



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

MICHAEL DYONNS ANDRADE DA SILVA

DIVERSIDADE GENÉTICA E CONECTIVIDADE DO TUBARÃO MARTELO
***Sphyrna lewini* DE UM GRANDE ESTUÁRIO DO NORDESTE DO BRASIL**

FORTALEZA

2020

MICHAEL DYONNS ANDRADE DA SILVA

DIVERSIDADE GENÉTICA E CONECTIVIDADE DO TUBARÃO MARTELO *Sphyrna*
lewini DE UM GRANDE ESTUÁRIO DO NORDESTE DO BRASIL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos.

Orientador: Dr. Vicente Vieira Faria

Coorientador: Dr. João Eduardo Pereira de Freitas

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S581d Silva, Michael Dyonns Andrade da.
Diversidade genética e conectividade do tubarão martelo *Sphyrna lewini* de um grande estuário do nordeste do Brasil / Michael Dyonns Andrade da Silva. – 2020.
38 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2020.
Orientação: Prof. Dr. Vicente Vieira Faria.
Coorientação: Prof. Dr. João Eduardo Pereira de Freitas.
1. Chondrichthyes. 2. Elasmobrânquio. 3. DNA. 4. Estuário. I. Título.

CDD 551.46

MICHAEL DYONNS ANDRADE DA SILVA

DIVERSIDADE GENÉTICA E CONECTIVIDADE DO TUBARÃO MARTELO *Sphyrna
lewini* DE UM GRANDE ESTUÁRIO DO NORDESTE DO BRASIL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos.

Aprovada em: 28 / 02 / 2020.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Vicente Vieira Faria (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Andrey Leonardo Fagundes de Castro
Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ)

Dra. Natalia Priscila Alves Bezerra,
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Dr. Rodrigo Maggioni,
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A todos que me ajudaram até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus e aos meus pais, Solange e Alairton. Sou grato aos meus pais por me apoiarem e, dessa maneira, permitirem a conclusão desse trabalho. Agradeço-lhes por fornecerem essencial suporte emocional durante toda a minha vida. Ao Lucas de Vasconcelos (Tapioca <3) por nunca me deixar desistir e por me apoiar durante o Mestrado, mesmo tendo que lidar com o meu estresse durante este processo. Os dois anos de Mestrado teriam sido bem mais difíceis sem a companhia do Lucas, a quem dedico o meu amor.

Ao Dr. Vicente Faria, pela orientação durante este Mestrado (e TCC). Agradeço pelos conhecimentos transmitidos que foram além do ambiente acadêmico. Aprendi muito com ele, não somente conteúdo teórico e prático, mas também lições que levarei pra toda a vida.

Ao Dr. João Eduardo Pereira de Freitas, pela coorientação durante este Mestrado, que foi valiosíssima. Agradeço pelos ensinamentos quanto às atividades e rotina de biologia molecular. Cada comentário, sugestão e forma de apoio foram essenciais ao desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

Aos membros da banca examinadora do exame de Qualificação composta pelo Dr. Rodrigo Rodrigues Domingues (U. Porto) e o Dr. Rodrigo Maggioni (UFC). Sou-lhes grato pelos comentários e todo material de apoio fornecido ou indicado durante a Qualificação.

Aos membros da banca examinadora da Defesa de Mestrado, composta pelo Dr. Andrey de Castro (UFSJ), Dra. Natalia Bezerra (UFRPE), além do próprio Dr. Maggioni. Por toda ajuda durante a produção do texto bem como pelas sugestões fornecidas após a apresentação.

Foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa o Dr. Andrey Castro (UFSJ), Dr. Fábio Hissa Vieira Hazin (UFRPE) e a Dra. Natalia Bezerra (UFRPE) pela obtenção das amostras de tecidos utilizadas no estudo. Além disso, eles estiveram sempre disponíveis e foram prestativos para qualquer dúvida/ajuda.

À Dra. Patrícia do Nascimento Bordallo, da Embrapa Agroindústria Tropical. Em Fortaleza-CE, pelo acesso ao Laboratório de Biologia Molecular. Foi neste laboratório que realizei as etapas de bancada da pesquisa, incluindo extração e quantificação de DNA, reação em cadeia da polimerase (PCR), visualização em gel, purificação e preparo de material para o sequenciamento de DNA.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) forneceu o recurso para compra de reagentes e outros materiais de laboratório essenciais para o projeto.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) me concedeu dois anos de bolsa de Mestrado, que foi importante para o desenvolvimento do trabalho.

Aos meus colegas de laboratório (Laboratório de Evolução e Conservação de Vertebrados Marinhos - Evolve): Andréia Campos, Renata Carvalho, Heberon Menezes, Cyntia Moraes, Lilian Xavier, Belquior Gonçalves e todos os outros. Agradeço por toda a ajuda prestada, os comentários valiosos durante cada apresentação, e os momentos de descontração.

À Virgínia Oliveira por todos esses sete anos de amizade. As conversas, os desabafos, os prints, etc foram essenciais para que eu me mantivesse firme nos últimos anos. Que venham muitos outros anos de amizade, de preferência, com menos estresse.

Aos amigos do Pokémon pelos momentos de descontração após horas de laboratório, pesquisa e escrita. Queria agradecer em especial a três pela amizade além do jogo: Wendell Saraiva, Felipe Paiva e Pedro Nonato (cobrinhas).

Aos amigos do Programa de Pós-graduação em Ciências Marinhas Tropicais: Marcos Vieira, Marina Mendonça, Carolina Bracho, Ana Santiago e Thomas Ravelly pelo compartilhamento de estresses, momentos de descontração e memes, mostrando que apesar do pânico, sempre é bom rir e relaxar um pouco.

Por fim, expresso ainda aqui a minha admiração pelos tubarões, por me fascinarem tanto.

RESUMO

Sphyrna lewini é uma das três grandes espécies de tubarão martelo que têm distribuição global e que realizam grandes migrações. Esta espécie utiliza zonas estuarinas como regiões de reprodução e alimentação. Aspectos da genética de *S. lewini* já são conhecidos, no entanto, nenhum estudo abordou juvenis de zonas estuarinas do Atlântico Sul e sua possível conexão com o restante do Atlântico, incluindo ecossistemas insulares. Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar juvenis de *Sphyrna lewini* de um complexo estuarino no nordeste do Brasil quanto à sua genética. Um total de 27 amostras de *S. lewini* foram obtidas, sendo 22 em uma zona de estuário (estuários dos rios Sergipe e Vaza-Barris, no estado de Sergipe) e cinco do Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP), um arquipélago oceânico localizado entre o Brasil e a África. Estas amostras tiveram o seu DNA extraído e a região controle do DNA mitocondrial parcialmente sequenciada (699 pb). Sequências de DNA homólogas obtidas de exemplares de *S. lewini* amostrados em outras regiões geográficas do globo foram obtidas através da base de dados GenBank. A população de juvenis de *Sphyrna lewini* do complexo estuarino em Sergipe tem alta diversidade genética. A elevada estruturação genética entre juvenis é compatível com o padrão filopátrico das fêmeas adultas já conhecido para a espécie. O compartilhamento de haplótipos entre os juvenis de Sergipe e indivíduos adultos amostrados em regiões distantes dentro do Atlântico sugere um grau, pelo menos histórico, de conectividade para a espécie.

Palavras-chave: Chondrichthyes, elasmobrânquio, estuário, DNA

ABSTRACT

Sphyrna lewini is one of the three large species of hammerhead sharks that have a global distribution and undertake long migrations. This species uses estuarine zones as a mating and feeding ground. Some aspects of *S. lewini* genetics are known, but no study investigated juveniles of estuarine zones in the south Atlantic and their possible connection with other parts of this ocean, including insular ecosystems. Based on this the main goal of this study was to characterize the genetic structure of juveniles of *S. lewini* of an estuarine complex in northeast Brazil. A total of 27 samples of *S. lewini* were obtained, where 22 came from an estuarine zone (Sergipe and Vaza-Barris rivers estuary, Sergipe state) and five came from the Saint Peter and Saint Paul Archipelago (SPSPA), an oceanic archipelago located between Brazil and Africa. These samples had their DNA extracted and the control region of mitochondrial DNA partially sequenced (699 bp). Homologous DNA sequences obtained from *S. lewini* samples from other regions were taken from the GenBank database. The population of juveniles *S. lewini* of the estuarine complex in Sergipe has a high genetic diversity. The high genetic segregation among juveniles is consistent with the adult females pattern of philopatry already known for the species. The sharing of haplotypes between juveniles of Sergipe and adults from regions far away within Atlantic suggests a connectivity, at least historical, for the species.

Keywords: Chondrichthyes, Elasmobranchii, estuary, DNA

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Biologia e Conservação	9
1.2 Genética e Marcadores Moleculares	11
1.3 Estruturação genética	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 Coleta das amostras	15
3.2 Extração, amplificação e sequenciamento de DNA	16
3.3 Análise dos dados	16
3.3.1 Diversidade genética	16
3.3.2 Conectividade	17
3.3.3 Rede de haplótipos	17
4. RESULTADOS	20
4.1 Diversidade genética	20
4.2 Conectividade	20
4.3 Rede de haplótipos	21
5. DISCUSSÃO	23
5.1 Diversidade genética	23
5.2 Conectividade	23
5.3 Rede de haplótipos	24
6. CONCLUSÕES	26
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS	28

1. INTRODUÇÃO

1.1 Biologia e Conservação

Os tubarões-martelo, nome recebido devido ao formato da cabeça, pertencem à família Sphyrnidae. Essa família é composta por nove espécies: *Eusphyra blochii*, *Sphyrna corona*, *Sphyrna gilberti*, *Sphyrna lewini*, *Sphyrna media*, *Sphyrna mokarran*, *Sphyrna tiburo*, *Sphyrna tudes* e *Sphyrna zygaena* (WEIGMANN, 2016). *Sphyrna lewini* (Griffith and Smith 1834) difere morfológicamente das outras por meio de um entalhe principal na margem anterior da cabeça e outros dois menores nas laterais do entalhe principal, dando-lhe um aspecto recortado (EBERT *et al.*, 2015). Adultos desta espécie ocorrem em áreas costeiras, incluindo estuários, e de oceano aberto do mundo todo. Os estuários são ambientes essenciais não somente para *S. lewini*. Isto porque os estuários servem como áreas de alimentação (BETHEA *et al.*, 2004), zonas de berçário (HEUPEL *et al.*, 2007) e até residência para adultos de determinadas espécies (BETHEA *et al.*, 2015). A degradação dos estuários está relacionada ao declínio de diferentes espécies de tubarões e raias, o que mostra a importância desses locais para diferentes grupos (KNIP *et al.*, 2010).

Sphyrna lewini é um predador de topo de alta importância ecológica (BORNATOWSKI *et al.*, 2014a). A espécie preda peixes ósseos, cefalópodes e crustáceos, e até outros elasmobrânquios (BORNATOWSKI *et al.*, 2014b). É vivípara, com um período gestacional entre 9 e 12 meses que pode ser seguido por um período entre gestações de um ano (BRANSTETTER, 1987; LIU & CHEN, 1999). Fêmeas maturam por volta dos 212 cm de comprimento total (CT) e machos entre 140 e 165 cm CT (COMPAGNO, 1984). Entre as razões que justificam o tamanho das fêmeas serem maiores que os dos machos ao atingirem a maturação, está o fato delas migrarem primeiro durante a vida (KLIMLEY, 1987). As fêmeas saem das zonas de berçário com tamanhos menores que os machos e se alimentam de presas pelágicas durante esse movimento (HOYOS-PADILLA *et al.*, 2014). Isso faz com que as fêmeas cresçam mais rapidamente que os machos e acumulem reserva energética para suportar a gestação. Além disso, as fêmeas tendem a voltar e permanecer em uma mesma região para a reprodução, comportamento denominado filopatria (DUNCAN *et al.*, 2006).

A filopatria é, em linhas gerais, a tendência de um indivíduo permanecer ou retornar para um local particular, seja para a reprodução (zonas de berçário) ou alimentação (PORTNOY & HEIST, 2012). Por exemplo, a filopatria pode se refletir em um uso prolongado de zonas de berçário por fêmeas maduras para a reprodução durante muitos ciclos

reprodutivos (DUDGEON *et al.*, 2012). A filopatria pode ser documentada através de marcação e observação por longos períodos (CHAPMAN *et al.*, 2009). Uma outra forma de se documentar a filopatria é por meio de ferramentas genéticas, que permitem identificar os indivíduos e traçar movimentos ao longo de gerações (CHAPMAN *et al.*, 2009).

Assim como a maioria dos tubarões, *S. lewini* é particularmente vulnerável a sobre-exploração devido a características da história de vida (crescimento lento, maturidade sexual tardia e baixa fecundidade). A sobre-exploração de tubarões por produtos que variam da carne às nadadeiras tem aumentado nas últimas décadas (DULVY *et al.*, 2014). A captura global de tubarões em 2010 foi estimada em aproximadamente 100 milhões de espécimes (WORM *et al.*, 2013). Após a sobrepesca, a maioria das populações leva décadas para se recuperar (STEVENS *et al.*, 2000). Além disso, por serem predadores de topo, sua remoção causa uma série de impactos na cadeia trófica e no balanço do ecossistema (MYERS *et al.*, 2007).

O tubarão martelo *S. lewini* é capturado tanto intencionalmente quanto como fauna acompanhante em muitas pescarias globais. A pesca direcionada é principalmente motivada pelas nadadeiras, muito apreciadas no mercado asiático (ABERCROMBIE *et al.*, 2005). A captura acidental vem, principalmente, das pescarias de atuns e afins (MILLER *et al.*, 2013). Por formar cardumes, *S. lewini* está mais sujeito a ser capturado em grandes quantidades (HAYES *et al.*, 2009). Além disso, a espécie tem baixa resiliência à exploração por só atingir a maturação sexual com mais de 10 anos de idade (10 anos para machos e 15 anos para fêmeas). Atualmente, a espécie é listada como Criticamente Ameaçada pela União Internacional para a Conservação da Natureza - IUCN (RIGBY *et al.*, 2019). A espécie também está listada no Apêndice II da Convenção Internacional de Comércio de Espécies Ameaçadas da Fauna e da Flora – CITES (CITES, 2019). No Brasil, a portaria 445 de 2014 reconhece *Sphyrna lewini* como parte da fauna brasileira ameaçada de extinção e proíbe sua captura (BRASIL, 2014). Apesar disso, a espécie ainda é uma das mais comercializadas no país entre os elasmobrânquios (BERNARDO *et al.*, 2020). A Comissão Internacional para a Conservação do Atum Atlântico (ICCAT) propôs uma recomendação proibindo a manutenção a bordo, o desembarque e a venda de tubarões martelo capturados em pescarias manejadas pela mesma (ICCAT, 2010).

1.2 Genética e Marcadores Moleculares

A genética pode auxiliar no manejo pesqueiro e na conservação dos tubarões. Por meio da genética molecular, é possível comparar genótipos de indivíduos diferentes, identificar espécies, o grau de estruturação populacional, de filopatria, a filogeografia e outras questões (DUDGEON *et al.*, 2012). Uma grande vantagem dos métodos moleculares é que mesmo pequenas amostras de tecido contêm o DNA nuclear e mitocondrial completos do indivíduo. As últimas décadas mostraram avanços em várias áreas de estudo, como a taxonomia e sistemática, resultantes da aplicação das análises genéticas, embora algumas vezes haja um conflito entre essas áreas (DUDGEON *et al.*, 2012).

Para o estudo da genética molecular são empregados os marcadores moleculares. Eles são ferramentas bastante úteis no entendimento da biologia geral, ecologia reprodutiva e comportamento de tubarões e outros táxons, além de sugerir novas áreas de pesquisa (PORTNOY & HEIST, 2012). Eles permitem identificar populações isoladas reprodutivamente que vivem em simpatria (como as espécies crípticas), níveis de estruturação genética e fluxo gênico entre populações (DUNCAN *et al.*, 2006; QUATTRO *et al.*, 2006). Há diferentes tipos de marcadores, como os nucleares e os mitocondriais que podem gerar resultados divergentes em determinados casos (PORTNOY & HEIST, 2012). Por exemplo, em estudos onde as fêmeas são filopátricas e os machos se dispersam por mais regiões, marcadores nucleares e mitocondriais revelam diferenças nas estimativas do fluxo gênico e na estrutura dos estoques (DALY-ENGEL *et al.*, 2012; PARDINI *et al.*, 2001).

A filogeografia é uma área de estudo baseada no uso de marcadores moleculares e aborda os princípios e processos que controlam a distribuição geográfica das linhagens genealógicas (AVISE, 2000). Além disso, também busca entender como esses processos e eventos afetam os padrões de diferenciação genética observados (BEHEREGARAY, 2008). Para atingir seus objetivos, a filogeografia se baseia nas sequências de DNA de muitos indivíduos ao longo da distribuição da espécie. Há poucos estudos filogeográficos para elasmobrânquios em comparação com aqueles para peixes ósseos (BEHEREGARAY, 2008). Embora o número de estudos filogeográficos de tubarões tenha aumentado na última década (DUDGEON *et al.*, 2012; PORTNOY & HEIST, 2012), ainda há muitas lacunas a serem preenchidas para as espécies estudadas e na escala de cobertura de espécies globais (DOMINGUES *et al.*, 2018). Estudos filogeográficos são importantes não somente para entender padrões evolutivos e de estruturação genética, mas também para influenciar o manejo e conservação das espécies (ROCHA *et al.*, 2007).

O DNA mitocondrial (DNAm_t) possui um dos marcadores moleculares mais utilizados, a chamada região controle ou *D-loop*. Essa região, não codificante, é a parte do DNA mitocondrial responsável pelo início da replicação e pela transcrição (CLAYTON, 1984). Em Chondrichthyes, o DNAm_t é similar ao de outros vertebrados. Ele consiste, além da região controle, de um laço único de fita dupla com 13 genes codificadores de proteínas, dois genes de RNA ribossomal e 22 RNAs de transferência (MEYER, 1993). O genoma é bastante compacto, sem íntrons. Trata-se de um marcador de origem materna, que não recombina, exibe alto polimorfismo e evolui mais rápido que marcadores nucleares por sofrer mais mutações. Apesar de ser limitado à linhagem materna, a estrutura simples, o fácil e baixo custo de isolamento, e a rápida evolução o tornam um marcador vantajoso para inferências diversas (AVISE *et al.*, 1987).

1.3 Estruturação genética

Uma estruturação genética existe quando as populações exibem algum grau de isolamento que limita o fluxo gênico. Este grau de isolamento pode ocorrer devido a separação das populações por barreiras físicas ou ecológicas à dispersão, seja atual ou no passado (AVISE, 2009). Populações estruturadas podem ser identificadas através da divergência de suas sequências de DNA. O compartilhamento de polimorfismos genéticos entre populações pode indicar fluxo gênico, enquanto a ausência de compartilhamento pode indicar isolamento. Forte estrutura populacional caracteriza, na maioria dos casos, espécies com baixa dispersão, mas espécies altamente migratórias também podem ser estruturadas. Alguns organismos com grande capacidade de dispersão podem exibir estrutura genética devido a filopatria (fidelidade a localizações específicas) e não em função de barreiras geográficas (AVISE, 2009).

Estudar o nível de conectividade entre populações é importante para o desenvolvimento de estratégias de manejo e para o monitoramento das espécies. Uma gestão mais uniforme de populações de *Sphyrna lewini* e *Rhizoprionodon acutus* foi sugerida com base em um estudo que encontrou populações homogêneas das duas espécies em Queensland, na Austrália (OVENDEN *et al.*, 2011). Quando comparadas com populações da Indonésia, *R. acutus* mostrou-se diferente geneticamente, enquanto que *S. lewini* não exibiu segregação.

Sphyrna lewini é um grande dispersor ao mesmo tempo que é fiel a localidades específicas. A espécie contrasta sua capacidade de dispersão oceânica pelos machos com a

fidelidade das fêmeas a zonas de berçário (DUNCAN *et al.*, 2006). As fêmeas se dispersam via costeira, enquanto os machos podem se dispersar por longas distâncias, chegando a cruzar oceanos (DUNCAN & HOLLAND, 2006; DALY-ENGEL *et al.*, 2012; DUDGEON *et al.*, 2012). Como os machos apresentam uma dispersão mais ampla que a das fêmeas e essas são fieis a certas localidades (DUNCAN *et al.*, 2006), eles são os responsáveis pela dispersão de genes entre as populações (DALY-ENGEL *et al.*, 2012). Os juvenis de *S. lewini* tendem a permanecer nas zonas de berçário onde nasceram por cerca de um ano. Os juvenis podem viajar longas distâncias, mas tendem a voltar para as zonas de berçário, padrão que também é observado para o tubarão *Carcharhinus plumbeus* (RECHISKY & WETHERBEE, 2003). As zonas de berçário protegem os filhotes de predadores, mas também os deixa vulneráveis aos impactos antropogênicos, como sobrepesca e degradação de habitats (DUNCAN & HOLLAND, 2006; KNIP *et al.*, 2010). Dessa forma, locais onde tubarões exibem filopatria são pontos importantes para o manejo e conservação (MOURIER & PLANES, 2013).

Sphyrna lewini exhibe padrões diferentes de estruturação genética populacional de acordo com o marcador considerado. Utilizando-se DNAm, observa-se estruturação em nível global e regional (DUNCAN *et al.*, 2006; PINHAL, 2010). Entretanto, quando se usa um marcador nuclear, como microssatélites, por exemplo, tem-se a ausência de estruturação pra espécie (DALY-ENGEL *et al.*, 2012, PINHAL, 2010). Esse padrão ocorre devido ao hábito filopátrico das fêmeas e pela grande capacidade de dispersão dos machos. Outras duas espécies de tubarão martelo também exibem algum grau de estruturação genética populacional e filopatria das fêmeas, sendo estas *S. zygaena* (FELIX-LOPEZ *et al.*, 2019) e *S. tiburo* (DRIGGERS *et al.*, 2014; PORTNOY *et al.*, 2015).

Elasmobrânquios são animais de particular interesse para a conservação genética tendo em vista os níveis de exploração e suas características de história de vida (DULVY *et al.*, 2014). Entretanto, em levantamento realizado em 2016, apenas 10% das 1.041 espécies de tubarões e raias listados na IUCN possuíam dados genéticos disponíveis (DOMINGUES *et al.*, 2017). Considerando essa lacuna de conhecimento, aqui foram investigadas a diversidade genética, a conectividade e a distribuição de haplótipos de *S. lewini* em um grande estuário do Atlântico Sul e outras regiões do Atlântico, incluindo um Arquipélago oceânico.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Caracterizar juvenis de *Sphyrna lewini* de um grande estuário no nordeste do Brasil quanto à sua genética e sua relação com outras regiões do Atlântico, incluindo um arquipélago distante da costa.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a diversidade genética.
- Testar o grau de conectividade genética (fluxo gênico) com juvenis de outras localidades.
- Caracterizar a distribuição dos haplótipos das populações estuarina e oceânica/insular.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta das amostras

Amostras de tecido (músculo) de 27 indivíduos de *Sphyrna lewini* foram obtidas ao longo do primeiro semestre de 2015 pela colaboradora Dra. Natália Alves em dois ambientes. Um deles foi um ambiente estuarino associado aos rios Sergipe e Vaza-Barris (10°54'36"S, 37°4'12"W) no estado de Sergipe (n = 22), utilizando-se rede de emalhe de fundo. Todos os indivíduos amostrados eram juvenis (< 1,3 m). O segundo ambiente amostrado foi um oceânico, o Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP; 0°55'02"N, 29°20'42"W) (n = 5), por meio de espinhel). No ASPSP, todos os indivíduos amostrados eram adultos (> 1,3 m). A identificação dos tubarões martelo foi baseada em aspectos externos da morfologia, em campo, com o exemplar completo (EBERT *et al.*, 2015). O comprimento de maturidade sexual se baseou em COMPAGNO (1984).

Sergipe é o menor estado brasileiro, estando localizado na região nordeste do país. O seu litoral possui 163 km de extensão e é caracterizado pela presença dos estuários dos rios São Francisco, Japarutuba, Sergipe e Vaza-Barris (complexo Piauí-Real) (SANTOS & VILLAR, 2012). Nessa região a pesca de elasmobrânquios, principalmente artesanal, já capturou mais de 20 espécies de raias e tubarões. Entre as mais pescadas estão *Carcharhinus acronotus*, *C. falciformis*, *C. limbatus*, *Ginglymostoma cirratum*, *Rhizoprionodon lalandii*, *R. porosus*, *Sphyrna lewini* e *S. mokarran* (MENESES *et al.*, 2005; MENESES *et al.*, 2011). Nessa região também há registros de neonatos de *S. lewini* e *S. mokarran* e de fêmeas grávidas de *Rhizoprionodon lalandii* e *R. porosus* (ANDRADE *et al.*, 2016; MENESES *et al.*, 2011), sugerindo que a área possa ser uma zona de berçário para diferentes espécies.

O Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP) é um local único no oceano Atlântico. É composto por um grupo de pequenas ilhas rochosas 1100 km distantes da costa brasileira (VASKE JR *et al.*, 2005). O ASPSP está situado estrategicamente entre os dois hemisférios e entre os continentes americano e africano, possuindo uma das mais elevadas taxas de endemismo no Atlântico (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Além disso, o local é sítio de fidelidade para *S. lewini* (BEZERRA *et al.*, 2019).

3.2 Extração, amplificação e sequenciamento de DNA

Cerca de 20mg de cada amostra de tecido muscular preservado em álcool 90% teve seu DNA extraído usando o kit de extração de DNA QIAamp DNA Minikit (QIAGEN) e seguindo as instruções do fabricante. O DNA extraído foi quantificado por meio do NanoDrop 2000c (ThermoFisher Scientific). Na etapa de amplificação, fragmentos de ~1000 pares de base (pb) da região controle do DNAm foram amplificados usando os primers Elasmocr-F (forward primer: 5'-TTGGCTCCCAAAGCCAAGATTCTG-3') e Elasmocr-R (reverse primer: 5'-CCCTCGTTTTWGGGGTTTTTCGAG-3') (STONER *et al.*, 2003). A amplificação foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), consistindo de 1,25 µl de cada primer (resultando em uma concentração final na reação de 0,5 uM), 12,5 µl da enzima AmpliTaq Gold 360 Master Mix (ThermoFisher Scientific), 40-100 ng de DNA extraído e 5,0-9,5 µl de água ultrapura, totalizando reações de 25 µl. O programa da PCR consistiu de desnaturação inicial a 95°C por 7 minutos, seguida por 40 ciclos a 95°C por 30 segundos, 56°C por 30 segundos (hibridização), 72°C por 90 segundos (extensão), e uma extensão final a 72°C por 7 minutos e foi realizado em um termociclador Veriti 96-Well Thermal Cycler, 0,2ml (Applied Biosystems). Todas as reações foram submetidas a uma eletroforese em gel de agarose e visualizadas em gel de agarose 1,3%. A purificação do DNA amplificado foi feita por tratamento enzimático utilizando o kit de purificação ExoSAP-IT (ThermoFisher Scientific) seguindo as recomendações do fabricante.

As amostras purificadas foram sequenciadas em ambas as direções (*forward* e *reverse*) através do método de Sanger (etapa realizada pela empresa Macrogen Inc., na Coreia do Sul). As sequências *forward* e *reverse* da região controle de *S. lewini* (mtCR) obtidas para as 27 amostras foram editadas utilizando-se o software GENEIOUS 7.1.9 (BioMatters).

3.3 Análise dos dados

3.3.1 Diversidade genética

Para a análise de diversidade genética, apenas as sequências de indivíduos juvenis (< 1,3 m) foram consideradas. Foram utilizadas sequências com 699 pb. Um total de 171 sequências foram utilizadas, sendo 22 de Sergipe (presente estudo) e 149 do Golfo do México e do Pacífico mexicano (CASTILLO-OLGUÍN *et al.*, 2012) obtidas do GenBank. A região do Pacífico foi dividida em Norte, Central e Sul, evitando-se assim comparar localidades de tamanhos muito discrepantes. Para esta análise foi usado um *dataset* de 699 pb, utilizando-

se o programa ClustalW dentro do programa MEGA X (KUMAR *et al.*, 2018). A diversidade genética foi determinada pela composição nucleotídica, números de haplótipos, mutações, sítios polimórficos e pelas diversidades haplotípica (h) e nucleotídica (π) utilizando-se Arlequin 3.5 (EXCOFFIER *et al.*, 2010).

3.3.2 Conectividade

Para determinação da estrutura populacional foi utilizado o mesmo *dataset* descrito no item 3.3.1 (171 sequências de juvenis com 699 pb de tamanho). A conectividade entre as três localidades consideradas (Sergipe, Golfo do México e Pacífico Mexicano) foi estimada a partir de uma Análise de Variância Molecular - AMOVA (EXCOFFIER *et al.*, 1992) e de Φ_{ST} par a par (COCKERHAM & Weir, 1993), utilizando-se Arlequin 3.5 (EXCOFFIER *et al.*, 2010).

3.3.3 Rede de haplótipos

Para a construção da rede de haplótipos foram consideradas todas as sequências do Atlântico (isto é, excluindo-se as sequências do Pacífico). Aqui foram utilizadas sequências menores com 548 pb devido a limitação do tamanho das sequências disponíveis na literatura para comparação. Um total de 112 sequências foram utilizadas, das quais todas geradas como parte do presente estudo (22 de Sergipe e cinco do Arquipélago de São Pedro e São Paulo), 29 do Golfo do México e 56 sequências geradas por DUNCAN *et al.* (2006) e CHAPMAN, PINHAL & SHIVJI (2009). O *dataset* foi usado para a construção de uma rede de haplótipos pelo método de *median-joining* utilizando-se o programa NETWORK 5.0 (BANDELT *et al.*, 1999).

Tabela 1 Lista de sequências analisadas no presente estudo.

Localização geográfica	N	Nº de acesso GenBank	Referência
Sergipe - Brasil	22	-	Presente estudo
ASPSP	5	-	Presente estudo
EUA, Golfo do México, Brasil	26	DQ438149	DUNCAN <i>et al.</i> (2006)
Panamá	1	DQ438150	DUNCAN <i>et al.</i> (2006)
Panamá	1	DQ438151	DUNCAN <i>et al.</i> (2006)
Brasil	2	DQ438154	DUNCAN <i>et al.</i> (2006)
Brasil	1	GU014391	CHAPMAN; PINHAL; SHIVJI (2009)
EUA	7	DQ438164	DUNCAN <i>et al.</i> (2006)
África	1	DQ438165	DUNCAN <i>et al.</i> (2006)
África	5	DQ438166	DUNCAN <i>et al.</i> (2006)
Belize	10	GU014389	CHAPMAN; PINHAL; SHIVJI (2009)
Belize	2	GU014390	CHAPMAN; PINHAL; SHIVJI (2009)
Golfo do México, Pacífico	32	JN543270	CASTILLO-OLGUÍN <i>et al.</i> (2012)
Pacífico	101	JN543266	CASTILLO-OLGUÍN <i>et al.</i> (2012)
Pacífico	7	JN543267	CASTILLO-OLGUÍN <i>et al.</i> (2012)
Pacífico	4	JN543268	CASTILLO-OLGUÍN <i>et al.</i> (2012)
Pacífico	5	JN543269	CASTILLO-OLGUÍN <i>et al.</i> (2012)

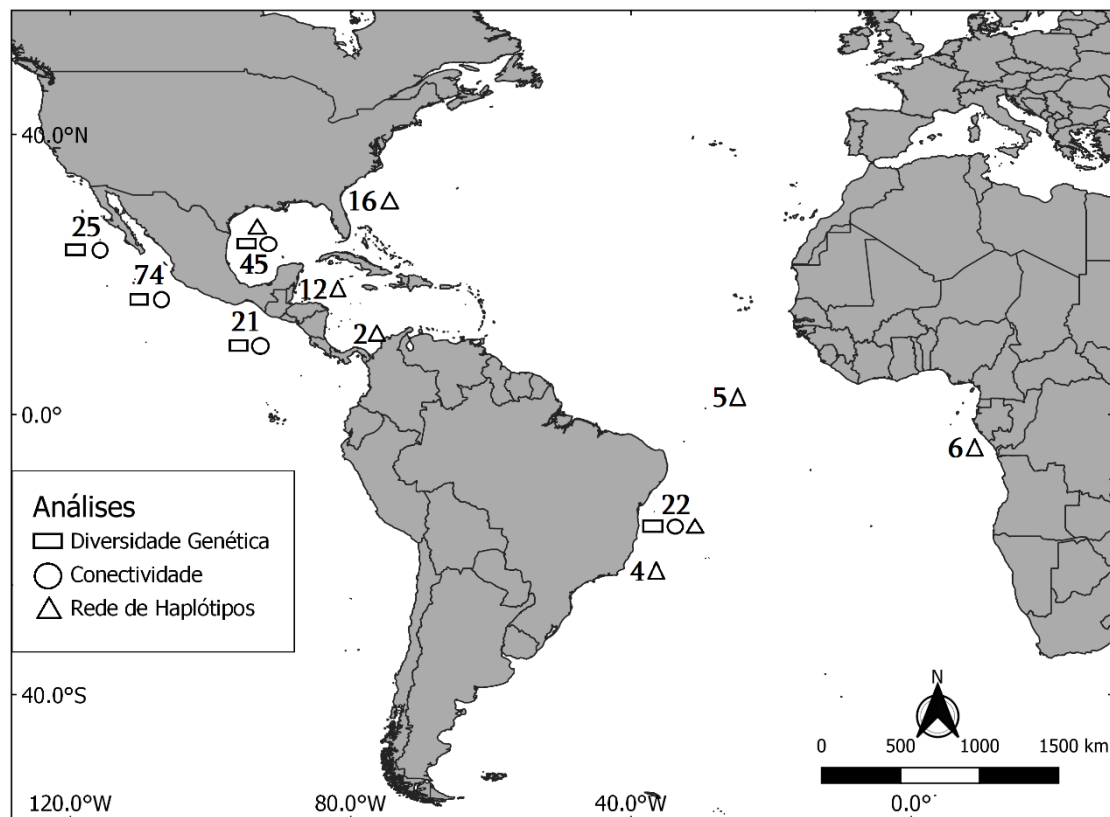


Figura 1 Origem geográfica dos exemplares de tubarão martelo, *Sphyrna lewini*, que tiveram parte da sequência de DNA da região controle (genoma mitocondrial) incluída em análises de dados no presente estudo. Parte destas (27 sequências) foi gerada no presente estudo (22 oriundas de exemplares de Sergipe e cinco de exemplares do Arquipélago de São Pedro e São Paulo). As sequências adicionais foram obtidas do GenBank. O número de sequências obtidas, assim como os diferentes tipos de análises (símbolos geométricos) para cada localidade, está indicado na figura.

4. RESULTADOS

4.1 Diversidade genética

A frequência das bases foi relativamente constante entre as localidades consideradas. As frequências de Citosina, Timina, Adenina e Guanina variaram menos que 2% entre as localidades consideradas. Dentre as mutações, só houve um caso de inserção ou deleção (indels). Por outro lado, houve 27 casos de substituições. O número de haplótipos de cada localidade variou entre um e cinco. A diversidade haplotípica (h) foi mais alta em Sergipe, embora a região tenha tido um menor número de sequências. A diversidade nucleotídica, por outro lado, foi maior para o Pacífico mexicano central, condizente com a maior divergência entre as sequências dessa região. Três localidades exibiram apenas um haplótipo (Tabela 2).

Tabela 2 Caracterização e variação genética da região controle do DNAm (699 pb) de juvenis do tubarão martelo, *Sphyrna lewini*, ($n = 171$) em diferentes localidades dos oceanos Atlântico e Pacífico. SER = Sergipe (nordeste do Brasil), GM = Golfo do México, PMN = Pacífico Mexicano Norte, PMC = Pacífico Mexicano Central, PMS = Pacífico Mexicano Sul.

		SER (n=22)	GM (n=29)	PMN (n=25)	PMC (n=74)	PMS (n=21)
Composição nucleotídica (%)	C	23	23	23	23	23
	T	35	34	34	34	34
	A	31	32	31	31	31
	G	11	11	12	12	12
Número de haplótipos		4	1	1	5	1
Número de indels		0	0	0	1	0
Número total de substituições		4	0	0	27	0
N. de subst. do tipo transição		3	0	0	15	0
N. de subst. do tipo transversão		1	0	0	12	0
Número de sítios polimórficos		4	0	0	27	0
Diversidade haplotípica (h)		0,606	0,000*	0,000*	0,435	0,000*
Diversidade nucleotídica (π)		0,00167	0,00000*	0,00000*	0,00463	0,00000*

*Devido a presença de apenas um haplótipo na região

4.2 Conectividade

Houve uma estruturação genética de juvenis de *S. lewini* estatisticamente significativa entre Sergipe e as três localidades do Pacífico mexicano e também entre o Golfo do México e estas mesmas três localidades do Pacífico mexicano (Tabela 3). Todos os valores de Φ_{ST} entre Sergipe e as outras localidades foram maiores que 0,9, indicando alto isolamento entre as localidades.

Tabela 3 Valores de Φ_{ST} par a par do tubarão martelo, *Sphyrna lewini*, (abaixo da diagonal) e valores de p (acima da diagonal) para as localidades consideradas. Os valores de Φ_{ST} marcados com * são significativos ($p < 0,05$). SER = Sergipe, GM = Golfo do México, PMN = Pacífico Mexicano Norte, PMC = Pacífico Mexicano Central, PMS = Pacífico Mexicano Sul. Valores significativos estão indicados por *.

	SER	GM	PMN	PMC	PMS
SER	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
GM	0,95336*	-	0,000*	0,000*	0,000*
PMN	0,98127*	1,00000*	-	0,072	0,990
PMC	0,90456*	0,87666*	0,03873	-	0,072
PMS	0,97947*	1,00000*	0,00000	0,03262	-

4.3 Rede de haplótipos

O conjunto de dados gerado foi composto por 12 haplótipos (H1-H12), que diferiram por sete sítios polimórficos. Aproximadamente metade dos indivíduos pertencia a um único haplótipo (H4) (Tab. 4, Fig. 2). Sergipe compartilhou haplótipos com outras regiões do Brasil, com o Panamá e com o ASPSP. Este último, o ASPSP, por sua vez, compartilhou haplótipos com o Brasil, o Panamá e a África. Sergipe exibiu um haplótipo exclusivo (H11) e um haplótipo compartilhado apenas com o ASPSP (H7).

Tabela 4 Distribuição geográfica dos haplótipos encontrados em 112 tubarões martelo, *Sphyrna lewini*, no Atlântico. EUA: Estados Unidos da América; GM: Golfo do México; Afr: África; Ser: Sequências de Sergipe; ASPSP: Arquipélago de São Pedro e São Paulo; BR ext.: outras localidades do Brasil; Pan: Panamá e Bel: Belize.

Haplótipo	Distribuição geográfica								Total
	EUA (16)	GM (45)	Afr (6)	BR ext. (4)	Ser (22)	ASPSP (5)	Pan (2)	Bel (12)	
1	-	-	-	-	-	-	-	10	10
2	-	-	-	-	-	-	-	2	2
3	-	-	-	1	-	-	-	-	1
4	9	45	-	1	-	-	-	-	55
5	-	-	-	-	5	2	1	-	8
6	-	-	-	-	-	-	1	-	1
7	-	-	-	-	3	1	-	-	4
8	-	-	-	2	13	1	-	-	16
9	-	-	5	-	-	1	-	-	6
10	7	-	-	-	-	-	-	-	7
11	-	-	-	-	1	-	-	-	1
12	-	-	1	-	-	-	-	-	1

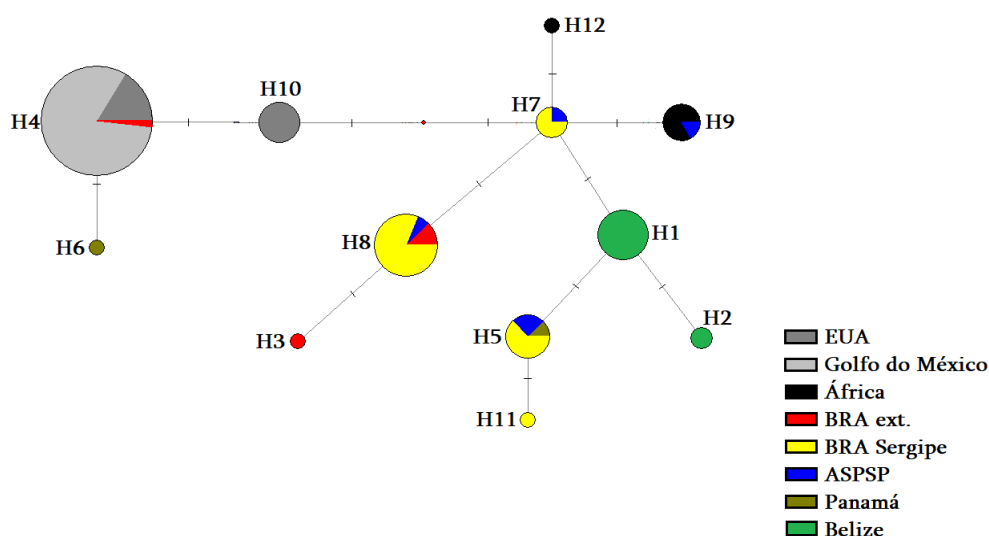


Figura 2 Rede dos haplótipos para o tubarão martelo, *Sphyrna lewini*, do Atlântico, construída a partir de sequências da região controle do DNAm (548 pb) por *median-joining* no Network 5.0 (BANDELT *et al.*, 1999). Haplótipos estão representados por círculos com tamanhos proporcionais a sua frequência. Localidades são indicadas por cores de acordo com a legenda. Cada traço entre haplótipos representa uma mutação. O ponto vermelho entre os haplótipos H7 e H10 representa um haplótipo não amostrado. BRA ext.: sequências do Brasil externas ao estudo; ASPSP: Arquipélago de São Pedro e São Paulo.

5. DISCUSSÃO

5.1 Diversidade genética

O presente trabalho é um dos primeiros a tratar questões relacionadas a diversidade genética de juvenis de *Sphyrna lewini* no Atlântico sul. Além disso, é pioneiro em abordar a genética da espécie em um arquipélago oceânico.

A diversidade haplotípica global de *S. lewini* é alta entre os tubarões. Esta medida supera as reportadas para os tubarões touro, *Carcharias taurus* (AHONEN *et al.*, 2009); elefante, *Cetorhinus maximus* (HOELZEL *et al.*, 2006); serra, *Pristis* sp (PHILLIPS *et al.*, 2011) e zorro, *Alopias superciliosus* (MORALES *et al.*, 2018), e é menor que as reportadas para os tubarões baleia, *Rhincodon typus* (CASTRO *et al.*, 2007) e bico-de-cristal *Galeorhinus galeus* (CHABOT & ALLEN, 2009). Dentro de *S. lewini*, a diversidade haplotípica em Sergipe é intermediária em relação a outras localidades. No Caribe e no estado brasileiro do Rio Grande do Norte, ela é maior que a encontrada em Sergipe, que possui valores similares aos do Golfo do México e Austrália (DUNCAN *et al.*, 2006; PINHAL, 2010). Por outro lado, quando são consideradas áreas mais ao sul, os valores de diversidade haplotípica de Sergipe são até quatro vezes maiores que o observado por PINHAL (2010) para as regiões sudeste e sul do Brasil.

A diversidade nucleotídica global de *S. lewini* também é bastante elevada em relação às outras espécies de tubarões. Esta diversidade é maior em *S. lewini* do que nas espécies mencionadas anteriormente. Já dentro de *S. lewini*, a diversidade nucleotídica em Sergipe é maior que no Caribe, Golfo do México e demais regiões do Brasil, principalmente em relação ao sul, onde essa diversidade é bastante baixa (PINHAL, 2010). A diversidade nucleotídica de *S. lewini* em Sergipe só é menor que as diversidades reportadas para a espécie em regiões do Indo-Pacífico (DUNCAN *et al.*, 2006).

Uma alta diversidade haplotípica simultânea a uma baixa diversidade nucleotídica indica haplótipos proximamente relacionados e sugere uma expansão recente após um período de baixo tamanho populacional efetivo (GRANT & BOWEN, 1998). Entretanto, devido a valores não significativos de Tajima's D e Fu's F, isso não pode ser confirmado.

5.2 Conectividade

O elevado e significativo Φ_{st} entre Sergipe e as outras localidades consideradas indica níveis elevados de isolamento e/ou estruturação populacional. O marcador mitocondrial,

devido a sua história evolutiva, permite traçar informações sobre a linhagem materna da espécie. Um caso de estruturação baseada em DNAm para *S. lewini* é o que ocorre no Atlântico Oeste. CHAPMAN, PINHAL & SHIVJI (2009) mostraram que havia pelo menos três estoques distintos: o do Norte (Atlântico dos EUA e Golfo do México), o central (Caribe) e o do Brasil. PINHAL (2010), posteriormente, encontrou segregação entre populações do Norte e o do Sul do Brasil. DALY-ENGEL *et al.* (2012), ao contrário dos outros autores, encontraram níveis significantes de estruturação genética entre o Golfo do México e a costa da Carolina do Sul (EUA) ($F_{st} = 0,201$, $P < 0,001$) baseado em microssatélites. Atualmente, baseado nos marcadores mitocondrial (região controle do DNA mitocondrial) e nuclear (microssatélites), é considerada a existência de pelo menos três unidades distintas no Atlântico oeste: Golfo do México, Caribe e Brasil (PINHAL *et al.*, 2020). O valor de Φ_{st} encontrado no presente estudo é condizente com essa estruturação.

Sabe-se que juvenis de *S. lewini* tendem a permanecer na área onde nasceram por algum tempo antes de migrarem para regiões mais distantes (DUNCAN & HOLLAND, 2006; QUINTANILLA *et al.*, 2015). Além disso, embora realizem grandes deslocamentos, sua capacidade de dispersão é limitada quando comparada com a dos adultos. Dessa forma, são baixas as chances de juvenis de *S. lewini* do Atlântico Sul atingirem o Golfo do México ou o Pacífico, e vice-versa. Isso explica os valores mais altos de Φ_{st} observados. DUNCAN *et al.* (2006) encontraram valores de Φ_{st} similares para juvenis e adultos, entretanto, não incluíram sequências do Atlântico Sul nos seus testes. PINHAL (2010), por outro lado, incluiu sequências do Atlântico Sul, porém não fez distinção entre juvenis e adultos. Os resultados corroboram a ideia de estruturação do DNAm. É válido considerar a população de Sergipe como uma unidade diferenciada dentro da unidade maior Brasil descrita por PINHAL *et al.* (2020).

5.3 Rede de haplótipos

O compartilhamento de haplótipos entre os juvenis de *S. lewini* de Sergipe e indivíduos adultos do Panamá e do ASPSP sugere que as fêmeas progenitoras destes juvenis possam vir de regiões tão distantes quanto o Caribe (Panamá) ou o Atlântico central (ASPS), não se restringindo à costa brasileira. De fato, há compartilhamento de dois haplótipos (H7 e H8) entre juvenis de Sergipe e fêmeas adultas do ASPSP. O Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPS) parece atuar como um ponto de conexão para *S. lewini* de várias partes do Atlântico, sendo Sergipe uma das localidades. BEZERRA *et al.* (2019) concluíram que o

ASPSP é um sítio de fidelidade para *S. lewini* no Atlântico baseado em telemetria. Além disso, outros pontos sustentam essa ideia de conectividade entre o ASPSP e outras regiões. Primeiro, já se sabe que *S. lewini* já utilizou outros arquipélagos como pontes oceânicas de acordo com DUNCAN *et al.* (2006). De acordo com os autores, a espécie pode ter utilizado ilhas do Pacífico para chegar ao Havaí e a costa oeste das américas. Segundo, que outras espécies altamente migratórias também utilizam o ASPSP e outras ilhas oceânicas com o mesmo propósito. Exemplos dessas espécies incluem o tubarão baleia *Rhincodon typus* (ROCHA, 2016), a raia *Mobula tarapacana* (MENDONÇA *et al.*, 2018) e o tubarão tigre *Galeocerdo cuvier* (AFONSO *et al.*, 2017). Estes autores mostraram por meio de telemetria que o tubarão tigre utiliza a ilha de Fernando de Noronha em migrações dentro do Atlântico. Esse uso similar da região pela espécie foi confirmado por meio de marcador molecular (CARMO *et al.*, 2019). DALY-ENGEL *et al.* (2012) indicaram fluxo gênico contemporâneo limitado entre África e Estados Unidos ($F_{ST} = 0,052$, $P=0,042$). Apesar disso, não consideraram populações da América do Sul nem arquipélagos intermediários entre esse continente e a África, o que pode ter mascarado algum grau de conectividade. Essas evidências reforçam a ideia dos parentais dos juvenis de Sergipe estarem vindo do ASPSP ou mesmo outras regiões além da costa brasileira.

6. CONCLUSÕES

- A população de juvenis de *Sphyrna lewini* do complexo estuarino em Sergipe tem alta diversidade genética.
- A elevada estruturação genética entre juvenis é compatível com o padrão filopátrico das fêmeas adultas.
- O compartilhamento de haplótipos entre os juvenis de Sergipe e indivíduos adultos amostrados em regiões tão distantes quanto o Caribe (Panamá) e o Atlântico central (ASPSP) sugere um grau, pelo menos histórico, de conectividade de *S. lewini* em ampla escala no Atlântico.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há a possibilidade de que a área estuarina de Sergipe seja uma zona de berçário para *S. lewini* no Atlântico Sul. Embora não haja base para confirmar os critérios de HEUPEL *et al.* (2007), que definem uma zona de berçário, a presença de neonatos, juvenis e de fêmeas grávidas, não somente de *S. lewini*, (ANDRADE *et al.*, 2016; MENESES *et al.*, 2011) permitem pelo menos postular esta hipótese. Sugere-se estudos adicionais para confirmar a área como tal. Caso seja afirmativa a condição de zona de berçário na região, é sugerida a criação de uma área marinha protegida (AMP) devido a importância das zonas de berçário para a proteção dos juvenis (HEUPEL *et al.*, 2007; QUINTANILLA *et al.*, 2015). Além disso, uma AMP na região auxiliaria a conservação de qualquer outras espécies que utilizassem a área estuarina de Sergipe como berçário (MOURIER & PLANES, 2013).

REFERÊNCIAS

ABERCROMBIE, D. L.; CLARKE, S. C.; SHIVJI, M. S. Global-scale genetic identification of hammerhead sharks: Application to assessment of the international fin trade and law enforcement. **Conservation Genetics**, v. 6, p. 775-788, 2005.

AFONSO, A. S.; GARLA, R.; HAZIN, F. H. V. Tiger sharks can connect equatorial habitats and fisheries across the Atlantic Ocean basin. **PloS one**, v. 12, n. 9, p. e0184763, 2017.

AHONEN, H.; HARCOURT, R. G.; STOW, A. J. Nuclear and mitochondrial DNA reveals isolation of imperilled grey nurse shark populations (*Carcharias taurus*). **Molecular Ecology**, v. 18, n. 21, p. 4409-4421, 2009.

ANDRADE, J. B.; SANTOS, D. N.; SILVA, M. O.; SANTOS, T. B. R.; MENESES, T. S.; COELHO, A. S. Caracterização biométrica de tubarões do gênero *Sphyrna* (Griffith & Smith, 1834) no litoral de Sergipe. **Biotemas**, v. 29, n. 2, p. 45-58, 2016.

AVISE, J. C. **Phylogeography: The history and formation of species**. 1. ed. Cambridge: Harvard University Press, 2000.

AVISE, J. C. Phylogeography: retrospect and prospect. **Journal of Biogeography**, v. 36, p. 3-15, 2009.

AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. C. Intraspecific phylogeography – the mitochondrial DNA bridge between population-genetics and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, p. 489-522, 1987.

BANDEL, H.-J.; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, p. 37-48, 1999.

BEHEREGARAY, L. B. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 3754-3774, 2008.

BERNARDO, C.; ADACHI, A. M. C. L.; CRUZ, V. P.; FORESTI, F.; LOOSE, R. H.; BORNATOWSKI, H. The label “Caçõo” is a shark or a ray and can be a threatened species! Elasmobranch trade in Southern Brazil unveiled by DNA barcoding. **Marine Policy**, v. 116, p. 103920, 2020.

BETHEA, D. M.; BUCKEL, J. A.; CARLSON, J. K. Foraging ecology of the early life stages of four sympatric shark species. **Marine Ecology Progress Series**, v. 268, p. 245-264, 2004.

BETHEA, D. M.; AJEMIAN, M. J.; CARLSON, J. K.; HOFFMAYER, E. R.; IMHOFF, J. L.; GRUBBS, R. D.; PETERSON, C. T.; BURGESS, G. H. Distribution and community structure of coastal sharks in the northeastern Gulf of Mexico. **Environmental Biology of Fishes**, v. 98, p. 1233-1254, 2015.

BEZERRA, N. P. A.; MACENA, B. C. L.; TRAVASSOS, P.; AFONSO, P.; HAZIN, F. H. V. Evidence of site fidelity and deep diving behaviour of scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) around the Saint Peter and Saint Paul Archipelago, in the equatorial Mid-Atlantic ridge. **Marine and Freshwater Research**, <https://doi.org/10.1071/MF19029>, 2019.

BORNATOWSKI, H.; NAVIA, A. F.; BRAGA, R. R.; ABILHOA, V.; CORREA, M. F. M. Ecological importance of sharks and rays in a structural foodweb analysis in southern Brazil. **ICES Journal of Marine Science**, v. 71, n. 7, p. 1586-1592, 2014a.

BORNATOWSKI, H.; BRAGA, R. R.; ABILHOA, V.; CORREA, M. F. M. Feeding ecology and trophic comparisons of six shark species in a coastal ecosystem off southern Brazil. **Journal of Fish Biology**, v. 85, n. 2, p. 246-263, 2014b.

BRANSTETTER, S. Age, growth and reproductive biology of the Silky Shark, *Carcharhinus falciformis*, and the Scalloped Hammerhead, *Sphyrna lewini*, from the northwestern Gulf of Mexico. **Environmental Biology of Fishes**, v. 19, p. 161-173, 1987.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Gabinete da Ministra. Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção – Peixes e Invertebrados Aquáticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 dez. 2014. p. 126.

CARMO, C. B.; FERRETE, B. L. S.; CAMARGO, S. M.; ROXO, F. F.; COELHO, R.; GARLA, R. C.; OLIVEIRA, C.; PIERCY, A. N.; BORNATOWSKI, H.; FORESTI, F.; BURGESS, G. H.; MENDONÇA, F. F. A new map of the tiger shark (*Galeocerdo cuvier*) genetic population structure in the western Atlantic Ocean: Hypothesis of an equatorial convergence centre. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 29, n. 5, p. 760-772, 2019.

CASTILLO-OLGUÍN, E.; URIBE-ALCOCER, M.; DÍAZ-JAIMES, P. Assessment of the population genetic structure of *Sphyrna lewini* to identify conservation units in the Mexican Pacific. **Ciencias Marinas**, v. 38, n. 4, p. 635-652, 2012.

CASTRO, A. L. F.; STEWART, B. S.; WILSON, S. G.; HUETER, R. E.; MEEKAN, M. G.; MOTTA, P. J.; BOWEN, B. W.; KARL, S. A. Population genetic structure of Earth's largest fish, the whale shark (*Rhincodon typus*). **Molecular Ecology**, v. 16, n. 24, p. 5183-5192, 2007.

CHABOT, C. L.; ALLEN, L. G. Global population structure of the tope (*Galeorhinus galeus*) inferred by mitochondrial control region sequence data. **Molecular Ecology**, v. 18, n. 3, p. 545-552, 2009.

CHAPMAN, D. D.; PINHAL, D.; SHIVJI, M. S. Tracking the fin trade: Genetic stock identification in Western Atlantic scalloped hammerhead sharks (*Sphyrna lewini*). **Endangered Species Research**, v. 9, p. 221-228, 2009.

CHAPMAN, D. D.; BABCOCK, E. A.; GRUBER, S. H.; DIBATTISTA, J. D.; FRANKS, B. R.; KESSEL, S. A.; GUTTRIDGE, T.; PIKITCH, E. K.; FELDHEIM, K. A. Long-term natal site-fidelity by immature lemon sharks (*Negaprion brevirostris*) at a subtropical island. **Molecular Ecology**, v. 18, p. 3500-3507, 2009.

CITES (Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Silvestres Ameaçadas de Extinção). **Appendices I, II and III**. Disponível em: <https://cites.org/eng/app/appendices.php>. Acesso em: 12 de novembro de 2019.

CLAYTON, D. A. Transcription of the mammalian mitochondrial genome. **Annual Review of Biochemistry**, v. 53, p. 573-594, 1984.

COCKERHAM, C. C.; WEIR, B. S. Estimation of gene flow from Fstatistics. **Evolution**, v. 47, p. 855-863, 1993.

COMPAGNO, L. J. V. Sharks of the World. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part II (Carcharhiniformes). **FAO Fisheries Synopsis**, v. 4, n. 125, Part II. FAO, Rome, 1984.

DALY-ENGEL, T. S.; SERAPHIN, K. D.; HOLLAND, K. N.; COFFEY, J. P.; NANCE, H. A.; TOONEN, R. J.; BOWEN, B. W. Global Phylogeography with Mixed-Marker Analysis Reveals Male-Mediated Dispersal in the Endangered Scalloped Hammerhead Shark (*Sphyrna lewini*). **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2012.

DOMINGUES, R. R.; HILSDORF, A. W. S.; GADIG, O. B. F. The importance of considering genetic diversity in shark and ray conservation policies. **Conservation Genetics**, v. 19, n. 3, p. 501-525, 2017.

DOMINGUES, R. R.; HILSDORF, A. W. S.; SHIVJI, M. M.; HAZIN, F. V. H.; GADIG, O. B. F. Effects of the Pleistocene on the mitochondrial population genetic structure and demographic history of the silky shark (*Carcharhinus falciformis*) in the western Atlantic Ocean. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 28, p. 213-227, 2018.

DRIGGERS III, W. B.; FRAZIER, B. S.; ADAMS, D. H.; ULRICH, G. F.; JONES, C. M.; HOFFMAYER, E. R.; CAMPBELL, M. D. Site fidelity of migratory bonnethead sharks *Sphyrna tiburo* (L. 1758) to specific estuaries in South Carolina, USA. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 459, p. 61-69, 2014.

DUDGEON, C. L.; BLOWER, D. C.; BRODERICK, D.; GILES, J. L.; HOLMES, B. J.; KASHIWAGI, T.; KRÜCK, N. C.; MORGAN, J. A. T.; TILLET, B. J.; OVENDEN, J. R. A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. **Journal of Fish Biology**, v. 80, p. 1789-1843, 2012.

DULVY, N. K.; FOWLER, S. L.; MUSICK, J. A.; CAVANAGH, R. D.; KYNE, P. M.; HARRISON, L. R.; CARLSON, J. K.; DAVIDSON, L. N. K.; FORDHAM, S. V.; FRANCIS, M. P.; POLLOCK, C. M.; SIMPFENDORFER, C. A.; BURGESS, G. H.; CARPENTER, K. E.; COMPAGNO, L. J. V.; EBERT, D. A.; GIBSON, C.; HEUPEL, M. R.; LIVINGSTONE, S. R.; SANCIANGCO, J. C.; STEVENS, J. D.; VALENTI, S.; WHITE, W. T. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. **elife**, v. 3, p. e00590, 2014.

DUNCAN, K. M.; MARTIN, A. P.; BOWEN, B. W.; DE COUET, H. G. Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). **Molecular ecology**, v. 15, p. 2239-2251, 2006.

DUNCAN, K. M.; HOLLAND, K. N. Habitat use, growth rates and dispersal patterns of juvenile scalloped hammerhead sharks *Sphyrna lewini* in a nursery habitat. **Marine Ecology Progress Series**, v. 312, p. 211-221, 2006.

EBERT, D. A.; FOWLER, S.; DANDO, M. **A pocket guide to sharks of the world**. 1. ed. Princeton University Press, 2015.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, p. 479-491, 1992.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 564-567, 2010.

FELIX-LOPEZ, D. G.; BOLAÑO-MARTINEZ, N.; DÍAZ-JAIMES, P.; OÑATE-GONZÁLEZ, E. C.; RAMÍREZ-PÉREZ, J. S.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, E.; CORRO-ESPINOSA, D.; OSUNA-SOTO, J. E.; SAAVEDRA-SOTELO, N. C. Possible female philopatry of the smooth hammerhead shark *Sphyrna zygaena* revealed by genetic structure patterns. **Journal of Fish Biology**, v. 94, p. 671-679, 2019.

GRANT, W. S.; BOWEN, B. W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes, insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. **Journal of heredity**, v. 89, n. 5, p. 415-426, 1998.

HAYES, C. G.; JIAO, Y.; CORTÉS, E. Stock assessment of scalloped hammerheads in the Western North Atlantic ocean and Gulf of Mexico. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 29, p. 1406-1417, 2009.

HEUPEL, M. R.; CARLSON, J. K.; SIMPFENDORFER, C. A. Shark nursery areas: concepts, definition, characterization and assumptions. **MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES**, v. 337, p. 287-297, 2007.

HOELZEL, R. A.; SHIVJI, M. S.; MAGNUSSEN, J.; FRANCIS, M. P. Low worldwide genetic diversity in the basking shark (*Cetorhinus maximus*). **Biology letters**, v. 2, n. 4, p. 639-642, 2006.

HOYOS-PADILLA, E. M.; KETCHUM, J. T.; KLIMLEY, A. P.; GALVÁN-MAGAÑA, F. Ontogenetic migration of a female scalloped hammerhead shark *Sphyrna lewini* in the Gulf of California. **Animal Biotelemetry**, v. 2, n. 1, p. 17, 2014.

ICCAT, 2010. **Recommendation by ICCAT on Hammerhead sharks (Family Sphyrnidae) caught in association with fisheries managed by ICCAT (Rec. 10-08)**. Disponível em: <<https://www.bmis-bycatch.org/sites/default/files/2016-12/2010-08-e.pdf>>. Acesso em 05 de março de 2020.

KLIMLEY, A. P. The determinants of sexual segregation in the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*. **Environmental Biology of Fishes**, v. 18, n. 1, p. 27-40, 1987.

KNIP, D. M.; HEUPEL, M. R.; SIMPFENDORFER, C. A. Sharks in nearshore environments: models, importance, and consequences. **MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES**, v. 402, p. 1-11, 2010.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, p. 1547-1549, 2018.

LIU, K-M.; CHEN, C-T. Demographic Analysis of the Scalloped Hammerhead, *Sphyrna lewini*, in the Northwestern Pacific. **Fisheries Science**, v. 65, p. 218-223, 1999.

MENDONÇA, S. A.; MACENA, B. C. L.; AFONSO, A. S.; HAZIN, F. H. V. Seasonal aggregation and diel activity by the sicklefin devil ray *Mobula tarapacana* off a small, equatorial outcrop of the Mid-Atlantic Ridge. **Journal of Fish Biology**, v. 93, p. 1121-1129, 2018.

MENESES, T. S.; SANTOS, F. N.; PEREIRA, C. W. Fauna de elasmobrânquios do litoral do estado de Sergipe, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 38, p. 79-83, 2005.

MENESES, T. S.; PEREIRA, C. W.; SANTOS, F. N. Pequenos tubarões costeiros capturados por espinhel de fundo operado por embarcação artesanal no litoral de Sergipe. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 44, n. 1, p. 47-52, 2011.

MEYER, A. Evolution of mitochondrial DNA in Fishes, pp. 1-38. In: **Biochemistry and Molecular Biology of Fishes**. v. 2. P. W. Hochachka & T. P. Mommsen (eds). Elsevier, New York, 1993.

MILLER, M. H.; CARLSON, J.; COOPER, P.; KOBAYASHI, D.; NAMMACK, M.; WILSON, J. **Status review report: scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*)**. Report to National Marine Fisheries Service, Office of Protected Resources. March 2013. 131 pp., 2013.

MORALES, M. J. A.; MENDONÇA, F. F.; MAGALHÃES, C. O.; OLIVEIRA, C.; COELHO, R.; SANTOS, M. N.; CRUZ, V. P.; PIERCY, A.; BURGESS, G.; HAZIN, F. V.; FORESTI, F. Population genetics of the bigeye thresher shark *Alopias superciliosus* in the Atlantic and Indian Oceans: implications for conservation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 28, n. 4, p. 941-951, 2018.

MOURIER, J.; PLANES, S. Direct genetic evidence for reproductive philopatry and associated fine-scale migrations in female blacktip reef sharks (*Carcharhinus melanopterus*) in French Polynesia. **Molecular Ecology**, v. 22, p. 201-214, 2013.

MYERS, R. A.; BAUM, J. K.; SHEPHERD, T. D.; POWERS, S. P.; PETERSON, C. H. Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean. **Science**, v. 315, p. 1846-1850, 2007.

OLIVEIRA, J. E. L.; VIANA, D.; DE SOUZA, M. A. C. **Arquipélago de São Pedro e São Paulo: 20 anos de pesquisas**. 1. ed. Recife: Via Design Publicações, 2018.

OVENDEN J. R.; MORGAN, J. A. T.; STREET, R.; TOBIN, A.; SIMPFENDORFER, C.; MACBETH, W.; WELCH, D.. Negligible evidence for regional genetic population structure for two shark species *Rhizoprionodon acutus* (Rüppell, 1837) and *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) with contrasting biology. **Marine Biology**, v. 158, p. 1497-1509, 2011.

PARDINI, A. T.; JONES, C. S.; NOBLE, L. R.; KREISER, B.; MALCOLM, H.; BRUCE, B. D.; STEVENS, J. D.; CLIFF, G.; SCHOLL, M. C.; FRANCIS, M.; DUFFY, C. A. J.; MARTIN, A. P. Sex-biased dispersal of great white sharks – in some respects, these sharks behave more like whales and dolphins than other fish. **Nature**, v. 412, p. 139-140, 2001.

PHILLIPS, N. M.; CHAPLIN, J. A.; MORGAN, D. L.; PEVERELL, S. C. Population genetic structure and genetic diversity of three critically endangered *Pristis* sawfishes in Australian waters. **Marine Biology**, v. 158, n. 4, p. 903-915, 2011.

PINHAL, D. **Aplicação da genética molecular no manejo e conservação de tubarões**. 2010. 140 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas Genética) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

PINHAL, D.; DOMINGUES, R. R.; BRUELS, C. C.; FERRETTE, B. L. S.; GADIG, O. B. F.; SHIVJI, M. S.; MARTINS, C. Restricted connectivity and population genetic fragility in a globally endangered Hammerhead Shark. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, p. 1-17, 2020.

PORTNOY, D. S.; HEIST, E. J. Molecular markers: progress and prospects for understanding reproductive ecology in elasmobranchs. **Journal of fish biology**, v. 80, p. 1120-1140, 2012.

PORTNOY, D. S.; PURITZ, J. B.; HOLLENBECK, C. M.; GELSLEICHTER, J.; CHAPMAN, D.; GOLD, J. R. Selection and sex-biased dispersal in a coastal shark: the influence of philopatry on adaptive variation. **Molecular Ecology**, v. 24, p. 5877-5885, 2015.

QUATTRO, J. M.; STONER, D. S.; DRIGGERS, W. B.; ANDERSON, C. A.; PRIEDE, K. A.; HOPPMANN, E. C.; CAMPBELL, N. H.; DUNCAN, K. M.; GRADY, J. M. Genetic evidence of cryptic speciation within hammerhead sharks (Genus *Sphyrna*). **Marine Biology**, v. 148, p. 1143-1155, 2006.

QUINTANILLA, S.; GÓMEZ, A.; MARIÑO-RAMÍREZ, C.; SORZANO, C.; BESSUDO, S.; SOLER, G.; BERNAL, J. E.; CABALLERO, S. Conservation genetics of the scalloped hammerhead shark in the Pacific coast of Colombia. **Journal of Heredity**, v. 106, p. 448-458, 2015.

RECHISKY, E. L.; WETHERBEE, B. M. Short-term movements of juvenile and neonate sandbar sharks, *Carcharhinus plumbeus*, on their nursery grounds in Delaware Bay. **Environmental Biology of Fishes**, v. 68, p. 113-128, 2003.

RIGBY, C. L.; DULVY, N. K.; BARRETO, R.; CARLSON, J.; FERNANDO, D.; FORDHAM, S.; FRANCIS, M. P.; HERMAN, K.; JABADO, R. W.; LIU, K. M.; MARSHALL, A.; PACOUREAU, N.; ROMANOV, E.; SHERLEY, R. B.; WINKER, H. *Sphyrna lewini*. The IUCN red list of threatened species, 2019. Disponível em <https://www.iucnredlist.org/species/39385/2918526>. Acesso em: 18 de fev. 2020.

ROCHA, L. A.; CRAIG, M. T.; BOWEN, B. W. Phylogeography and the conservation of coral reef fishes. **Coral Reefs**, v. 26, p. 501-512, 2007.

ROCHA, B. C. L. M. **Habitats adequados e aspectos ecológicos do tubarão-baleia (*Rhincodon typus* Smith 1828) no Oceano Atlântico Sudoeste e Equatorial**. 2016. 160 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

SANTOS, P. P.; VILAR, J. W. C. Planejamento territorial turístico do litoral sergipano. **Revista Geonorte**, v. 3, n. 4, p. 1194-1206, 2012.

STEVENS, J. D.; BONFIL, R.; DULVY, N. K.; WALKER, P. A. The effects of fishing on sharks, rays and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. **ICES Journal of Marine Science**, v. 57, p. 476-494, 2000.

STONER, D. S.; GRADY, J. M.; PRIEDE, K. A.; QUATTRO, J. M. Amplification primers for the mitochondrial control region and sixth intron of the nuclear-encoded lactate dehydrogenase A gene in elasmobranch fishes. **Conservation Genetics**, v. 4, p. 805-808, 2003.

VASKE JR, T.; LESSA, R. P.; NOBREGA, M.; MONTEALEGRE-QUIJANO, S.; SANTANA, F. Marcante; BEZERRA JR, J. L. A checklist of fishes from Saint Peter and Saint Paul Archipelago, Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 21, p. 75-79, 2005.

WEIGMANN, S. Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. **Journal of Fish Biology**, v. 88, p. 837-1037, 2016.

WORM, B.; DAVIS, B.; KETTEMER, L.; WARD-PAIGE, C. A.; CHAPMAN, D.; HEITHAUS, M. R.; KESSEL, S. T.; GRUBER, S. H. Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks. **Marine Policy**, v. 40, p. 194-204, 2013.