094	74%
104195	SP	1.125.552	1.113.678	756.609	67%
104196	SP	1.168.810	1.157.902	803.785	69%
104197	SP	958.066	936.082	769.329	80%
104198	SP	1.304.754	1.283.972	829.896	64%
104199	SP	874.759	864.614	761.362	87%
	Total *reads*	41.401.332	40.945.165	29.612.986	

Raw date: número de *reads* obtidas após o sequenciamento; **Q20**: *Phred Quality* < 20, *reads* com qualidade abaixo de Q20 foram removidas; **Digestão *in silico***: remoção de *reads* que apresentam regiões de sítios enzimáticos; **%**: porcentagem de aproveitamento das *reads* filtradas em relação ao Raw Date e **(*)** indíviduos que foram selecionados de acordo com o número de *reads*, para a montagem do catálogo (*de novo*).

APÊNDICE 2

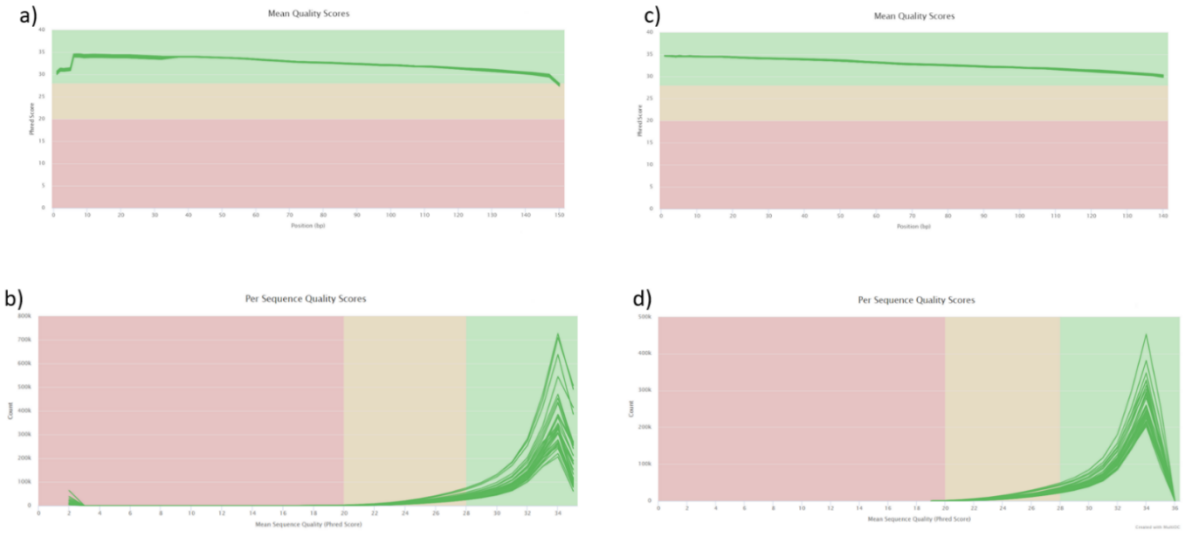

Figura 3. Gráficos das sequências obtidas ndo sequenciamento NGS, que foram verificadas no MULTIQC (**a-d**). Para **a-b** antes das filtragens, **c-d** após as filtragens. Mean Quality Scores (Qualidade das sequências por base) (**a-c**) e **(b-d)** Per Sequence Quality Scores (Frequência de qualidade média das *reads*).

APÊNDICE 3

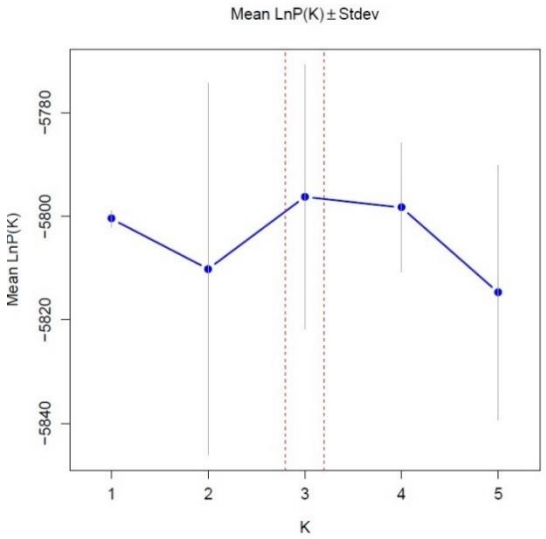

Figura. Estimativa do método de Evano, que demonstrou a maior propabilidade de clusters de k =3 ((ln (P) D) −26085 ± 0.07344).

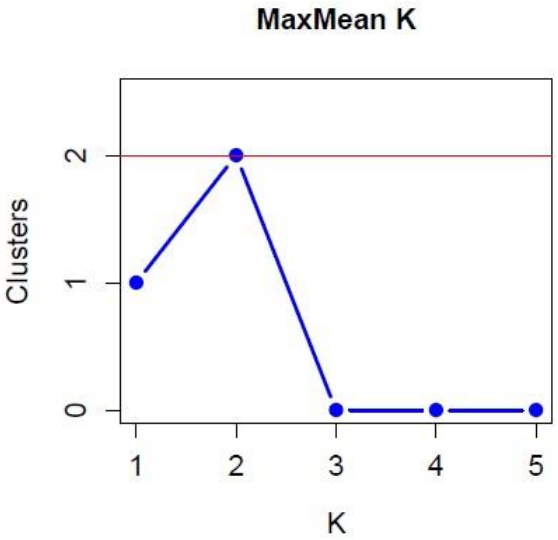

Figura. Estimativa do método de Puchmaille, demonstrando a maior probabilidade de clusters de k=3.

APÊNDICE 4

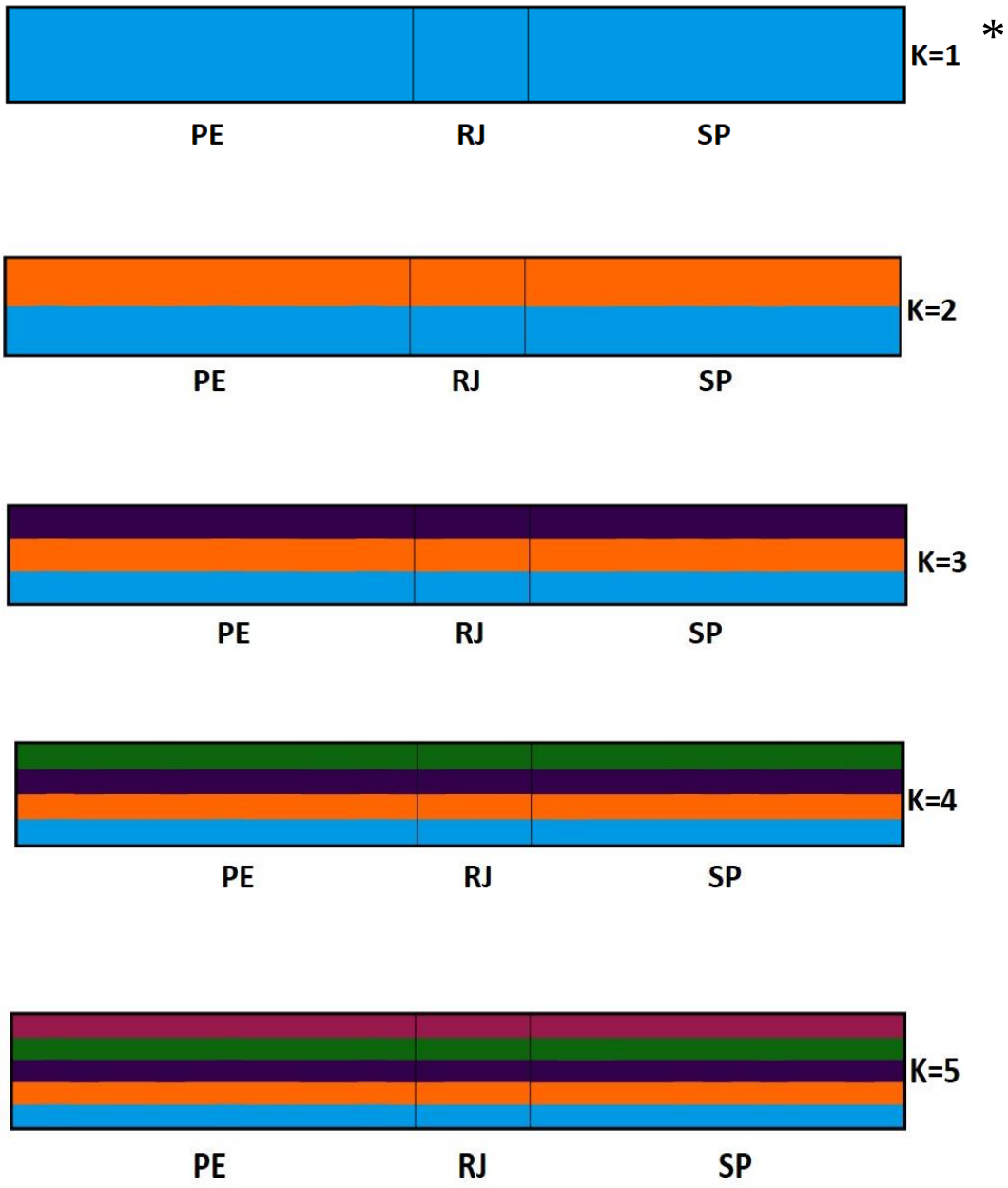

Figura. Resultado do STRUCTURE visualizados pelo programa CLUMPACK. Os gráficos representam os teste de agrupamentos de K (1-5), sendo as localidades PE (Pernambuco), RJ (Rio de Janeiro) e SP (São Paulo); *O melhor valor de K=1**.**

APÊNDICE 5

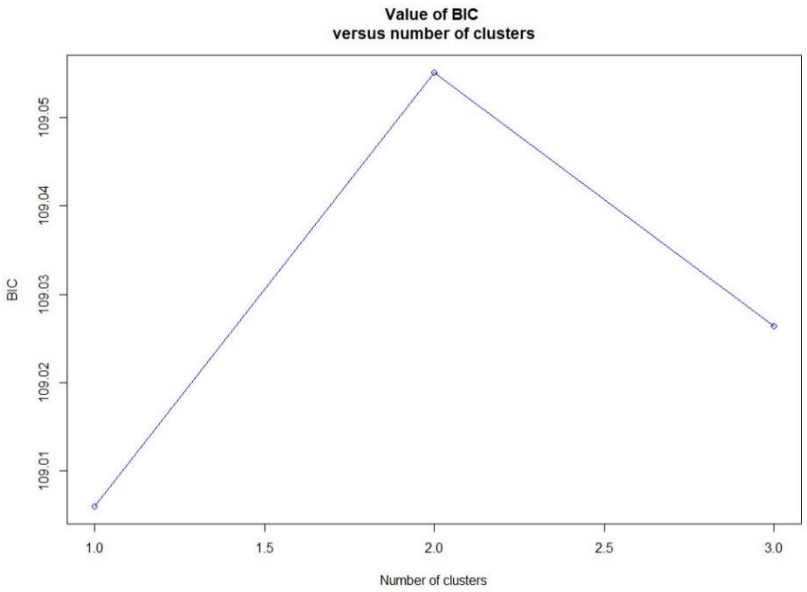

Figura. Número ideal de cluster k =1 identificado utilizando o *Bayesian Information Criterion* (BIC), para a Análise de DAPC.

APÊNDICE 6

Tabela. Taxas de migração relativa por divMigrate com base nos Número de Migrantes (Nm), entre as localidades do estudo em *Squalus albicaudus*. PE (Pernambuco); SP (São Paulo); RJ (Rio de Janeiro).

	PE	SP	RJ
PE		0.830	0.330
SP	1.000		0.363
RJ	0.772	0.441	