

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Identificação molecular das espécies de tubarão (Elasmobranchii: Selachii) comercializadas  
no Delta do Rio Parnaíba, Tutoia, Maranhão**

Leonardo Manir Feitosa

**São Luís – MA**

**2017**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Identificação molecular das espécies de tubarão (Elasmobranchii: Selachii) comercializadas  
no Delta do Rio Parnaíba, Tutoia, Maranhão**

Leonardo Manir Feitosa

Orientadores: Dr. Luis Fernando Carvalho Costa

MSc. Ana Paula Barbosa Martins

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal do Maranhão, como parte dos  
requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas.

**São Luís - MA**

**2017**

Manir Feitosa, Leonardo

Identificação molecular das espécies de tubarão (Elasmobranchii: Selachi) comercializadas no Delta do Rio Parnaíba, Tutoia, Maranhão / Leonardo Manir Feitosa. – 2017.

34p.

Coorientador(a) Ana Paula Barbosa Martins.

Orientador(a) Luis Fernando Carvalho Costa.

Monografia (Graduação) – Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

1. Chondrychthyes 2. Costa Norte do Brasil 3. Genética Forense 4. Pesca Artesanal I. Barbosa Martins, Ana Paula. II. Carvalho Costa, Luis Fernando. III. Título.

**Leonardo Manir Feitosa**

**Identificação molecular das espécies de tubarão (Elasmobranchii: Selachii) comercializadas  
no Delta do Rio Parnaíba, Tutoia, Maranhão**

A Comissão julgadora dos trabalhos de defesa de Monografia de conclusão de curso de graduação, em sessão pública realizada em 25/01/2017, considera o candidato Leonardo Manir Feitosa aprovado.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Orientador:** Prof. Dr. Luís Fernando Carvalho Costa  
Departamento de Biologia - UFMA

---

**1º membro:** Prof. Dr. Jorge Luiz Silva Nunes  
Departamento de Oceanografia - UFMA

---

**2º membro:** Profa. Dra. Lígia Tchaika  
Departamento de Química e Biologia - UEMA

Aos meus pais, Antonio e Márcia, que despertaram em mim o amor por conhecer o mundo e conservar a Natureza como ela é.

“O mar, quando te enfeitiça, o segura em sua rede  
de maravilhas eternamente”

*Jacques Yves Cousteau*

“Tudo vale a pena se a alma não é pequena”.

*Fernando Pessoa*

## AGRADECIMENTOS PESSOAIS

Meus agradecimentos aqui proferidos vem no sentido de expressar minha gratidão e admiração às pessoas que participaram da jornada até esse momento ímpar em minha vida, seja desde o início da graduação ou no final.

Aos meus pais, Antonio Cordeiro Feitosa e Márcia Manir Miguel Feitosa, que me ensinaram que trabalhar duro, perseverar, manter-se forte e superar as adversidades é o caminho para a conquista dos meus sonhos. Obrigado por todo o apoio, as broncas, as comemorações das conquistas e por me ensinar que existe muito mais do que dinheiro ou bens materiais na vida.

À minha família, especialmente aos avós Irene, Manir, Joaquim e Mariquinha que, apesar de longe fisicamente, sempre se fizeram presentes na minha vida, trazendo seus ensinamentos e conselhos.

Ao meu orientador, Luís Fernando, que topou o desafio de estudar animais com os quais nunca havia trabalhado.

À minha co-orientadora, Ana Paula, que me engajou no estudo desses animais fantásticos e sua conservação. Se cheguei até aqui, você é uma das principais responsáveis.

À Mariana Bonfim, minha melhor amiga, que esteve presente desde o começo do curso, me dando conselhos e acompanhando minha trajetória. Obrigado por toda a ajuda desde o começo deste trabalho, por ouvir minhas lamúrias quando minhas PCRs não davam certo e quando a vida parecia um beco sem saída.

À Rafael Brandão, o irmão que eu nunca tive, pelas oportunidades de desbravar essa ilha maravilhosa, pelas conversas, as comemorações e pelo apoio de sempre.

Aos grandes amigos de turma que fiz durante a graduação, Elias Jr., Thayrine Martins, Patrício Garcia, Cid Conde e Luciano Chaves que sofreram junto comigo para passar em todas as disciplinas, as noites mal dormidas e as sessões de estudo por Skype.

Aos amigos veteranos, Clarisse, Lucas, Fernanda, Marco, André, Andreia e Leila pelos momentos de aprendizado, viagens, comemorações e pelos conselhos que me fizeram amadurecer muito.

Aos colegas da turma 2012.1 que sofreram junto com os intermináveis períodos de greve, falta de aulas, atrasos de notas e divisões internas da sala.

Ao PET Biologia por me ensinar que universidade é muito mais do que só assistir aula e que a Biologia é muito maior do que o que a gente imagina. Aos companheiros de PET Agostinho, Aline, André, Andreia, Brenda, Celso, Cid, Clarisse, Dani, Elias, Misao, Lucas, Itaynara, José Uilian, Liana, Luciana, Patrício, Rafael, Rodrigo e Thayrine, vocês são pessoas maravilhosas. Obrigado por tudo.

À Gisele Azevedo, tutora, conselheira e chefe, pelas oportunidades dadas a mim desde o início do curso, pelos conselhos dentro e fora do PET e pelos momentos de descontração nas viagens. Obrigado por sempre confiar em mim e estimular o meu desenvolvimento profissional.

Aos professores da graduação que me ensinaram tudo o que sei sobre o estudo da vida na Terra e me fizeram amar ainda mais a natureza. Em especial, agradeço à Eduardo Almeida, Maurício Mendonça, Carlos Martínez, Silma Regina e Manuel Alfredo, que abriram minha cabeça sobre muitas coisas extra sala de aula e me cativaram a seguir os caminhos que pretendo.

À Ana Paula e Jorge por me incentivarem a perseverar no estudo dos tubarões e raias e pelas oportunidades de trabalho, publicações e por me ensinarem muito sobre pesquisa.

À Linair que sempre foi um anjo e me guiou pelo caminho pedregoso da burocracia da UFMA, solucionando problemas com um bom humor invejável.

À Rayssa Okoro, uma das pessoas mais fantásticas com quem já tive oportunidade de conviver e contar meus segredos. Você fez desses últimos meses a melhor época da minha vida e tornou todo o processo de finalização deste trabalho muito mais leve do que pensei que seria. Obrigado por me fazer feliz desde o primeiro dia.

Aos amigos de colégio, Ibraim, Gabriella, Larissa, Layanna e Luan pelos momentos de descontração, comemorações e pela amizade de vocês. Jamais irei esquecê-los.

Aos companheiros de laboratório pela ajuda nos procedimentos. Em especial, William e Iraine que sempre se fizeram presentes e me ensinaram praticamente tudo o que sei sobre Biologia Molecular, além de dividirem as frustrações do processo.

Aos amigos que fiz durante o Ciência sem Fronteiras, Fernando, Natália, Fernanda, André, Tomás, Pedro, Marcos, Diego, Tião, Elisson, Airton, Austin, Matt, Cheston, Johanna, Dean e Brian pelos momentos de descontração, oportunidades de trabalho e viagens que vocês me proporcionaram e dividiram comigo, tornando essa experiência uma das melhores da minha vida.

Aos diretores da sessão de ictiologia da Texas Natural History Collections pela oportunidade de estágio e por confiarem em mim para identificar seus peixes cartilagosos.

À Kiko Consulin por me ajudar nas atividades com invertebrados marinhos e a criar um amor especial pelas coisas pequenas da vida que existem no Araçagy.

Aos amigos de Belém, Antônio, Jeferson, Fabíola, Isabella, Milena, Tommaso, Flávio e Cláudia, por todo o apoio durante meu estágio na UFPA e por me ensinarem técnicas de laboratório que me fizeram muito melhor no que faço. Em especial, obrigado à Alexandra Costa, que me abrigou, cuidou de mim e foi uma verdadeira amiga desde o primeiro dia. Você jamais será esquecida e ainda irei acompanhar alguma coleta de cetáceos com você.

Aos pescadores e demais envolvidos, em especial Wagner, nas coletas que me cederam seu tempo e/ou amostras do seu ganha pão para a realização desse trabalho.

1 Identificação molecular das espécies de tubarão (Elasmobranchii: Selachii) comercializadas no  
2 Delta do Rio Parnaíba, Tutóia, Maranhão.

3

4

Leonardo Manir Feitosa<sup>1</sup>

5

6 <sup>1</sup>Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos  
7 Portugueses, 1966, Cidade Universitária, São Luís, Maranhão, Brasil. Email:  
8 [lmfeitos@gmail.com](mailto:lmfeitos@gmail.com)

9

## 10 RESUMO

11 Os tubarões são peixes cartilaginosos que ocupam o topo de cadeias tróficas de inúmeros  
12 ecossistemas costeiros e oceânicos. Devido a suas características biológicas e ecológicas (e.g.  
13 maturação sexual tardia, crescimento lento e baixa fertilidade), são suscetíveis à declínios  
14 populacionais quando encontram-se sob intensa pressão pesqueira. Embora os dados estatísticos  
15 sobre a produção pesqueira de tubarões no Brasil sejam escassos e descontínuos, estima-se que a  
16 região Norte/Nordeste do país apresente os maiores índices nacionais de pesca acompanhante de  
17 tubarões. Além disso, os tubarões pescados são desembarcados e vendidos em forma de charuto  
18 (sem nadadeiras e cabeça), o que dificulta a identificação morfológica das carcaças e impede  
19 uma fiscalização eficaz. O presente trabalho teve como objetivo investigar a composição  
20 faunística de tubarões comercializados no município de Tutóia (Maranhão), por meio da  
21 identificação taxonômica por *barcodes* de DNA. O material foi obtido nos pontos de venda de  
22 pescado em Tutoia entre 2014 e 2016. Para fazer a identificação molecular, foram amplificados  
23 três marcadores moleculares: dois mitocondriais (COI e NADH2) e um nuclear (ITS2). Durante  
24 o estudo, 336 amostras foram obtidas, das quais 114 foram identificadas. Dentre as nove espécies  
25 identificadas, cinco são consideradas ameaçadas de extinção em nível nacional e sete em nível  
26 internacional. Os resultados obtidos evidenciam a prática de crimes ambientais e a importância  
27 da região do Delta do Rio Parnaíba para a conservação das espécies de tubarão que ocorrem na  
28 região. *Rhizoprionodon porosus* (46%) foi a espécie mais comum dentre as amostras  
29 identificadas, seguida de *Carcharhinus acronotus* (21,7%) e *Sphyrna mokarran* (18,6%). Os  
30 resultados demonstraram um número expressivo de espécies ameaçadas sendo comercializadas,  
31 especialmente os tubarões-martelo, evidenciando a falta de fiscalização de desembarque  
32 pesqueiro naquela localidade. Encoraja-se a aplicação de medidas que mitiguem a captura

33 accidental de tubarões, como adaptações nos petrechos de pesca, e fiscalização mais efetiva por  
34 parte dos órgãos competentes.

35 **Palavras-chave:** Pesca artesanal; Genética Forense; Costa Norte do Brasil; Chondrychthyes.

## 36 **ABSTRACT**

37 Sharks are cartilaginous fishes of the class Chondrychthyes and considered apex  
38 predators. In addition, are extremely susceptible to elevated fishing pressure due to its life history  
39 characteristics such as late sexual maturation, slow growth and low fertility. In Brazil, shark  
40 fisheries productivity data are scarce. However, the Northern and Northeastern regions have the  
41 highest indices of shark bycatch in the country. Furthermore, shark fisheries in Brazil land  
42 processed (*charuto*) finless and headless animals, thus making the morphological identification  
43 of carcasses and inspection difficult. Thus, the present study aimed at investigating the faunistic  
44 composition of sharks traded in Tutoia through DNA barcoding. Samples were obtained in the  
45 fish trading points of the city between 2014 and 2016. In order to perform the molecular  
46 identification, three markers were used: two mitochondrial (COI and NADH2) and one nuclear  
47 (ITS2). Throughout the study 336 samples were obtained, from which 114 were successfully  
48 sequenced and yielded acceptable identifications of 9 species. Five of these are considered  
49 endangered nationally and seven are in any level of extinction internationally. This is substantial  
50 evidence that environmental crimes are taking place in Tutoia's fisheries and highlight the  
51 importance of Parnaíba River's Delta to the conservation of sharks in Maranhão. The most  
52 abundant species among the identified samples was *Rhizoprionodon porosus* (46%) followed by  
53 *Carcharhinus acronotus* (21.7%) and *Sphyrna mokarran* (18.6%). Results are alarming due to  
54 the high occurrence of endangered species and the elevated abundance of *S. mokarran*, thus  
55 calling for the lack of fisheries landing inspections, which should be extremely rigorous and  
56 punitive. Use of shark bycatch mitigation techniques, such as adapting gill nets as well as  
57 making inspections more frequently are encouraged.

58 **Key-words:** Fisheries, Forensic genetics; Brazilian Northern Coast; Chondrychthyes.

59

60

## INTRODUÇÃO

61 Tubarões (Selachii), em geral, ocupam o topo de cadeias tróficas costeiras e oceânicas  
62 (Spiers et al. 2016). Portanto, influenciam direta e indiretamente populações de inúmeras outras  
63 espécies de organismos marinhos (Ferreti et al. 2010; Spiers et al. 2016). É um grupo diverso de  
64 peixes cartilagosos com distribuição global e 509 espécies descritas até o momento (Weigmann  
65 2016), das quais 95 ocorrem na costa brasileira (Rosa e Gadig 2014; Soares et al. 2015; Viana et  
66 al. 2016; Soares et al. 2016). Os tubarões apresentam características biológicas que lhes  
67 conferem o *status* de organismos K estrategistas, tais como baixa mortalidade em estágios  
68 juvenis, ampla distribuição geográfica, capacidade de múltiplas reproduções ao longo da vida,  
69 baixa fertilidade, crescimento lento e longa duração de vida (Correia 2009). Entretanto, as  
70 características acima citadas também são responsáveis pelo declínio rápido de populações de  
71 tubarões quando aliadas a pressões antrópicas, como a pesca predatória e acidental (Clarke 2008;  
72 Dent e Clarke 2015).

73 A pesca de tubarões tem movimentado centenas de milhões de dólares a cada ano (Worm  
74 et al. 2013; Dulvy et al. 2014). No ano de 2010, por exemplo, estima-se que a produção  
75 pesqueira de tubarões tenha sido de 1.412.000 toneladas no mundo todo (Worm et al. 2013).  
76 Entre 1987 e 2012, o principal motivo para a sobre-exploração de espécies de tubarão foi a  
77 comercialização de nadadeiras (Clarke 2008; Dent e Clarke 2015). O valor do quilograma de  
78 nadadeira de tubarão no mercado asiático já variou de USD \$410,00 a USD \$630,00 para as  
79 espécies mais comuns, podendo chegar a USD \$1580,00/kg para espécies raras (Fabinyi e Liu  
80 2014). Atualmente, este mercado vem sendo modificado em resposta às leis ambientais e  
81 campanhas publicitárias de proteção aos tubarões. Como consequência, o preço das barbatanas  
82 tem caído no mercado chinês, o maior consumidor mundial de tubarões, reduzindo a demanda  
83 por este item no mundo todo (Fabinyi e Liu 2014).

84 Apesar da redução na demanda por subprodutos, as populações de tubarões do Atlântico  
85 Sul continuam sob intensa pressão pesqueira, obtendo valores de captura maiores do que de  
86 países com importância mundial na pesca de tubarões entre 2008 e 2011, como Espanha e  
87 Honduras (Dent e Clarke, 2015; Barreto et al. 2016). Entretanto, apesar dos números alarmantes,  
88 é importante ressaltar que o efeito da pesca artesanal ainda é constantemente negligenciado  
89 nestas estatísticas pesqueiras. Se consideradas, o número de toneladas de tubarão pescadas

90 anualmente aumenta em até 50% (Pauly e Zeller 2016). Por conta disso, 63% das espécies de  
91 elasmobrânquios já estão classificadas sob algum grau de ameaça de extinção (Dulvy et al.  
92 2014). Como consequência, Elasmobranchii é atualmente considerado o grupo de vertebrados  
93 aquáticos sob maior ameaça de extinção do mundo (Dulvy et al. 2014).

94 No Brasil, entre 2001 e 2011, mais de 115 mil toneladas de peixes cartilagosos foram  
95 pescadas (FAO Fishstat 2012). Entretanto, devido à numerosa frota pesqueira e a fiscalização  
96 falha, os dados atualizados de pesca de tubarões no Brasil são insuficientes e pouco precisos.  
97 Segundo Oliver et al (2015), as regiões Norte e Nordeste são responsáveis pelos maiores índices  
98 de pesca acompanhante de tubarões no Brasil. No Maranhão, a venda das nadadeiras para o  
99 mercado chinês foi, por décadas, a atividade mais rentável relacionada a pesca de tubarões. Em  
100 contrapartida, a carne de tubarão tinha baixo valor comercial, resultando em pouca  
101 comercialização local nos municípios do Estado (Martins 2015). Com as recentes proibições da  
102 prática de *finning* (corte das nadadeiras ainda na embarcação e subsequente descarte do animal  
103 vivo) e de pesca de várias espécies ameaçadas pelas agências reguladoras do país, como o  
104 Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), a exportação  
105 de nadadeiras de tubarão para o mercado asiático diminuiu consideravelmente na região (Martins  
106 2015). Isso levou a uma modificação no consumo dos tubarões pescados com a valorização da  
107 carne e mudança de foco na produção a fim de abastecer o mercado local e regional (Martins  
108 2015).

109 Apesar das medidas de conservação adotadas pelo Ministério do Meio Ambiente e pelo  
110 extinto Ministério da Pesca e Aquicultura (e.g. Portaria 445/2014 e o Plano de Ação Nacional  
111 para Conservação de Tubarões e Raias Ameaçadas de Extinção, PAN-Tubarões), a pesca,  
112 retenção e comercialização de várias espécies de tubarões continuam acontecendo no Maranhão.  
113 No Estado, há registro de ocorrência de 19 espécies desse animais (Lessa et al. 1999), das quais  
114 11 (*Sphyrna mokarran*, *S. lewini*, *S. tudes*, *S. tiburo*, *Carcharhinus porosus*, *C. perezi*, *C.*  
115 *obscurus*, *C. plumbeus*, *Ginglymostoma cirratum*, *Mustelus canis* e *Isogomphodon oxyrhynchus*)  
116 encontram-se na Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção – Peixes e  
117 Invertebrados Aquáticos (Portaria nº 445/2014 – MMA). Dulvy et al (2014) coloca a região norte  
118 do Brasil até o Golfão Maranhense como uma área de grande importância para a conservação de  
119 elasmobrânquios baseado na endemicidade de espécies e importância do habitat para reprodução

120 e manutenção de suas populações. No Estado, a fiscalização da pesca e comercialização de  
121 subprodutos é pouco eficiente e o uso de técnicas que evitem ou reduzam a captura acidental  
122 dessas espécies é desconhecido ou não aplicado pelos pescadores (Martins 2015). Por conta da  
123 prática de desembarque dos espécimes sem cabeça e nadadeiras, a identificação morfológica fica  
124 prejudicada, dificultando a fiscalização de campo e abrindo margem para fraudes no comércio de  
125 pescado (Barbutto et al. 2010; Carvalho et al. 2015).

126 A identificação molecular baseada na utilização de sequências de genes específicos surge  
127 como uma importante ferramenta na identificação de espécies. O uso de um ou mais marcadores  
128 moleculares padronizados para identificação molecular permite análises comparativas  
129 complementares, ou, até mesmo, a substituição do uso único da morfologia externa para  
130 identificação do animal em nível específico (Dudgeon et al. 2012). Essa ferramenta, conhecida  
131 como DNA *barcoding*, consiste na utilização de um fragmento do gene mitocondrial (mtDNA)  
132 da citocromo oxidase subunidade I (COI) para a identificação de espécies de vertebrados (Hebert  
133 et al. 2003). Entretanto, outros marcadores também foram desenvolvidos com o objetivo de  
134 identificar espécies de divergência recente, espécies crípticas ou variantes geográficas (Naylor et  
135 al. 2012). Os principais marcadores alternativos utilizados são: NADH desidrogenase sub-  
136 unidade 2 (ND2, mtDNA) (Henderson et al. 2016) e o *internal transcribed spacer region* (ITS2,  
137 DNA nuclear) (Pank et al. 2001).

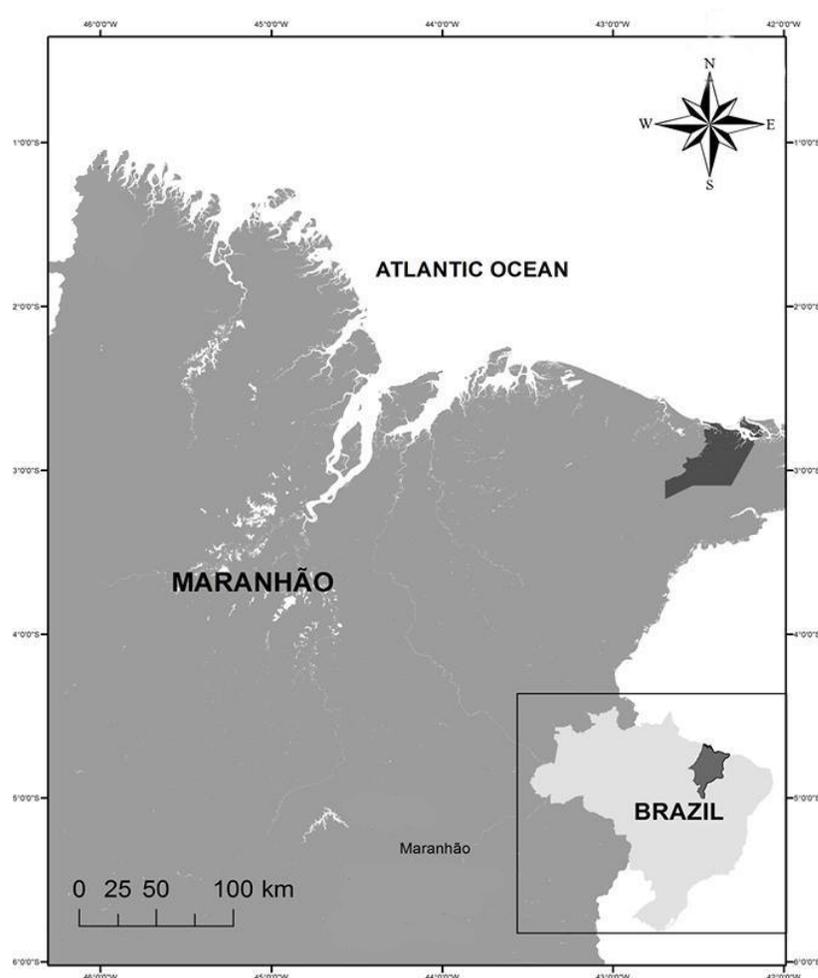
138 A identificação molecular já tem sido amplamente usada para identificar espécies de  
139 tubarões diretamente afetadas pela produção pesqueira no Brasil (Pinhal et al. 2008; Mendonça  
140 et al. 2010; Pinhal et al. 2012; Rodrigues-Filho et al. 2012; Domingues et al. 2013; Carvalho e  
141 Freitas 2013) e no mundo (e.g. Shivji et al. 2005, Abercrombie et al. 2005, Clarke et al. 2006,  
142 Liu et al. 2013; Chuang et al. 2016). Entretanto, o Maranhão, que possui uma produção pesqueira  
143 expressiva de elasmobrânquios (Lessa et al. 1999; Almeida 2008), ainda carece desse tipo de  
144 estudo. Além disso, o caráter local e constante das capturas, somado ao extenso litoral, a  
145 ocorrência de várias espécies ameaçadas, ausência de dados recentes sobre a composição  
146 pesqueira e o desembarque de espécimes cuja identificação morfológica fica comprometida,  
147 dificultam a obtenção de dados científicos precisos e, conseqüentemente, a tomada de medidas  
148 de conservação para as espécies exploradas e inspeção efetivas.

149 Sendo assim, a identificação molecular de espécies de tubarões pescadas e  
150 comercializadas no Maranhão torna-se uma ferramenta essencial para fiscalização eficaz e  
151 aplicação efetiva das leis ambientais. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo  
152 investigar a composição de espécies de tubarões comercializados no maior porto pesqueiro do  
153 Estado, localizado no município de Tutoia, usando a ferramenta de identificação por DNA para  
154 verificar a ocorrência de pesca e/ou comercialização ilegal de espécies ameaçadas de tubarões.

## 155 **MATERIAIS E MÉTODOS**

### 156 **Área de estudo**

157 Tutoia (Figura 1) possui uma das frotas pesqueiras com maior volume de produção do  
158 Estado do Maranhão, com barcos de 10 a 13 metros e autonomia de até 20 dias (Martins 2015).  
159 A maioria das embarcações voltadas para captura de peixes usa como petrecho de pesca redes de  
160 emalhar de 6 km de comprimento com 11 cm de malha entre nós (Obs. pessoal). Os tubarões  
161 desembarcados, em geral, são capturados como pesca acompanhante do peixe-serra  
162 (*Scomberomorus brasiliensis*), camurupim (*Megalops atlanticus*) e pescada (*Cynoscion acoupa*).



163

164 **Fig. 1** Localização da cidade de Tutóia, no extremo leste do estado do Maranhão, onde amostras  
 165 de tecidos de tubarões foram coletadas.

166 Foram obtidas 336 amostras de tecidos de músculo e nadadeira entre 2014 e 2016, por  
 167 meio do acompanhamento do desembarque da produção pesqueira e de visita ao mercado  
 168 municipal de pescado. Foram feitas cinco coletas, abrangendo os períodos seco e chuvoso.  
 169 Apenas espécimes cuja identificação morfológica não poderia ser realizada foram amostrados, ou  
 170 seja, espécimes desembarcados ou comercializados sem cabeça e/ou nadadeiras (charuto) (Figura  
 171 2). As amostras de tecido foram fixadas em etanol 100% e levadas ao Laboratório de Genética e  
 172 Biologia Molecular (LabGeM/UFMA), onde foram armazenadas a -20°C até a extração de DNA.  
 173 A autorização para coleta e transporte de material foi concedida pelo IBAMA (N. 50091-1).



174

175 **Fig. 2** Comercialização de tubarões processados (charuto) no município de Tutoia.

176

### 177 **Obtenção e análise de dados moleculares**

178 Do total de amostras, 284 tiveram o DNA extraído com sucesso usando o protocolo  
179 adaptado de Aljanabi & Martinez (1997) e o kit de extração *Wizard Genomics Purification*  
180 (Promega). O material genético obtido foi quantificado em Nanodrop 2000 (ThermoFisher) e  
181 visualizado em gel de agarose 1% corado com GelRed (Biotium).

182 Para a identificação molecular das amostras, foram usados dois marcadores mitocondriais  
183 (COI e NADH2) e um nuclear (ITS2). As amplificações dos fragmentos foram realizadas com  
184 *primers* descritos na literatura para os genes COI (FISH FI/R1, Ward et al. 2005), NADH2  
185 (ILEM/ASNM, Naylor et al. 2012) e ITS2 (FISH5.8S/FISH28S, Abercrombie et al. 2005). As  
186 condições de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para o COI foram: 94°C por 2 minutos,  
187 seguido por 35 ciclos de 94°C por 30s, 54°C por 30s, 72°C por 60s e temperatura de extensão  
188 72°C por 10 minutos. Para o ND2, as temperaturas de reação foram 94°C por 3 minutos, seguido  
189 por 39 ciclos de 94°C por 30s, 48°C por 30s e 72°C por 90s e temperatura de extensão por 5

190 minutos. Para o ITS2, as condições de reação foram 94°C por 15 minutos, seguido por 35 ciclos  
191 de 94°C por 1 minuto, 64°C por 1 minuto, 72°C por 2 minutos e temperatura de extensão 72°C  
192 por 5 minutos. A verificação dos produtos de PCR foram feitas por meio de eletroforese em gel  
193 de agarose 1% (90V, 300mA, 30min). Os amplicons foram purificados usando o kit Illustra Exo  
194 Prostar (*GE Healthcare Life Sciences*) e posteriormente sequenciados unidirecionalmente usando  
195 BigDye terminator v3.1 kit (Applied Biosystems) em sequenciador automático ABI 3500  
196 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

197 As sequências foram selecionadas quanto à qualidade, editadas no software Geneious Pro  
198 versão 4.5.8 (Kearse et al. 2012), e alinhadas usando MUSCLE (Edgar 2004). As distâncias  
199 genéticas intra e inter-específicas foram calculadas usando o modelo Kimura-2-parâmetros  
200 (K2P) (Kimura 1980) no software MEGA 6 (Tamura et al. 2011). A identificação das amostras  
201 foi realizada através de BLAST (*Basic Local Alignment Research Tool*) (Madden 2002),  
202 comparando as sequências obtidas para cada marcador com as disponibilizadas nos bancos de  
203 DNA do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) para os três marcadores e no  
204 BOLD (*Barcodes of Life Database*) para o COI. O parâmetro de validação utilizado para a  
205 identificação de uma espécie foi de divergência genética máxima de 2% entre as sequências para  
206 todos os marcadores usados (Hebert et al. 2003; Abercrombie et al. 2005; Henderson et al.  
207 2016). Árvores *neighbor-joining* foram construídas no software MEGA 6 para os marcadores  
208 mitocondriais, usando-se também sequências das espécies identificadas já existentes nos bancos  
209 de dados do NCBI e BOLD (CFSAN122-11; ESHKC146-07; ANGBF11050-15; ESHKD066-  
210 07; ESHKD054-07; ANGBF12418-15; ANGBF11453-15; ANGBF12565-15; JQ518620.1;  
211 JQ518621.1; U91417.1; U91422.1; JQ518692.1; JQ518648.1; JQ518646.1; JQ518651.1;  
212 JQ518690.1).

### 213 **Classificação de ameaça de extinção**

214 Para a classificação de grau de ameaça de extinção em nível nacional, foi consultada a  
215 Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção – Peixes e Invertebrados  
216 Aquáticos (Portaria 445/2014 Ministério do Meio Ambiente). Para o nível internacional, foram  
217 usadas informações presentes na Lista Vermelha da IUCN (*International Union for the*  
218 *Conservation of Nature*) e da presença ou não destas nos apêndices da CITES (*Convention on*

219 *International Trade of Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) – organização que tem  
220 como função delimitar o comércio de espécies ameaçadas de extinção no mundo.

## 221 **RESULTADOS**

### 222 **Citocromo Oxidase Subunidade 1 (COI)**

223 De 254 amostras testadas, 148 tiveram o marcador amplificado e 75 produziram  
224 sequências com qualidade suficiente para a identificação molecular. Depois de alinhadas, as  
225 sequências resultaram em 580 pares de base. As sequências de COI forneceram identificação  
226 para sete espécies (*Rhizoprionodon porosus*, *Sphyrna mokarran*, *Sphyrna lewini*, *Ginglymostoma*  
227 *cirratum*, *Carcharhinus acronotus*, *Carcharhinus porosus*, *Galeocerdo cuvier*) cinco gêneros,  
228 três famílias (Carcharhinidae, Sphyrnidae, Ginglymostomatidae) e duas ordens  
229 (Carcharhiniformes e Orectolobiformes) (Tabela 1).

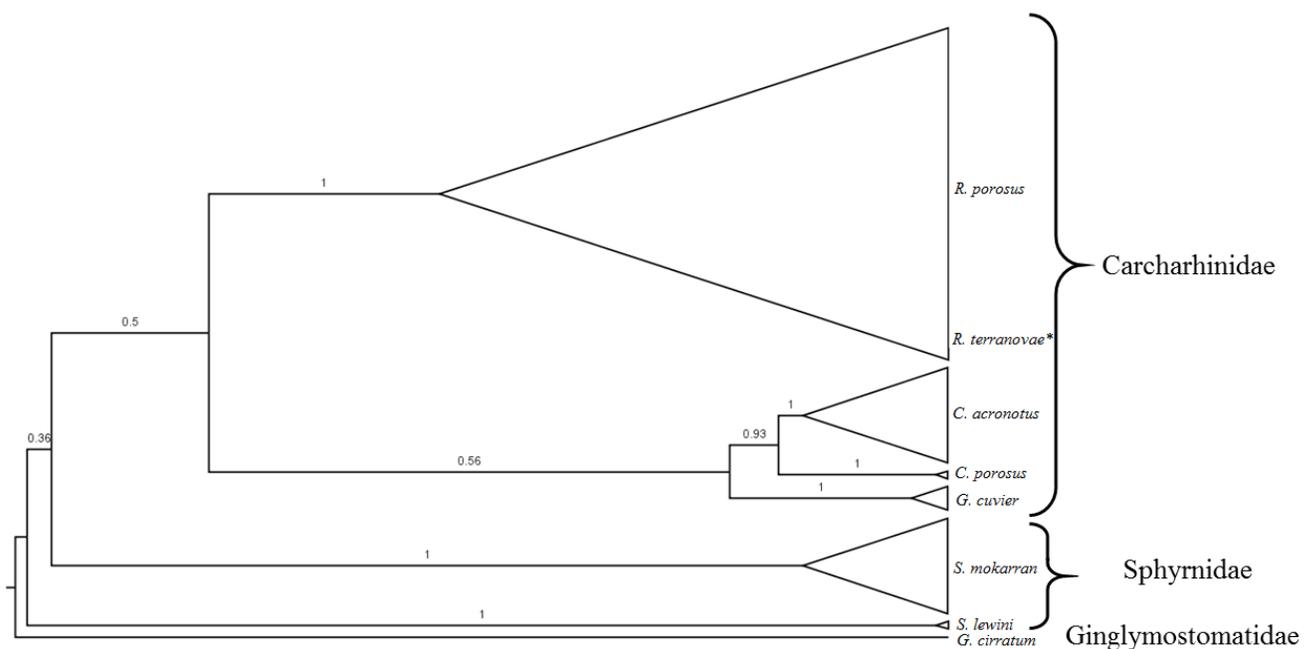
230 A distância genética K2P média entre as espécies foi de 3,1% (Tabela 1). Todas as  
231 espécies identificadas tiveram divergência maior do que 2% quando comparadas entre si, sendo  
232 as menores entre as duas espécies do gênero *Carcharhinus* e as maiores entre *Ginglymostoma*  
233 *cirratum* (família Orectolobidae) e as demais espécies da família Carcharhinidae.

234 Tabela 1: Distâncias genéticas Kimura 2-parâmetros pareadas para o fragmento do gene COI das  
235 espécies de tubarões identificadas.

Espécie	1	2	3	4	5	6	7
<i>Rhizoprionodon porosus</i> (1)							
<i>Sphyrna mokarran</i> (2)	0.047						
<i>Sphyrna lewini</i> (3)	0.056	0.064					
<i>Carcharhinus acronotus</i> (4)	0.038	0.062	0.060				
<i>Carcharhinus porosus</i> (5)	0.047	0.067	0.069	0.025			
<i>Galeocerdo cuvier</i> (6)	0.041	0.058	0.068	0.032	0.051		
<i>Ginglymostoma cirratum</i> (7)	0.118	0.127	0.129	0.125	0.127	0.121	

236 A árvore *neighbor-joining* (Figura 2) reforça a identificação das espécies usando o  
237 método do DNA *barcode*. O alinhamento obtido resultou na formação de clados com suporte

238 elevado correspondentes às espécies identificadas. Entretanto, não foi possível separar, segundo  
 239 os parâmetros delimitados por Hebert et al (2003), as espécies *Rhizoprionodon porosus* e *R.*  
 240 *terranovae* (Genbank) usando o COI.



241  
 242 **Fig. 3** Árvore de *neighbor-joining* para as espécies de tubarão identificadas pelo marcador COI.  
 243 Valores mostrados nos ramos representam os valores de suporte de cada nó calculados por meio  
 244 de *bootstrap* (1000 pseudoréplicas). A espécie marcada com \* não foi encontrada entre as  
 245 amostras, mas inserida a partir de sequências retiradas da base de dados do NCBI.

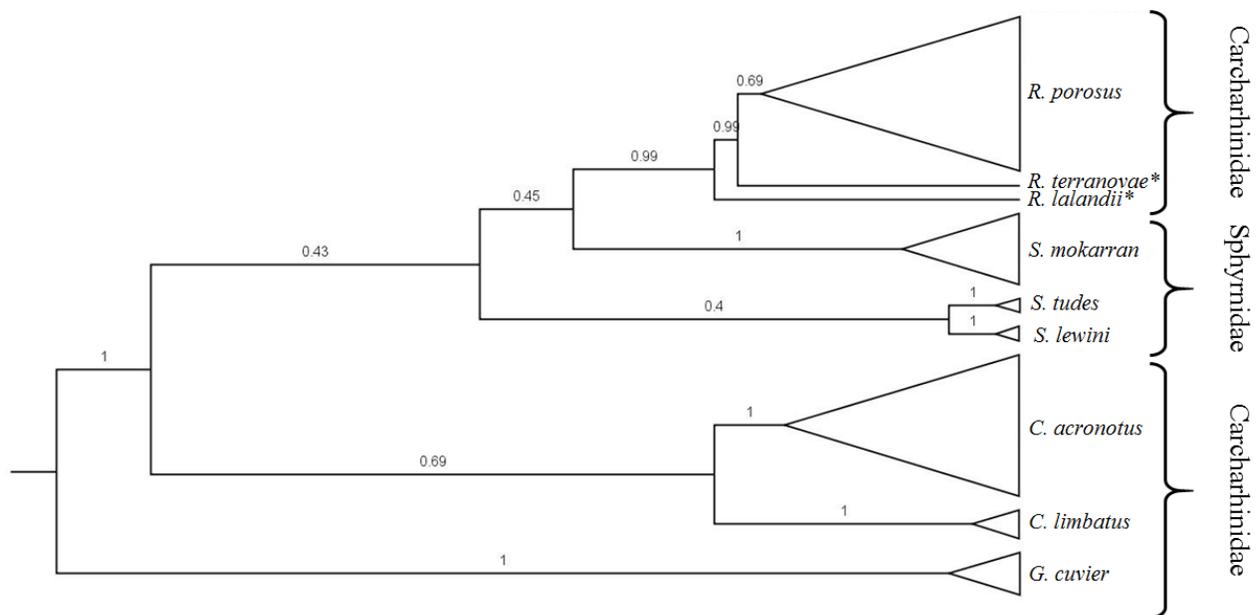
### 246 NADH Desidrogenase Subunidade 2 (NADH2)

247 Foram testadas 141 amostras, das quais 45 foram amplificadas e 31 sequenciadas com  
 248 êxito. Após alinhadas, as sequências resultaram em 648 pares de base. Por este marcador, foram  
 249 identificadas sete espécies (*R. porosus*, *C. acronotus*, *C. limbatus*, *S. mokarran*, *S. tudes*, *S.*  
 250 *lewini*, *Galeocerdo cuvier*) de quatro gêneros e duas famílias diferentes (Carcharhinidae e  
 251 Sphyrnidae), ambas da ordem Carcharhiniformes. A média de divergência interespecífica foi de  
 252 6,1 % (Tabela 2). A menor distância foi entre *Carcharhinus limbatus* e *Sphyrna mokarran*  
 253 (4,7%) e a maior foi entre *Galeocerdo cuvier* e *Sphyrna tudes* (11,7%).

254 Tabela 2: Distâncias genéticas Kimura 2-parâmetros pareadas para o fragmento do gene NADH2  
 255 das espécies de tubarões identificadas.

Espécie	1	2	3	4	5	6	7
<i>Sphyrna lewini</i> (1)							
<i>Sphyrna tudes</i> (2)	0.084						
<i>Sphyrna mokarran</i> (3)	0.070	0.081					
<i>Galeocerdo cuvier</i> (4)	0.112	0.117	0.091				
<i>Carcharhinus limbatus</i> (5)	0.087	0.075	0.047	0.088			
<i>Rhizoprionodon porosus</i> (6)	0.075	0.086	0.054	0.103	0.077		
<i>Carcharhinus acronotus</i> (7)	0.079	0.088	0.063	0.101	0.053	0.081	

256 Os clados presentes na Figura 3 representam os grupos de espécies identificadas com o  
 257 marcador NADH2 e reforça sua capacidade de identificação de espécies. Ao contrário do gene  
 258 COI, o NADH2 foi capaz de separar, segundo os padrões delimitados na literatura (Henderson et  
 259 al. 2016), as espécies do gênero *Rhizoprionodon*.



260

261 **Fig. 4** Árvore de *neighbor-joining* para as espécies de tubarão identificadas pelo marcador  
 262 NADH2. Valores mostrados nos ramos representam os valores de suporte de cada nó calculados

263 por meio de *bootstrap* (1000 pseudo-réplicas). Espécies marcadas com \* não foram encontradas  
264 entre as amostras, mas inseridas a partir de sequências retiradas da base de dados do NCBI.

### 265 ***Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2)***

266 Foram testadas 65 amostras, das quais 23 foram amplificadas. Das 23, nove foram  
267 sequenciadas e três espécies identificadas: *Sphyrna mokarran*, *Galeocerdo cuvier* e  
268 *Rhizoprionodon porosus* (famílias Carcharhinidae e Sphyrnidae, ambas da ordem  
269 Carcharhiniformes). A distância genética interespecífica média foi de 13,6%. A menor distância  
270 foi entre *Galeocerdo cuvier* e *Rhizoprionodon porosus* (11,3%) e a maior foi entre *R. porosus* e  
271 *Sphyrna mokarran* (21,9%). Devido ao pequeno número de sequências, a árvore *neighbor-*  
272 *joining* para este marcador não foi estimada.

273 Tabela 3: Distâncias genéticas Kimura 2-parâmetros pareadas para o fragmento do ITS2 das  
274 espécies de tubarão identificadas.

275 Espécie	1	2	3
<i>Galeocerdo cuvier</i> (1)			
<i>Rhizoprionodon porosus</i> (2)	0.113		
<i>Sphyrna mokarran</i> (3)	0.191	0.219	

### 276 **Identificação de espécies ameaçadas**

277 Foram identificadas, com os três marcadores, nove espécies de tubarões, pertencentes a  
278 três famílias (Carcharhinidae, Sphyrnidae, Ginglymostomatidae) e duas ordens  
279 (Carcharhiniformes e Orectolobiformes). A lista com as espécies identificadas encontra-se na  
280 Tabela 4, juntamente com seus respectivos *status* de conservação de acordo com a Portaria  
281 nº445/2014 (MMA), a IUCN e sua regulação na CITES.

282 Tabela 4: Lista de espécies identificadas pelos três marcadores moleculares, legislações punitivas  
283 de pesca e seu grau de ameaça de extinção: DD – Dados deficientes; LC – pouco preocupante;  
284 VU – Vulnerável; NT – Pouco ameaçada; EN – Ameaçada; CR – criticamente ameaçada. CITES  
285 (*Convention on International Trade of Endangered Species of Wild Fauna and Flora*). IUCN  
286 (*International Union for the Conservation of Nature*). Número de espécimes identificados para

287 cada espécie representado por n. Espécies sem delimitação nas categorias de conservação não  
 288 estão presentes nas listas (-). Asteriscos representam espécies que estão com algum grau de  
 289 ameaça de extinção no Brasil, tendo sua captura e comercialização proibidas em todo o território  
 290 nacional. † representa espécies incluídas no Apêndice 2 da CITES, que inclui espécies listadas  
 291 nas categorias mais brandas de ameaça de extinção e têm o comércio internacional liberado  
 292 mediante documentação exigida, sem restrição para importação.

Espécie	Portaria 445/2014	CITES	Status IUCN	n
<i>G. cirratum</i> *	VU	-	DD	1
<i>C. porosus</i> *	CR	-	DD	1
<i>S. tudes</i> *†	CR	Apêndice 2	VU	1
<i>G. cuvier</i>	-	-	NT	7
<i>S. lewini</i> *†	CR	Apêndice 2	EN	3
<i>S. mokarran</i> *†	EN	Apêndice 2	EN	21
<i>R. porosus</i>	-	-	LC	53
<i>C. acronotus</i>	-	-	NT	25
<i>C. limbatus</i>	-	-	NT	2
Total				114

293

## 294 DISCUSSÃO

295 Neste estudo, foram encontradas nove espécies de tubarão dentre as amostras coletadas,  
 296 das quais oito são consideradas ameaçadas nacional e/ou mundialmente. A identificação de  
 297 espécies ameaçadas de extinção sendo comercializadas no município de Tutoia constitui um  
 298 alerta para a prática de crimes ambientais na produção pesqueira do Maranhão. Sendo assim, a  
 299 ferramenta molecular forneceu dados precisos acerca da captura de elasmobrânquios e deve ser  
 300 usada nas estatísticas pesqueiras nacionais. Estudos de genética forense aplicada à pesca têm  
 301 contribuído para o melhor entendimento e monitoramento da comercialização de pescados no  
 302 mundo todo (Clarke et al. 2006; Henderson et al. 2016). Por conta disso, violações nas

303 legislações ambientais locais e internacionais vem sendo evidenciadas com maior frequência  
304 (Liu et al. 2013; Sembiring et al. 2015).

### 305 **Marcadores moleculares para identificação de espécies**

306 A ferramenta de *barcodes* de DNA usando o COI foi eficaz para identificação das  
307 espécies de tubarão comercializadas em Tutóia, corroborando os trabalhos de Ward et al. (2005)  
308 e Holmes et al (2009). Os resultados obtidos com o COI foram satisfatórios para a maioria das  
309 espécies, pois a distância genética interespecífica foi maior do que os 2% estabelecidos por  
310 Hebert et al (2003) como limite inferior para delimitação de espécies (Tabela 1). Entretanto,  
311 marcadores com diferentes taxas de evolução vêm sendo úteis na sistemática molecular para a  
312 resolução de incertezas taxonômicas e descoberta de variantes geográficas (Naylor et al. 2012;  
313 Quattro et al. 2006; Henderson et al. 2016). Portanto, a proposta de Hebert et al. (2003) para o  
314 uso de um único marcador (COI) para identificação de espécies animais deve ser seguida com  
315 ressalvas. Neste trabalho, o uso de múltiplos marcadores foi crucial para a obtenção de resultados  
316 mais confiáveis.

317 Por exemplo, no caso de *Rhizoprionodon*, quando as sequências de COI foram  
318 submetidas ao BLAST no BOLD, resultaram em 100% de similaridade com sequências de *R.*  
319 *porosus* e *R. terranovae*, espécies-irmãs de divergência evolutiva recente e com identificação  
320 morfológica confusa (Compagno et al. 2005; Naylor et al. 2012). Entretanto, *R. terranovae*  
321 ocorre apenas até o Golfo do México, enquanto que *R. porosus* ocorre do Caribe até o sul do  
322 Brasil (Compagno et al. 2005). Portanto, a literatura disponível acerca da distribuição geográfica  
323 dessas duas espécies foi fundamental para confirmar as amostras de Tutóia como de indivíduos  
324 de *R. porosus*.

325 Ambos os marcadores ND2 e ITS2 foram ainda mais eficientes em delimitar as espécies  
326 do gênero *Rhizoprionodon*, permitindo separar *R. porosus* de *R. terranovae* e *R. lalandii*,  
327 sugerindo que são marcadores de maior resolução para espécies de divergência mais recente. O  
328 gene ND2 vem sendo usado nos últimos anos para a realização de revisões taxonômicas em  
329 grupos de elasmobrânquios (Faria et al. 2013), análises filogenéticas de grande escala (Naylor et  
330 al. 2012) e identificações de pescado comercializado (Henderson et al. 2016). Já o marcador

331 ITS2 vem sendo usado para identificação molecular de tubarões, através de PCR *multiplex*  
332 (Abercrombie et al. 2005; Dudgeon et al. 2012).

### 333 **Pesca e regulação**

334 O uso de ferramentas de identificação molecular de espécies tem sido usado como base  
335 para aplicação de medidas regulatórias pela CITES para certas espécies como raias do gênero  
336 *Manta*, comércio ilegal de carne de baleia, barbatanas de tubarões e chifres de rinocerontes  
337 (Iyengar, 2014; Zeng et al. 2016). Os resultados obtidos neste trabalho revelam a pesca e  
338 comércio de espécies ameaçadas, corroborando estudos realizados na Ásia, onde espécies  
339 ameaçadas de extinção também foram identificadas dentre os bioprodutos comercializados  
340 (Clarke et al. 2006; Liu et al. 2013; Sembinrig et al. 2015). Algumas espécies identificadas nos  
341 estudos acima citados também foram amostradas no presente trabalho, como *S. mokarran*, *S.*  
342 *lewini*, *C. limbatus* e *G. cuvier*, todas com distribuição global (Weigmann 2016). Já no Brasil,  
343 estudos de identificação molecular através de DNA *barcoding* mostram diversidade de espécies  
344 de elasmobrânquios inferior à obtida neste trabalho, mas também evidenciam a captura de  
345 espécies ameaçadas nacional e internacionalmente (e. g. *S. lewini*) (Ribeiro et al. 2012; Carvalho  
346 e Freitas, 2013; Domingues et al. 2013). A baixa diversidade nestes trabalhos se deve,  
347 provavelmente, ao fato de não terem sido realizados com o objetivo de monitoramento e  
348 investigação das espécies de tubarão pescadas nas localidades estudadas, mas sim de  
349 identificação de peixes marinhos (cartilaginosos e teleósteos) ou de amostras de tubarões obtidas  
350 pontualmente. Sendo assim, o presente trabalho evidencia que um número maior de espécies  
351 ameaçadas do que se sabia está sendo comercializado no país, fruto de pesca predatória artesanal.  
352 Portanto, o uso de identificação molecular de tubarões, usado em estudos de monitoramento de  
353 pescado, é essencial para a avaliação de captura de espécies ameaçadas no Brasil.

354 A comercialização local de tubarões é regida por leis estaduais ou nacionais, enquanto  
355 que as leis internacionais (e.g CITES) não têm aplicação no Maranhão enquanto não ocorrer  
356 exportação. Entretanto, o grau de ameaça proposto pela IUCN, apesar de não ter caráter  
357 regulatório, serve de diretriz para a elaboração de legislação acerca da conservação de espécies  
358 ameaçadas. Portanto, apesar de apenas cinco (*S. mokarran*, *S. lewini*, *S. tudes*, *G. cirratum* e *C.*  
359 *porosus*) das nove espécies encontradas neste estudo terem a pesca, comercialização e  
360 armazenamento proibidos em território brasileiro, a captura das espécies consideradas sob algum

361 grau de ameaça mundialmente, com base na lista da IUCN (*Carcharhinus acronotus*,  
362 *Carcharhinus limbatus*, *Galeocerdo cuvier*, *Sphyrna mokarran*, *S. tudes* e *S. lewini*), também  
363 deve ser minimizada.

364 Dentre as amostras identificadas, as espécies *Rhizoprionodon porosus* e *Carcharhinus*  
365 *acronotus* foram as mais abundantes, representando 46% e 21,7%, respectivamente. Atualmente,  
366 nenhuma das duas encontra-se na lista de nacional de espécies ameaçadas, mas *C. acronotus* é  
367 considerado sob iminente ameaça de extinção em nível internacional. Além disso, no caso de *R.*  
368 *porosus*, apesar da estratégia reprodutiva anual e contínua (Mattos et al. 2001; Cortés 2002),  
369 estudos demográficos são inexistentes. Portanto, a elevada pressão pesqueira pode ser prejudicial  
370 às populações de *R. porosus*, e pode estar ocasionando redução populacional na região. No caso  
371 de *C. acronotus*, sua capacidade de recuperação populacional é menor por conta de menores  
372 taxas de crescimento populacional (Cortés 2002). Essa espécie tem reprodução bienal, maturação  
373 sexual a partir de 4,5 anos para fêmeas e média de 3,5 filhotes por gestação (Driggers et al.  
374 2004). Levando essas características em conta, o número de espécimes (n=25) identificados é  
375 alarmante, podendo representar uma grande parcela capturada de uma população em possível  
376 declínio.

377 A quantidade de espécimes do gênero *Sphyrna* presente nas amostras também foi  
378 elevada. *Sphyrna mokarran*, por exemplo, correspondeu a 18,2% das amostras identificadas.  
379 Além de *S. mokarran*, outras duas espécies (*S. tudes* = 1,14% e *S. lewini* = 3,45%), criticamente  
380 ameaçadas no Brasil, foram amostradas no trabalho. Esses dados são preocupantes, visto que este  
381 gênero encontra-se sob ameaça de extinção em nível global. Além das características K-  
382 estrategistas, que resultam em uma baixa resiliência à pressões externas como sobrepesca e perda  
383 de habitat, a morfologia do gênero *Sphyrna* (e.g. grande porte, cabeça em formato de martelo)  
384 facilita sua captura em redes de emalhar (Gallagher et al. 2014). No Sul do Brasil, espécies desse  
385 gênero são as principais componentes da pesca acompanhante de *Micropogonias furnieri*,  
386 pescado com redes de emalhar ancoradas (Kotas et al. 2012). Os dados demonstram que os  
387 tubarões-martelo também são suscetíveis à captura acidental em redes de emalhar de deriva.  
388 Apesar de não serem espécies-alvo, os dados mostram que a pesca deste grupo de espécies pode  
389 ter alcançado níveis preocupantes na região do delta do Parnaíba.

390 As demais espécies, somadas, corresponderam a 13,8% do total de amostras identificadas  
391 (*G. cuvier* = 8,05%, *C. limbatus* = 2,3%, *G. cirratum* = 1,14%, *C. porosus* = 1,14%). A baixa  
392 ocorrência destas espécies é um dado preocupante no ponto de vista local, visto que são espécies  
393 de ampla distribuição (Weigmann 2016). Particularmente, a baixa quantidade de *C. porosus*  
394 neste trabalho é surpreendente, visto que esta era uma das espécies mais abundantes no Estado na  
395 década de 1990 (Lessa 1997). Isso pode ter ocorrido devido ao petrecho de pesca utilizado pelos  
396 pescadores. As redes de emalhar utilizadas pela grande maioria dos pescadores capturam os  
397 peixes passivamente enquanto que, para a captura de tubarões, o método mais eficaz é o  
398 espinhel, que atrai os animais de forma mais efetiva através do uso de iscas. No caso de *G.*  
399 *cirratum*, sua captura é comum no litoral central do Maranhão com o uso de espinhel (Martins  
400 2015). Além disso, essa espécie é conhecida pela sua fidelidade local e associação a fundos  
401 rochosos (Rosa et al. 2005). Sua baixa abundância entre as amostras identificadas pode ser  
402 devido, também, à particularidades do habitat das regiões exploradas pelos pescadores, como  
403 ausência de rochas. Considerando o tipo de amostragem usado, os resultados obtidos não  
404 apresentam evidências contundentes da real situação dessas populações e estudos mais  
405 profundos, usando outros petrechos de pesca, são necessários para tal.

406 A ausência de algumas espécies reportadas no Estado há 30 anos (e. g. *Carcharhinus*  
407 *perezi*, *Carcharhinus obscurus*, *Carcharhinus plumbeus*, *Carcharhinus leucas* e *R. lalandii*),  
408 assim como a baixa abundância das espécies anteriormente citadas, são dados preocupantes, pois  
409 sugerem declínios populacionais. A ausência de fiscalização e de dados pesqueiros são fatores  
410 agravantes desta situação. Segundo Martins (2015), a percepção dos pescadores é de que a  
411 tendência de redução das populações de tubarões no Estado se agrave no futuro, caso o cenário  
412 atual se mantenha.

413 Considerando a tradicional pesca artesanal na região, sugere-se a aplicação de medidas de  
414 mitigação de captura acompanhante de espécies de tubarão que não afetem significativamente a  
415 captura das espécies-alvo. Entre estas estão o uso de redes mais tensionadas com boias maiores  
416 na linha principal (Thorpe e Frierson 2009), menor tempo de permanência na água e devolução  
417 dos espécimes que forem capturados ainda com vida. Adicionalmente, sugere-se a realização de  
418 futuros estudos na região que visem a realização de análises demográficas, avaliações da  
419 dinâmica populacional das espécies, compreensão da diversidade genética de cada espécie e seus

420 padrões de uso de habitat, além da delimitação de áreas prioritárias. A obtenção desses dados é  
421 essencial para o estabelecimento de estratégias de conservação para tubarões.

## 422 CONCLUSÃO

423 Os dados apresentados neste trabalho contribuem para o melhor entendimento da fauna  
424 de elasmobrânquios comercializada na porção maranhense do Delta do Rio Parnaíba. A  
425 metodologia usada, principalmente pelo uso de vários marcadores com diferentes taxas de  
426 evolução, mostrou-se eficaz e deveria ser implementada na fiscalização de pescado no Maranhão  
427 e no Brasil. Cinco espécies de tubarões ameaçadas de extinção, cuja pesca e comercialização são  
428 proibidas, foram encontradas em comercialização em Tutoia (MA). Isso demonstra a prática de  
429 crimes ambientais na região. Ao curto prazo, medidas como moratórias regionais que visem  
430 diminuir o número de tubarões capturados como pesca acompanhante poderão levar a bons  
431 resultados. É necessário que as punições para os crimes ambientais aqui evidenciados sejam  
432 colocadas em prática pelos órgãos responsáveis e que a fiscalização seja efetiva e constante para  
433 que a sobreexploração das espécies de tubarão seja coibida.

434

## 435 REFERÊNCIAS

- 436 Abercrombie DL, Clarke SC, Shivji MS (2005) Global-scale genetic identification of  
437 hammerhead sharks: Application to assessment of the international fin trade and law  
438 enforcement. *Conservation Genetics* 6:775-788. doi: 10.1007/s10592-005-9036-2
- 439 Aljanabi SM, Martinez I (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic  
440 DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25(22):4692–4693.
- 441 Almeida ZS (2008) Os recursos pesqueiros marinhos e estuarinos do Maranhão: biologia,  
442 tecnologia, socioeconomia, estado da arte e manejo. 238f. Tese (Programa de Pós-  
443 Graduação em Zoologia) – Universidade Federal do Pará, Belém. 2008.
- 444 Almeida ZS, Fredou FL, Nunes JLS, Lessa RPT, Pinheiro ALR (2011) Biodiversidade de  
445 Elasmobrânquios. *In*: Nunes JLS, Piorski NM (Eds.). *Peixes marinhos e estuarinos do Maranhão*.  
446 São Luís: Café e Lápis, pp 37-94.

447 Barbuto M, Galimberti A, Ferri E, Labra M, Malandra R, Galli P, Casiraghi M (2010) DNA  
448 barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: the Italian case of  
449 “palombo”( *Mustelus* spp.). *Food Research International* 43(1):376-381.  
450 doi:10.1016/j.foodres.2009.10.009

451 Barreto R, Ferretti F, Flemming JM, Amorim A, Andrade H, Worm B, Lessa RPT (2016) Trends  
452 in the exploitation of South Atlantic shark populations. *Conservation Biology* 30(4):792-804.  
453 doi: 10.1111/cobi.12663

454 Carvalho CBV, Freitas JM (2013) The use of DNA barcoding to identify illegally traded shark  
455 fins in Brazil. *Saúde, Ética & Justiça* 18:50-4.

456 Carvalho DC, Palhares RM, Drummond MG, Frigo TB (2015) DNA Barcoding identification of  
457 commercialized seafood in South Brazil: a governmental regulatory forensic program. *Food*  
458 *Control* 50:784-788. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.10.025

459 Chuang PS, Hung TC, Chang HA, Huang CK, Shiao JC (2016) The Species and Origin of Shark  
460 Fins in Taiwan’s Fishing Ports, Markets, and Customs Detention: A DNA Barcoding  
461 Analysis. *PloS one*, 11(1), e0147290. doi:10.1371/journal.pone.0147290

462 Clarke SC, Magnussen JE, Abercrombie DL, Mcallister MK, Shivji MS (2006) Identification of  
463 shark species composition and proportion in the Hong Kong shark fin market based on molecular  
464 genetics and trade records. *Conservation Biology* 20(1):201-211. doi: 10.1111/j.1523-  
465 1739.2006.00247.x

466 Clarke S (2008) Use of shark fin trade data to estimate historic total shark removals in the  
467 Atlantic Ocean. *Aquatic Living Resources* 21(4):373-381. doi: 10.1051/alr:2008060

468 Compagno LV, Dando M, Fowler SA (2005) *Field Guide to the Sharks of the World*. Harper  
469 Collins Publishers, London.

470 Correia JPS (2009) *Pesca comercial de tubarões e raias em Portugal*. Prêmio do Mar Rei D.  
471 Carlos. Câmara Municipal de Cascais. Cascais.

472 Cortés E (2002) Incorporating uncertainty into demographic modeling: application to shark  
473 populations and their conservation. *Conservation Biology* 16(4):1048-1062.

474 Dent F, Clarke S (2015) State of the global market for shark products. FAO Fisheries and  
475 Aquaculture Technical Paper, 590.

476 Domingues RR, De Amorim AF, Hilsdorf AWS (2013) Genetic identification of *Carcharhinus*  
477 sharks from the southwest Atlantic Ocean (Chondrichthyes: Carcharhiniformes). Journal of  
478 Applied Ichthyology 29:738-742. doi: 10.1111/jai.12154

479 Driggers WB, Oakley DA, Ulrich G, Carlson JK, Cullum BJ, Dean JM (2004) Reproductive  
480 biology of *Carcharhinus acronotus* in the coastal waters of South Carolina. Journal of Fish  
481 Biology 64(6):1540-1551. doi:10.1111/j.1095-8649.2004.00408.x

482 Dudgeon CL, Blower DC, Broderick D, Giles JL, Holmes BJ, Kashiwagi T, Krück NC, Morgan  
483 JAT, Tillett BJ, Ovenden JR (2012) A review of the application of molecular genetics for  
484 fisheries management and conservation of sharks and rays. Journal of Fish Biology 80:1789-  
485 1843. doi:10.1111/j.1095-8649.2012.03265.x

486 Dulvy NK, Fowler SL, Musick JA, Cavanagh RD, Kyne PM, Harrison LR, Carlson JK,  
487 Davidson LNK, Fordham SV, Francis MP, Pollock CM, Simpfendorfer CA, Burgess GH,  
488 Carpenter KE, Compagno LJV, Ebert DA, Gibson C, Heupel MR, Livingstone SR, Sanciangco  
489 JC, Stevens JD, Valenti S (2014) Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays.  
490 Elife, e00590. doi: 10.7554/eLife.00590.001

491 Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high  
492 throughput. Nucleic Acids Research 32(5):1792-1797. doi: 10.1093/nar/gkh340

493 Fabinyi M, Liu N (2014) Seafood banquets in Beijing: consumer perspectives and implications  
494 for environmental sustainability. Conservation and Society 12(2):218-231. doi: 10.4103/0972-  
495 4923.138423

496 FAO FishStatJ 2012. Fisheries and aquaculture software. FishStatJ - software for fishery  
497 statistical time series. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome. Updated 22 July  
498 2014.

499 Faria VV, Mcdavitt MT, Charvet P, Wiley TR, Simpfendorfer CA, Naylor GJ (2013) Species  
500 delineation and global population structure of Critically Endangered sawfishes

501 (Pristidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 167(1):136-164. doi: 10.1111/j.1096-  
502 3642.2012.00872.x

503 Ferretti F, Worm B, Britten GL, Heithaus MR, Lotze HK (2010) Patterns and ecosystem  
504 consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters* 13(8):1055-1071. doi:  
505 10.1111/j.1461-0248.2010.01489.x

506 Gallagher AJ, Hammerschlag N, Shiffman DS, Giery ST (2014) Evolved for extinction: the cost  
507 and conservation implications of specialization in hammerhead sharks. *BioScience* 64(7):619-  
508 624. doi:10.1093/biosci/biu071

509 Grubbs RD (2010) Ontogenetic shifts in movements and habitat use. In: Carrier JC, Musick JA,  
510 Heithaus MR (eds) *Sharks and their relatives II: Biodiversity, adaptive physiology, and*  
511 *conservation*. CRC Press, Boca Raton, pp 319-350.

512 Hazkani-Covo E, Zeller RM, Martin W (2010) Molecular Poltergeists: Mitochondrial DNA  
513 Copies (*numts*) in Sequenced Nuclear Genomes. *PLoS Genet* 6(2): e1000834.  
514 doi:10.1371/journal.pgen.1000834

515 Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, Dewaard JR (2003) Biological identifications through DNA  
516 barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London* 270:313-321. doi:  
517 10.1098/rspb.2002.2218

518 Heithaus MR, Frid A, Wirsing AJ, Worm B (2008) Predicting ecological consequences of  
519 marine top predator declines. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(4):202-210.  
520 doi:10.1016/j.tree.2008.01.003

521 Henderson AC; Reeve AJ, Jabado RW, Naylor GJP (2016) Taxonomic assessment of sharks,  
522 rays and guitarfishes (Chondrichthyes: Elasmobranchii) from south-eastern Arabia, using the  
523 NADH dehydrogenase subunit 2 (NADH2) gene. *Zoological Journal of the Linnean Society*  
524 176(2):399-442. doi: 10.1111/zoj.12309

525 Holmes BH, Steinke D, Ward RD (2009) Identification of shark and ray fins using DNA  
526 barcoding. *Fisheries Research* 95:280-288. doi:10.1016/j.fishres.2008.09.036

527 Iyengar A (2014) Forensic DNA analysis for animal protection and biodiversity conservation: A  
528 review. *Journal for Nature Conservation* 22(3):195-205. doi: 10.1016/j.jnc.2013.12.001

529 Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A,  
530 Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Mentjies P, Drummond A (2012) Geneious Basic:  
531 an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of  
532 sequence data. *Bioinformatics* 28(12):1647-1649. doi:10.1093/bioinformatics/bts199

533 Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions  
534 through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution* 16(2):111-  
535 120.

536 Kotas JE, Petrere Jr M, dos Santos RA, Bustamante A, Lin CF, da Silveira Menezes AA,  
537 Micheletti ELV (2014) The horizontal migration of hammerhead sharks along the southern  
538 Brazilian coast, based on their exploitation pattern and considerations about the impact of  
539 anchored gillnets activities on these species. *Revista CEPSUL-Biodiversidade e Conservação*  
540 *Marinha* 3(1):45-68.

541 Lessa RPT (1986) Levantamento faunístico de elasmobrânquios (Pisces, Condriichthyes) do  
542 litoral ocidental do estado do Maranhão. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia* 7:27-41.

543 Lessa RPT (1997) Sinopse dos estudos sobre elasmobrânquios da costa do Maranhão. *Boletim*  
544 *do Laboratório de Hidrobiologia* 10:19-36.

545 Lessa R, Santana FM, Rincón G, Gadig OBF, El-Deir ACA (1999) Biodiversidade de  
546 elasmobrânquios do Brasil. Relatório para o Programa Nacional de Diversidade Biológica  
547 (PRONABIO)–Necton–Elasmobrânquios.

548 Liu S-Y.V, Chan C-LC, Lin O, Hu C-S, Chen CA (2013) DNA Barcoding of Shark Meats  
549 Identify Species Composition and CITES-Listed Species from the Markets in Taiwan. *PLoS*  
550 *ONE* 8(11):1-8. doi:10.1371/journal.pone.0079373

551 Madden T. The BLAST Sequence Analysis Tool. 2002 Oct 9 [Updated 2003 Aug 13]. In:  
552 McEntyre J, Ostell J, editors. *The NCBI Handbook* [Internet]. Bethesda (MD): National Center

553 for Biotechnology Information (US); 2002-. Chapter 16. Disponível  
554 em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21097/>

555 Mattos SM, Broadhurst M, Hazin FH, Jonnes DM (2001) Reproductive biology of the Caribbean  
556 sharpnose shark, *Rhizoprionodon porosus*, from northern Brazil. Marine and Freshwater  
557 Research 52(5):745-752. doi: 10.1071/MF00113

558 Martins APB (2015) Cadeia produtiva e status de conservação das espécies de tubarão  
559 (Chondrichthyes: Elasmobranchii) do Estado do Maranhão com base no conhecimento  
560 tradicional dos pescadores. Dissertação de Mestrado. 80 p. Programa de Pós-Graduação em  
561 Biodiversidade e Conservação, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA.

562 Mendonça FF, Hashimoto DT, De-Franco B, Porto-Foresti F, Gadig OBF, Oliveira F, Foresti F  
563 (2010) Genetic identification of Lamniform and Carcharhiniform sharks using multiplex-PCR.  
564 Conservation Genetics Resources 2:31-35. doi: 10.1007/s12686-009-9131-7

565 Naylor GJP, Ryburn JA, Fedrigo O, Lopez JA (2012) Elasmobranch phylogeny: a mitochondrial  
566 estimate based on 595 species. The biology of sharks and their relatives 31-56.

567 Oliver S, Braccini M, Newman SJ, Harvey ES (2015) Global patterns in the bycatch of sharks  
568 and rays. Marine Policy 54:86-97. doi: 10.1016/j.marpol.2014.12.017

569 Pank M, Stanhope M, Natanson L, Khler N, Shivji M (2001) Rapid and simultaneous  
570 identification of body parts from morphologically similar sharks *Carcharhinus obscurus* and  
571 *Carcharhinus plumbeus* (Carcharhinidae) using multiplex PCR. Marine Biotechnology 3:231-  
572 240. doi: 10.1007/s101260000071

573 Pauly D, Zeller D (2016) Catch reconstructions reveal that global marine fisheries catches are  
574 higher than reported and declining. Nature Communications 7. doi: 10.1038/ncomms10244

575 Pinhal D, Gadig OBF, Wasko AP, Oliveira C, Ron E, Foresti F, Martins C (2008) Discrimination  
576 of shark species by simple PCR of 5S rDNA repeats. Genetics and Molecular Biology 31(1):361-  
577 365.

578 Pinhal D, Shivji MS, Nachtigall PG, Chapman DD, Martins C (2012) A streamlined DNA tool  
579 for global identification of heavily exploited coastal shark species (Genus *Rhizoprionodon*). PloS  
580 ONE 7(4):1-6. doi:10.1371/journal.pone.0034797

581 Quattro JM, Stoner DS, Driggers WB, Anderson CA, Priede KA, Hoppmann EC, Campbell NH,  
582 Duncan KM, Grady JM (2006) Genetic evidence of cryptic speciation within hammerhead  
583 sharks (Genus *Sphyrna*). Marine Biology 148(5):1143-1155. doi: 10.1007/s00227-005-0151-x

584 Ribeiro ADO, Caires RA, Mariguela TC, Pereira LHG, Hanner R, Oliveira C (2012) DNA  
585 barcodes identify marine fishes of Sao Paulo State, Brazil. Molecular ecology  
586 resources 12(6):1012-1020. doi: 10.1111/1755-0998.12007

587 Rodrigues-Filho LF, Pinhal D, Sodr e D, Vallinoto M (2012) Shark DNA Forensics: Applications  
588 and Impacts on Genetic Diversity. Analysis of Genetic Variation in Animals 269-286.

589 Rosa RS, Castro ALF, Furtado M, Monzini J, Grubbs RD (2006) *Ginglymostoma cirratum*. The  
590 IUCN Red List of Threatened Species:  
591 e.T60223A12325895. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T60223A12325895.en>.  
592 Acessado em 16 de Dezembro de 2016.

593 Rosa RS, Gadig OBF (2014) Conhecimento da diversidade dos Condriichthyes Marinhos no  
594 Brasil: contribui o de José Lima de Figueiredo. Arquivos de Zoologia 45:89-104. doi:  
595 10.11606/issn.2176-7793.v45iespp89-104

596 Sembiring A, Pertiwi NPD, Mahardini A, Wulandari R, Kurniasih EM, Kuncoro AW, Carpenter  
597 KE et al (2015) DNA barcoding reveals targeted fisheries for endangered sharks in  
598 Indonesia. Fisheries Research 164:130-134. doi: 10.1016/j.fishres.2014.11.003

599 Shivji MS, Chapman DD, Pikitch EK, Raymond PW (2005) Genetic profiling reveals illegal  
600 international trade in fins of the great white shark, *Carcharodon carcharias*. Conservation  
601 Genetics 6:1035–1039. doi: 10.1007/s10592-005-9082-9

602 Soares KDA, Gomes UL, Carvalho MR (2016) Taxonomic review of catsharks of  
603 the *Scyliorhinus haeckelii* group, with the description of a new species (Chondrichthyes:

604 Carcharhiniformes: Scyliorhinidae). *Zootaxa* (Auckland. Print) 4066:501. doi:  
605 10.11646/zootaxa.4066.5.1

606 Soares KDA, Gadig OFB, Gomes UL (2015) *Scyliorhinus ugoi*, a new species of catshark from  
607 Brazil (Chondrichthyes: Carcharhiniformes: Scyliorhinidae). *Zootaxa* (Online) 3937:347-361.  
608 doi:10.11646/zootaxa.3937.2.6

609 Spiers EK, Stafford R, Ramirez M, Izurieta DFV, Cornejo M, Chavarria J (2016) Potential role  
610 of predators on carbon dynamics of marine ecosystems as assessed by a Bayesian belief  
611 network. *Ecological Informatics* 36:77-83. doi: 10.1016/j.ecoinf.2016.10.003

612 Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar, S (2013) MEGA6: Molecular  
613 Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution* 30:2725-2729. doi:  
614 10.1093/molbev/mst197

615 Thorpe T, Frierson D (2009) Bycatch mitigation assessment for sharks caught in coastal  
616 anchored gillnets. *Fisheries Research* 98(1):102-112. doi:10.1016/j.fishres.2009.04.003

617 Viana STF, Carvalho MR, Gomes UL (2016) Taxonomy and morphology of species of the genus  
618 *Squalus* Linnaeus, 1758 from the Southwestern Atlantic Ocean (Chondrychthyes: Squaliformes:  
619 Squalidae). *Zootaxa* (Auckland Print), 4133:1-089. doi: 10.11646/zootaxa.4133.1.1

620 Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN (2005) DNA barcoding Australia's fish  
621 species. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 360:1847-1857.  
622 doi:10.1098/rstb.2005.1716

623 Worm B, Davis B, Kettmer L, Ward-Paige CA, Chapman D, Heithaus MR, Kessel ST, Gruber  
624 SH (2013) Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks. *Marine Policy*  
625 40:194-204. doi: 10.1016/j.marpol.2012.12.034

626 Zeng Y, Wu Z, Zhang C, Meng Z, Jiang Z, Zhang J (2016) DNA barcoding of Mobulid Ray Gill  
627 Rakers for Implementing CITES on Elasmobranch in China. *Scientific Reports* 6. doi:  
628 10.1038/srep37567